



UNIVERSIDADE DE CRUZ ALTA

MESTRADO PROFISSIONAL EM DESENVOLVIMENTO RURAL

JOÃO ANTONIO RAMOS DE OLIVEIRA

MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* e ESTAQUIA DE *Physalis angulata* L.

Dissertação de Mestrado

Cruz Alta – RS

2014



MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* e ESTAQUIA DE *Physalis angulata* L.

JOÃO ANTONIO RAMOS DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Mestrado Profissional em Desenvolvimento Rural, área de concentração Produção Vegetal, da Universidade de Cruz Alta como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Desenvolvimento Rural.

Orientadora: Prof.^a Dra. Jana Koefender.

Cruz Alta - RS, 2014



Universidade de Cruz Alta
Mestrado Profissional em Desenvolvimento Rural

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* E ESTAQUIA DE *Physalis angulata* L.

Elaborado por

João Antonio Ramos de Oliveira

Como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Desenvolvimento Rural

COMISSÃO EXAMINADORA:

Jana Koefender, Dra. (Orientadora)

Candida Elisa Manfio, Pós.Dra. UNICRUZ

Sandra B. V. Fernandes, Dra. UNIJUI

Cruz Alta, 05 de dezembro de 2014

A minha esposa Maria Theresa.

A meu filho Rodolfo Augusto.

A minha mãe Norma (in memoriam).

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos professores e aos funcionários do Mestrado de Desenvolvimento Rural, da UNICRUZ, pela sua paciência em me ajudar nesta reciclagem, atualização e enriquecimento de conhecimentos.

Agradeço a minha professora e orientadora Dra. Jana Koefender pela sua amizade, seu apoio, paciência e orientação.

Ao professor Dr. Diego Pascoal Golle pelo apoio e co-orientação.

Agradeço à Pós Dra. Candida Elisa Manfio pela amizade e apoio na realização do projeto de pesquisa.

Agradeço ao pessoal do laboratório de cultura in vitro da UNICRUZ, pelo suporte na realização do projeto. Especialmente na pessoa da Bióloga Cristiane Kaiper.

Agradeço aos acadêmicos do Curso de Agronomia, pelo apoio na instalação do projeto de pesquisa a campo. Principalmente a Suele Fernanda Prediger Schmidt, Alice Prates Bisso Dambróz, Isaura Luiza Donati Linck, Luciana Cancian Rossato e Jean Roque Peres de Souza.

Ao pessoal do Polo de Inovação Tecnológica Alto Jacuí, pelo seu apoio no uso das suas instalações e nos tratos culturais.

Aos colegas do Curso de mestrado pela sua amizade e apoio.

Ao casal Bia e Saulo Cemin por seu constante incentivo.

A minha família, amigos e familiares pelo apoio e compreensão.

“Amar é deixar aqueles que amamos serem eles
mesmos e não tentar moldá-los segundo nossa
própria imagem. Caso contrário, amaríamos apenas
o reflexo de nós mesmos.”

(Thomas Merton 1915-1968)

RESUMO

MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* E POR ESTAQUIA DE *Physalis angulata* L.

AUTOR: João Antonio Ramos de Oliveira

ORIENTADORA: Prof.^a Dr.^a Jana Koefender

Fisális (*Physalis angulata* L.) é uma solanácea originária da América do Sul, conhecida popularmente como tomate-de-capote. Além de suas características nutricionais, possui excelente palatabilidade e vêm ganhando destaque no mercado de pequenas frutas; além disso, possui potencial medicinal. Costumeiramente é propagada por via seminal, o que induz o plantio à desuniformidade. Como alternativa, pode ser utilizada a micropropagação, capaz de viabilizar a produção de mudas de alta qualidade genético sanitária; outra alternativa é a propagação por estaquia, a qual diminui o tempo entre a obtenção da muda e o estabelecimento a campo. Este trabalho objetivou estudar os efeitos da combinação de dois reguladores de crescimento do grupo das citocininas (6-benzilaminopurina e cinetina) na presença ou não de auxina (2,4-diclorofenoxiacético) na multiplicação *in vitro* de *Physalis angulata* L. e o efeito de dois tipos de estacas (basal e mediana) e de cinco concentrações da auxina ácido indolbutírico. Os resultados na multiplicação *in vitro* indicaram que a cinetina na concentração de 5 mg L⁻¹ e na ausência da auxina é mais indicada para a obtenção de maior comprimento de brotos e número de entrenós na multiplicação *in vitro* de plantas de *Physalis angulata* L.; mas para maior biomassa fresca e seca, percentagem de raiz, o meio de cultura isento de reguladores de crescimento vegetal propiciou resultados satisfatórios. No estudo de estaquia, a propagação vegetativa se mostrou eficiente sem a utilização de AIB, sendo que a estaca basal produziu maior número e massa seca de folhas.

Palavras-Chave: Fisális. Pequenas frutas. Reguladores de Crescimento. Propagação Vegetativa.

ABSTRACT

MULTIPLICATION *IN VITRO* AND BY CUTTINGS OF *Physalis angulata* L.

Author: João Antônio Ramos de Oliveira

Advisor: Prof.^a Dr.^a Jana Koefender

Fisális (*Physalis angulata* L.) is a solanaceous originally from South America, popularly known as cape gooseberry. In addition to its nutritional characteristics, has excellent palatability and are gaining prominence in the small fruit market. It has medicinal potential also. Customarily is propagated by seminal pathway, which leads to uneven planting. By micropropagation technique is possible the production of health seeds with high genetic quality. Another reproduction way is by cuttings, which decreases the time between obtaining seedlings and establishing in the field. This study investigated the effects of the combination of two growth regulators, belonging to cytokinins group (6-benzylaminopurine and kinetin) in the presence or absence of the auxin (2,4-dichlorophenoxy acid); using the specie *Physalis angulata* L. by means of *in-vitro* multiplication. Also, study of the effect of five concentrations of auxin indole butyric acid (IBA) in two types of *Physalis angulata* L. cuttings (basal and median). By using *in-vitro* technique, results indicate that kinetin at a concentration of 5 mg L⁻¹, in absence of auxin, is most suitable for obtaining greater sprout length and number of internodes. But for increased fresh weight and dry percentage of root the culture medium, free of plant growth regulators, provided satisfactory results. The study of vegetative propagation by cuttings in *Physalis angulata* L. show effectiveness without use of IBA, also the basal cuttings produced more leaves and dry weight.

Keywords: Fisális. Small fruits. Growth regulators. Vegetative propagation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ARTIGO I

Figura 1 - Efeito de diferentes concentrações de citocininas BAP e KIN na percentagem de calos (A) e de raízes (B) em <i>Physalis angulata</i> L.....	21
Figura 2 - Multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Physalis angulata</i> L. a partir de segmentos nodais.....	22
Figura 3 - Efeito de diferentes concentrações de citocininas BAP e KIN no comprimento de brotos (A) e número de entrenós (B) em <i>Physalis angulata</i> L.....	24
Figura 4 - Efeito das diferentes concentrações de citocininas BAP e KIN na biomassa fresca (A) e biomassa seca (B) em <i>Physalis angulata</i> L.....	25

ARTIGO II

Figura 1 - Efeito de diferentes concentrações de AIB sobre o número de folhas em estacas de <i>Physalis angulata</i> L.....	34
---	----

LISTA DE TABELAS

ARTIGO I

- Tabela 1 - Número médio de folhas e de brotos em explantes de *Physalis angulata* L. estabelecidos em meio de cultura acrescido de diferentes concentrações de BAP e KIN 21
- Tabela 2 - Efeito de diferentes concentrações de citocininas no desenvolvimento *in vitro* de *Physalis angulata* L. na presença e ausência de 2,4 D na formação de calos (%) e biomassa fresca (g)..... 21

ARTIGO II

- Tabela 1 - Resultados do teste F da análise de variância para as médias de número de brotações (NB), número de folhas (NF), altura de brotação (AB) em estacas de *Physalis angulata*, em função das diferentes doses de ácido indolbutírico (AIB) aos 20 e 40 dias após o transplante..... 33
- Tabela 2 - Percentagem de sobrevivência (% S), massa seca de folhas (MSF), número de folhas (NF), de brotações (NB) e de raízes (NR), altura de brotações (AB), comprimento de maior raiz (CMR) e massa seca total (MST) em resposta ao tipo de estaca de *Physalis angulata* L..... 35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BAP – 6-benzilaminopurina

KIN – cinetina

2,4-D – 2,4-diclorofenoxiacético

AIB – ácido indol butírico

NaCl – hipoclorito de sódio

CaOCl₂ – hipoclorito de cálcio

ANA – α -naftalenoacético

MS – meio de cultivo in vitro Murashige;Skoog, 1962

WPM – meio de cultivo Wood Plant Medium

SUMARIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	13
1.1 Fisális: características gerais.....	13
1.2 O cultivo de Fisális como alternativa em propriedades de agricultura familiar.....	14
2 ARTIGO I - Multiplicação <i>in vitro</i> de <i>Physalis angulata</i> L.	16
2.1 RESUMO.....	16
2.2 ABSTRACT.....	16
2.3 INTRODUÇÃO.....	17
2.4 MATERIAL E METODOS.....	18
2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
2.6 CONCLUSÃO.....	25
2.7 REFERÊNCIAS.....	25
3 ARTIGO II Multiplicação por Estaquia de <i>Physalis angulata</i> L.	31
3.1 RESUMO.....	31
3.2 ABSTRACT.....	31
3.3 INTRODUÇÃO.....	32
3.4 MATERIAL E METODOS.....	32
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
3.6 CONCLUSÃO.....	36
3.7 REFERÊNCIAS.....	36
4 DISCUSSÃO GERAL	37
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	38
7 REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Fisális: características gerais

A espécie frutífera identificada cientificamente pelo nome *Physalis angulata* L., originária da Amazônia e dos Andes, está sendo cada vez mais difundida por suas características alimentícias, medicinais e de rusticidade. Fisális pertence à família Solanaceae, a qual possui cerca de 4.000 espécies subdivididas em 96 gêneros, muitos dos quais são endêmicos em várias regiões do mundo (STEHMANN et al., 2006). Embora nativa da América do Sul, é pouco conhecida em nossa região, existindo apenas poucos registros de seu cultivo comercial, o qual ocorre nos municípios gaúchos de Áurea e Carazinho.

Considerada como erva daninha a *Physalis* é uma planta nativa, com distribuição quase que irrestrita em todo o Brasil, principalmente nas regiões Norte e Nordeste, onde ocorre naturalmente (ALAMINO, 2011). Segundo Villegas (2009) tem sua origem no Peru.

A espécie apresenta diversos nomes populares de acordo com a região: na Amazônia é chamada de Camapu pelos índios, na Bahia de juá-de-capote, bucho-de-rã e outros, no exterior é mais conhecida por *Physalis*. Possui alto valor agregado (RUFATO et al., 2008) pois, além do fruto, utiliza-se a raiz e as folhas na farmacologia (MUNIZ et al., 2010) e o cálice – o qual apresenta a forma de balão - em decorações de doces (SCHNEID, 2008). Na região do Alto Jacuí a fruta desta planta está presente nas grandes redes de supermercados e comercializada com o envoltório para consumo *in natura*. Encontram-se embalagens de fisális com 100 gramas a um valor de aproximadamente R\$ 7,00, o que equivale, no preço de prateleira, a R\$ 70,00 o quilograma. Embora tenha potencial para a produção desta fruta na região, o consumo vem ocorrendo, em sua maioria, a partir de frutos importados da Colômbia.

Quanto às características botânicas, Ferreira (2006) e Villegas (2009) descrevem a planta como sendo do tipo arbustiva, com raiz fibrosa que pode chegar até 60 cm de profundidade. Apresenta talo facilmente quebradiço de cor verde, com uma penugem de textura suave ao tato. Suas folhas são inteiras na forma de coração, pubescentes e dispostas alternadamente. As flores são hermafroditas com cinco sépalas, sua corola é amarela e de forma tubular. O fruto é uma baga carnuda de forma globular, tem diâmetro que vai de 1,25 a 2,5 cm, pesando entre 4 e 10 gramas. Vem coberto ou encapsulado pelo cálice formado por cinco sépalas, o que o protege contra insetos, pássaros, organismos patogênicos e condições climáticas extremas. A sua polpa é de sabor ácido adocicado, contém de 100 a 300 sementes

pequenas de forma lenticular. O tempo útil de produção da planta vai de nove a onze meses a partir da primeira colheita, após, ocorre uma queda na produtividade e na qualidade dos frutos. Cada planta pode produzir de 2 a 4 kg de frutos e pode-se chegar a 6.000 plantas por hectare.

A propagação pode ser por sementes ou por estacas. Em relação à propagação por via seminal, Zapata (2002) indica que as sementes devem provir de frutos de bom tamanho e totalmente maduros, colhidos de plantas sãs, vigorosas e em produção. Brighenti (2011) salienta que a germinação ocorre em 10 a 25 dias, após 20 a 30 dias ocorre o transplante para saquinhos e o transplante definitivo ocorre dois meses depois. No tocante à propagação vegetativa, Alamino (2011) observou que na propagação por estaquia ocorreu um melhor desempenho das plantas em relação às produzidas a partir de sementes, devido a arquitetura das mesmas, apresentaram caule único e folhas com maior diâmetro, o que favoreceu o acúmulo de biomassa nos caules; enquanto que as plantas oriundas de sementes apresentaram inúmeras brotações adventícias na sua base e rebrotavam após alguns dias depois de serem eliminadas, o que consumia recursos como água e nutrientes.

1.2 O cultivo de *Fisális* como alternativa em propriedades de agricultura familiar

A agricultura familiar é responsável pela maior parte da produção de alimentos consumidos pela população no Brasil. Nos municípios da região do Alto Jacuí, cerca de 78,55% (IBGE, 2006) das propriedades rurais são de pequenos agricultores, que tem sua base econômica na produção e diversificação de culturas para a sustentabilidade. No Rio Grande do Sul chega a 85,75% as propriedades com agricultura familiar (STOFFEL, 2011). Dentre as culturas exploradas estão às frutíferas. A fisális é uma fruta de pequeno porte (SCHNEID, 2008) que ocupa pouco espaço, está se tornando uma alternativa rentável, com possibilidade de comercialização de toda planta.

Segundo Fischer (2000), a *Physalis* desenvolve-se em diversas condições agroecológicas e está classificada como uma espécie muito tolerante devido a sua adaptabilidade aos diversos tipos de solos. Na Colômbia é cultivo bianual e, no sul do Brasil, em regiões temperadas onde o inverno é rigoroso, a ocorrência de geadas pode provocar a morte da planta, tornando-a uma cultura de ciclo anual. No Rio Grande do Sul, há referências de cultivo de fisális na região da Serra Gaúcha, mais especificamente em Vacaria, pela Empresa Italbraz, e nos municípios de Roca Sales e Áurea. Na região de Áurea a espécie vem

sendo utilizada por pequenos produtores como uma alternativa para contornar os períodos de estiagem (FERREIRA, 2006; ANDRADE, 2008).

Apesar de ser uma fruta conhecida em vários países, no Brasil os estudos da sua viabilidade são recentes, como os de Lima et al (2009), Lissner e Vela (2009) e Brighenti (2011). A espécie tem importância etnomedicinal, cujo potencial farmacológico é reconhecido, pois possui teor de vitamina A, C, fósforo e ferro, flavonoides, alcaloides, fitoesteróides, carotenoides e é considerada uma fruta com bioativos funcionais (DALL'AGNOL, 2007; CHAVES, 2006 e CHAVES et al., 2005).

Por outro lado, a atividade agrícola da região do Alto Jacuí vem enfrentando problemas com as culturas tradicionais de grãos como soja, milho, trigo e outros. Esses problemas vão desde mudanças climáticas até os de comercialização. Em razão disso, os produtores, principalmente os da agricultura familiar e os das pequenas e médias propriedades, buscam alternativas que os ajudem na manutenção do seu agronegócio. É aqui onde a *Physalis angulata* entraria como uma cultura rentável que os ajudaria nesse objetivo, principalmente porque seus frutos podem ser utilizados para consumo *in natura* e para produção de gelificados e doces caseiros, sendo assim, potencial para as famílias que trabalham com o ecoturismo regional. Além disso, a produção dessa fruta tem um preço de mercado bastante competitivo.

Cabe salientar que na agricultura familiar o cultivo de fisális pode ser uma alternativa de renda e segurança alimentar, pois o uso não se restringe apenas ao consumo *in natura* da fruta, mas também o atendimento ao aumento da demanda por parte das indústrias alimentícia, farmacêutica e cosmética.

A propagação comercial da fisális é realizada, basicamente, por sementes, não obstante essa reprodução origina uma alta variabilidade genética. Autores como Sandhu et al. (1989) mencionam que fisális propagadas por sementes originam plantas com crescimento, vigor, rendimento e qualidade de frutos variados, além disso ocorre também uma grande variabilidade fenotípica. Portanto, trabalhar em sistema de micropropagação e por estaquia reduz a variabilidade genética, permitindo o estudo das características genotípicas de um só indivíduo.

Objetivou-se nesse trabalho estudar a propagação por estaquia, para verificar a melhor fonte de estacas, com a utilização de reguladores de crescimento, na cultura da fisális, bem como adequar protocolos para a multiplicação de plantas por meio da propagação *in vitro*, com diferentes concentrações de reguladores de crescimento.

2 ARTIGO I

2.1 RESUMO

PROPAGAÇÃO *IN VITRO* DE *Physalis angulata* L.

A *Physalis angulata* L., é uma espécie da família das solanáceas com potencial produtivo frutífero, principalmente para a agricultura familiar, pela versatilidade e valor agregado de seus subprodutos como geleias e sucos concentrados. Com o objetivo de avaliar o efeito dos fitorreguladores BAP e KIN, na presença ou não de 2,4 – D, no processo de multiplicação *in vitro* de fisális, foi desenvolvido um experimento em delineamento inteiramente casualizado, com vinte tratamentos e cinco repetições, em um esquema fatorial 2 x 5 x 2, sendo as fontes de citocininas – BAP e KIN; as concentrações das citocininas (0; 2,5; 5,0; 7,5; 10mg L⁻¹); e a presença (0,05mg L⁻¹) ou não da auxina 2,4-D. O material vegetal utilizado foram segmentos (de aproximadamente 1 cm), oriundos da germinação das sementes *in vitro*. Os resultados indicaram que a KIN na concentração de 5 mg L⁻¹ e na ausência de 2,4-D é mais indicada para maior comprimento de brotos e número de entrenós na multiplicação *in vitro* de plantas de *Physalis angulata* L.; mas para maior biomassa fresca e seca, percentagem de raiz, o meio de cultura MS isento de reguladores de crescimento vegetal propiciou resultados satisfatórios.

Palavras chave: *Physalis*. Auxinas. Multiplicação *in vitro*.

2.2 ABSTRACT

Physalis angulata L. is a solanaceous family plant with fruitful productive potential, especially for little family farms, due to the versatility and value of its products such as jellies and juice concentrates. The objective of this essay is evaluate the effect of two plant growth regulators 6- benzylaminopurine (BAP) and Kinetin (KIN), in presence or absence of 2,4-D, by *in vitro* multiplication culture of fisális. The experiment was conducted in a completely randomized design, with twenty treatments and five replications, in a factorial way 2 x 5 x 2. The sources of cytokinins were at concentrations of 0; 2.5; 5.0; 7.5; 10 mg L⁻¹ in the presence (0.05 mg L⁻¹) or not of 2,4-D. The plant material were segments (approximately 1 cm), originating from seeds *in vitro* germination of fisális. The results of *in vitro* multiplication of *Physalis angulata* L. indicates that KIN, at a concentration of 5 mg L⁻¹ and in the absence of auxin 2,4-D, is indicated in order to obtain longer length of shoots and number of internodes. However, for higher weight of dry and fresh biomass and increased rate of root, the culture medium (MS) free of plant growth regulators provided satisfactory results.

Keywords: *Physalis*. Auxins. *In vitro* culture.

2.3 INTRODUÇÃO

A fisális é uma solanácea que pode ser multiplicada de diferentes formas sendo que a micropropagação permite a obtenção, quase de cem por cento, de mudas saudáveis. De acordo com Malosso (2008) citando Guerra et al. (1999), na propagação *in vitro* podem-se obter um grande número de plântulas, estáveis geneticamente e saudáveis, em um curto espaço de tempo. Portanto, o estudo da micropropagação na fisális permite que sejam identificados os melhores e mais adequados fitorreguladores.

Dentre os principais meios de produção de mudas com características genéticas, fisiológicas e sanitárias conhecidas está o da micropropagação. Para o estabelecimento de uma espécie *in vitro* alguns fatores devem ser levados em consideração, como a desinfestação do material vegetal, a composição do meio de cultura, o tipo e a concentração dos fitorreguladores que serão utilizados (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998). Para a germinação *in vitro*, objetivando a obtenção de explantes assépticos, se faz uso de várias substâncias com ação desinfestante, sendo as mais comuns o etanol e os compostos à base de cloro, tais como hipoclorito de sódio (NaCl) e o de cálcio (CaOCl₂).

Entre as citocininas comercialmente disponíveis, a 6 – benzilaminopurina (BAP) é a que, em geral, apresenta melhores resultados para a multiplicação, sendo a Cinetina KIN, também muito utilizada. As auxinas mais utilizadas são o ácido α -naftalenoacético (ANA) e o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), na fase de alongamento, e o ácido indolbutírico (AIB), na indução de raízes *in vitro* (GRATTAPAGLIA; MACHADO, 1998).

A auxina 2,4-D é a mais frequentemente usada na indução de calos, ela tem a capacidade de dar início à divisão celular, bem como controlar os processos de alongação e crescimento (NOGUEIRA et al, 2007).

A citocinina é indispensável na fase de multiplicação *in vitro*, pois faz a quebra da dominância apical e a indução da proliferação de gemas axilares (HU; WANG, 1983). Segundo SCHUCH; ERIG (2005), as concentrações de citocininas para a multiplicação estão entre 0,1 e 5,0 mg L⁻¹. Chaves et al. (2005), pesquisando meio de cultura com MS e MS ³/₄ e as concentrações de 0;0,1; 0,2 ou 0,3 mg.L⁻¹ de BAP, para *P. peruviana* L. verificaram maior número de brotações com 0,3mg.L⁻¹ de BAP para os dois meios de cultura. De Oliveira et al. (2013), utilizaram três meios de cultivo: o MS (MURASHIGE ; SKOOG 1962), o WPM - *Wood Plant Medium* – (LLOYD; MCCOWN, 1982) e ¹/₂ MS (meio MS reduzido à metade da concentração de sais), onde observaram que os meios menos concentrados (WPM e ¹/₂ MS) permitiram melhor desenvolvimento inicial de plantas de *P. angulata*.

Torres (2013) menciona que as auxinas, usadas em pequenas doses, favorecem o alongamento celular, induzindo o crescimento e desenvolvimento de raízes, enquanto as citocininas atuam no estímulo à citocinese, ou seja, à multiplicação celular, promovendo a formação de ramos.

Assim, no presente estudo tem-se como objetivo o de avaliar as respostas a diferentes concentrações dos reguladores de crescimento BAP, KIN com a presença e ausência da auxina 2,4-D, para a multiplicação *in vitro* de plantas de *P. angulata*.

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais *in vitro* da Universidade de Cruz Alta. Inicialmente para a obtenção dos explantes foram coletados frutos de *Physalis angulata*, oriundos de plantas matrizes, encontradas no Polo de Inovação Tecnológica do Alto Jacuí, das quais foram retiradas as sementes utilizadas no experimento.

Em laboratório, os frutos foram despolidos e as sementes foram mantidas ao ar livre por sete dias para secagem. Para a desinfestação das sementes, procedeu-se a imersão em etanol a 70% (v/v) por 30 segundos e, após, permaneceram por dez minutos sob agitação constante em solução de hipoclorito de sódio P.A. (NaOCl) na concentração de 1% (v/v) acrescido de duas gotas de Tween 20®. Posteriormente, em câmara de fluxo laminar asséptico, foi realizado um triplo enxágue com água destilada estéril e as sementes inoculadas em 50 frascos contendo 30 ml de meio de cultura, onde foram colocadas 10 sementes em cada frasco. O meio de cultura utilizado foi o ½ MS, composto pela formulação de sais do meio de Murashige; Skoog (1962) reduzida à metade da concentração de sais e acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose, 8 g L⁻¹ de ágar de 100 mg L⁻¹ de mio-inositol. O pH dos meios foi ajustado para 5,8 e os mesmos foram esterilizados por 20 minutos a 121°C e 1,5 atm. de pressão. Os frascos permaneceram em sala de cultivo com temperatura controlada de 25±3°C e fotoperíodo de 16 h, obtido a partir de lâmpadas fluorescentes tipo luz do dia, com intensidade luminosa de 30 μmol m⁻²s⁻¹. Após 20 dias de cultivo, foram obtidos os explantes para a instalação do experimento de multiplicação.

2.4.1 Multiplicação *in vitro*

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com 20 tratamentos e cinco repetições, em um esquema fatorial 2 x 5 x 2, onde os níveis do fator “A” corresponderam a duas fontes de citocininas (BAP e KIN); os níveis do fator “B” à diferentes concentrações das citocininas utilizadas (0; 2,5 ;5,0 ;7,5 e 10 mg L⁻¹); e os níveis do fator “C” à presença ou não da auxina 2,4-D. Quando presente, a concentração de 2,4 D era de 0,05mg L⁻¹. A unidade experimental foi composta por um frasco com capacidade para 250 ml, contendo 30 ml de meio nutritivo e dois explantes. Os explantes utilizados foram segmentos nodais de aproximadamente 1 cm. O meio padrão utilizado foi o MS acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose, 8 g L⁻¹ de ágar de 100 mg L⁻¹ de mio-inositol, e demais tratamentos já citados. O pH dos meios foi ajustado para 5,8 e os mesmos foram esterilizados por 20 minutos a 121°C e 1,5 atm. de pressão. As condições de cultivo do experimento para multiplicação foram os mesmos descritos para a obtenção de explantes.

Aos 45 dias de cultivo *in vitro*, foram avaliadas as variáveis: número médio de brotos, comprimento de brotos (cm), número de entrenós, número de folhas, presença de calos (%) e raízes (%), biomassa fresca e seca de explantes (g). A normalidade dos resíduos foi avaliada pelo Teste de Bartlett e a homocedasticidade pelo teste de Komogorov-Smirnov. Quando necessário, os dados foram transformados pela função $\sqrt{x+0,5}$. Quando o valor de “F” foi significativo, foi avaliada a ocorrência ou não de interação nos experimentos fatoriais. Dados quantitativos foram submetidos à análise de regressão polinomial e dados qualitativos à comparação múltipla de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, com auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000). O cálculo da máxima eficiência técnica (valor de X da variável independente para o qual Y (variável dependente) é máximo) para cada variável foi realizado de acordo com metodologia descrita em Storck et al. (2000), por meio da seguinte fórmula:

$$X = -b_1 / 2b_2$$

Em que: X = ponto da máxima eficiência técnica; b₁ e b₂ = coeficientes da equação

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O maior número de folhas ocorreu na presença de KIN (Tabela 1), corroborando com os resultados de Kielse et al. (2009), que obtiveram o maior número de folhas em

Parapiptadenia rigida com a utilização de segmento cotiledonar inoculado em meio contendo KIN.

A maior média para o número de brotos (2,14) foi na presença de BAP. Rodrigues et al. (2013) também observaram um incremento no número de brotos (3,0) de *P. peruviana* quando em 50% de meio MS suplementado com 1,3 mg L⁻¹ de BAP.

Tabela 1. Número médio de folhas e de brotos em explantes de *Physalis angulata* L. estabelecidos em meio de cultura acrescido de diferentes concentrações de BAP e KIN. UNICRUZ. Cruz Alta, RS. 2014.

Citocininas	Número de folhas	Número de brotos
BAP	3,571 b	2,140 a
KIN	4,420 a	1,825 b
CV (%)	12,41	9,96

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, p<0,05.

Vicente et al. (2009), observaram maior formação de brotos em *Vernonia condensata* na concentração de 1,0 mg L⁻¹ de BAP, já Dode et al. (2003) observaram maior eficiência na formação de brotos com 5,0 mg L⁻¹ BAP na propagação *in vitro* de *Ocimum basilicum* L.

Para a formação de calos e de biomassa fresca analisadas, houve interação significativa entre os fatores concentração e a auxina 2,4-D (Tabela 2). Para a formação de calos observou-se uma redução nas médias quando a concentração das citocininas no meio de cultura foi de 10 mg L⁻¹ e no controle, isto é, quando da ausência de 2,4 D ocorreu a menor percentagem de formação de calo (20%). Corroboram com esses resultados Soares (2003) que observou que 30 % dos segmentos nodais de ingazeiro (*Inga vera*), formaram calos mesmo na ausência de 2,4 D.

Quando da presença de 2,4-D e citocininas, independente da concentração como reguladores de crescimento vegetal no meio de cultura observou-se a formação de calos, entretanto a ausência de 2,4 D no controle demonstrou efeito inibitório dessa com apenas 20% de formação. Nesse estudo como o objetivo é a propagação *in vitro*, a formação de calo não é interessante, assim verifica-se que é dispensável o uso da auxina 2,4 D. Verifica-se também que para a variável biomassa fresca (Tabela 2) foram observadas diferenças significativas entre as concentrações na presença e ausência de 2,4-D. Maior biomassa fresca (5,03) foi obtida na ausência em relação a presença de 2,4-D (4,03). Provavelmente o aumento na massa obtida também está relacionado ao maior comprimento médio dos brotos, pois o 2,4 D

é uma auxina sintética extremamente eficiente com relação a sua atividade química, pois não é tão rapidamente metabolizada pela planta (TAIZ ; ZEIGER, 2004).

Tabela 2. Efeito de diferentes concentrações de citocininas no desenvolvimento *in vitro* de *Physalis angulata* L. na presença e ausência de 2,4 D na formação de calos (%) e biomassa fresca (g). UNICRUZ. Cruz Alta, RS, 2014.

Concentração (mg L ⁻¹)	Formação de Calos (%)		Biomassa Fresca(g)	
	Presença 2,4D	Ausência 2,4D	Presença 2,4 D	Ausência 2,4D
0	100 b B	20 a A	4,03 a B	5,03 a A
2,5	80 ab B	80 b B	2,58 ab A	2,81 ab A
5,0	90 ab B	80 b B	1,83 ab B	2,59 b A
7,5	100 b B	70 b B	2,54 ab A	2,64 b A
10,0	50 a B	60 ab B	0,97b A	1,38 b A
CV (%)	17,53		11,85	

Médias seguidas da mesma letra, minúscula na coluna, e maiúscula na linha não diferem entre si, p<0,05, teste de Tukey.

Na Figura 1 verifica-se que a KIN determinou um aumento na porcentagem de calos na medida em que aumentava sua concentração, em detrimento das concentrações de BAP que apresentou uma resposta que segue modelo quadrático. Conforme Silva et al (2003) a indução de calos é provocada por injúrias no tecido e/ou por indução química, e o genótipo pode responder às duas classes de fitoreguladores, citocinina e auxina, e às suas diferentes combinações.

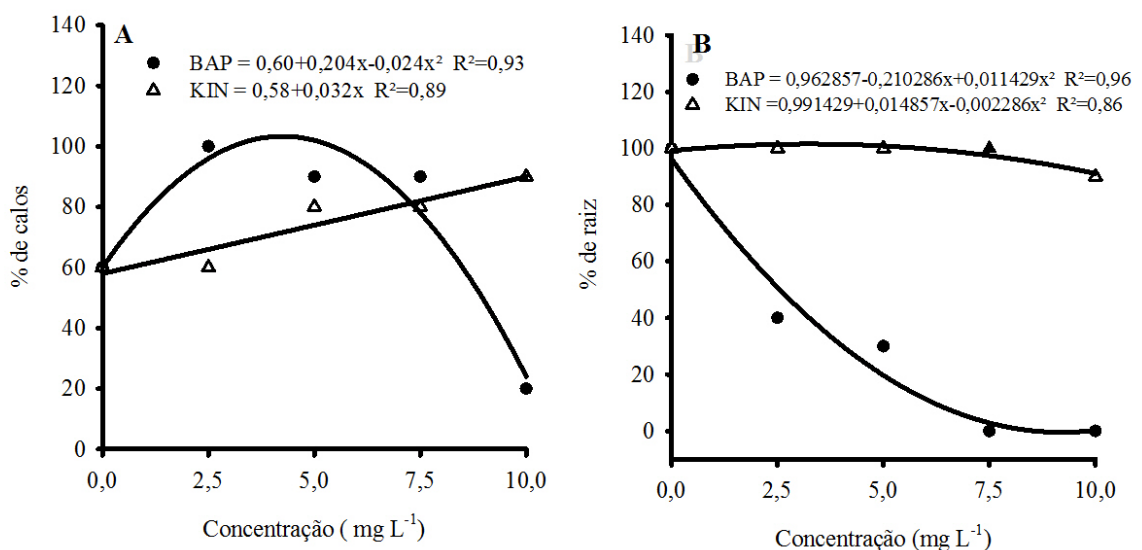


Figura 1. Efeito de diferentes concentrações de citocininas BAP e KIN na porcentagem de calos (A) e de raízes (B) em *Physalis angulata*. UNICRUZ, Cruz Alta - RS. 2014.

Verifica-se que BAP induziu a produção de calos (Figura 1A), o que não é desejado, sendo nesse caso KIN seria mais indicado, já na rizogênese (Figura 1 B) KIN mostrou-se mais eficaz, entretanto quando da ausência de BAP e KIN, ambos se igualam, e apesar da presença de KIN demonstrar melhor resultado, ainda assim não difere significativamente da sua ausência. Isto ocorre em função das citocininas induzirem rotas morfogênicas de multiplicação celular na parte aérea e não na raiz. Resultado pode ser visualizado na Figura 2 (A e K).



Figura 2: Multiplicação *in vitro* de *Physalis angulata* L. a partir de segmentos nodais. A) K0; B) KD0; C) K1; D) KD1; E) K2; F) KD2; G) K3; H) KD3; I) K4; J) KD4; K) B0; L) BD0; M) B1; N) BD1; O) B2; P) BD2; Q) B3; R) BD3; S) B4; T) BD4.

K= presença da citocinina cinetina;
 B= presença da citocinina BAP;
 D= presença de 2,4-D na concentração de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$;
 0= 0 mg L^{-1} de citocinina;
 1= $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ de citocinina;
 2= $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ de citocinina;
 3= $7,5 \text{ mg L}^{-1}$ de citocinina;
 4= 10 mg L^{-1} de citocinina;

Verificou-se interação entre as concentrações das citocininas BAP e KIN em relação ao comprimento de brotos e número de entrenós (Figura 3). Nota-se que dentre as citocininas a KIN foi mais responsiva no comprimento de brotos e número de entrenós, como também foi verificado por Saha et al (2010) em *Ocimum kilimandscharicum*.

Para a variável comprimento de brotos (Figura 3B) houve interação significativa entre as citocininas e as diferentes concentrações testadas. Maior comprimento de brotos (7,5 cm) foi obtidos com 7,5 mg L⁻¹ de KIN. Maiores concentrações de BAP não promoveram resultados satisfatórios, pois à medida que se aumentou a sua concentração no meio de cultura, houve uma diminuição no comprimento de brotos por explantes.

Rodrigues et al. (2013) observaram o mesmo efeito de BAP mas em brotos de *P. peruviana* quando usado 50% de meio MS suplementado com 1,3 mg L⁻¹ de BAP. Também se verifica que o maior comprimento médio de brotos ocorre na ausência da citocinina, o que pode estar relacionado a sua capacidade de quebrar a dominância apical e favorecer a emissão de novos brotos. Corroboram com esse trabalho o de Flores et al. (2009) em *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen onde verificou que o comprimento da maioria dos brotos foi inferior ao registrado no material cultivado na ausência de BAP. Chaves et al (2005) verificaram que o comprimento de brotações em *P. peruviana*, para as concentrações de BAP utilizadas, atingiu o ponto de máximo (6,06 cm) na ausência do regulador, e o ponto de mínimo (1,73 cm), na concentração de 0,3 mg L⁻¹ de BAP.

Em relação ao número de entrenós (Figura 3A) observa-se que a KIN foi mais responsiva em relação ao BAP, sendo que na concentração 5,0 mg L⁻¹ verificou-se mais de 3,0 entrenós. Maiores concentrações de BAP ocasionaram o encurtamento de entrenós, fato que pode afetar o alongamento e torna-se um fator limitante na fase de enraizamento. Entretanto, verifica-se que na ausência de BAP, houve o maior número de entrenós, e que concentrações crescentes de citocininas inibem o alongamento das brotações (GRATTAPAGLIA; MACHADO,1998).

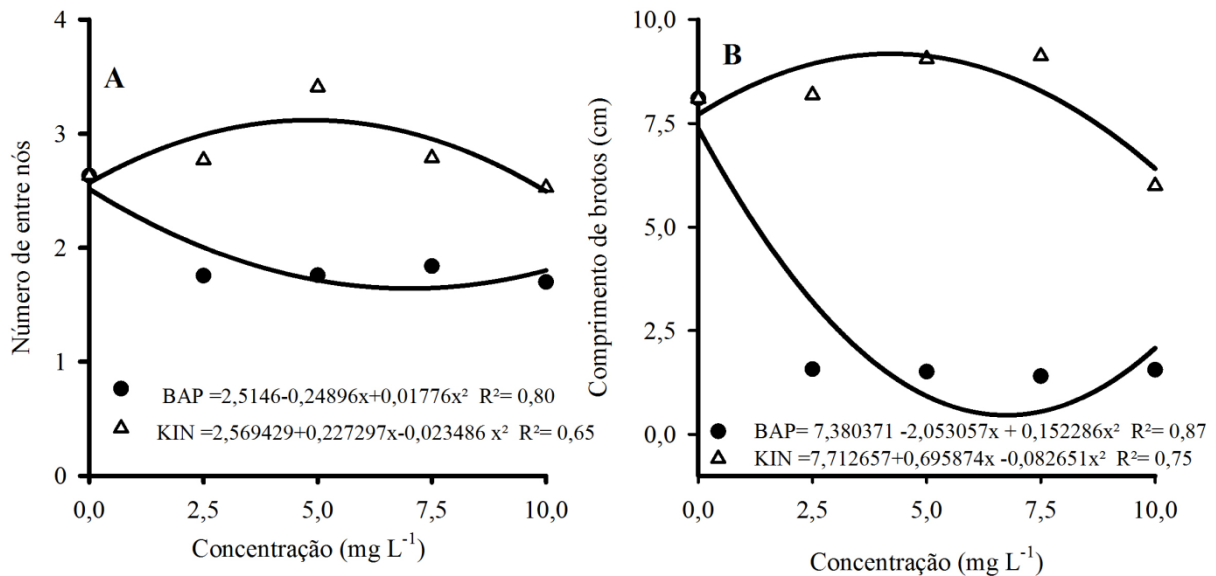


Figura 3. Efeito de diferentes concentrações de citocininas BAP e KIN no número de entrenós (A) e comprimento de brotos (B) em *Physalis angulata* L. UNICRUZ, Cruz Alta - RS. 2014.

Diante dos resultados, pode-se inferir que concentrações mais elevadas de KIN, isto é, 7,5 mg L⁻¹ e 5,0 mg L⁻¹ são eficientes para o aumento do comprimento de brotos e número de entrenós, respectivamente, enquanto que, contrariamente, concentrações mais elevadas podem interferir na promoção do alongamento e no número de brotações no explante.

O ponto de máxima eficiência técnica calculada para a curva da variável comprimento de broto foi de 4,2 mg L⁻¹ de KIN. Isso nos remete a dizer que, entre as doses testadas, a de 5,0 mg L⁻¹ de KIN foi a que proporcionou melhor desempenho das plantas quanto ao comprimento de broto.

O maior número de broto foi estimado em 4,8 mg L⁻¹ de KIN, sendo que estes dados corroboram com o mencionado por Schuch; Erig (2005), onde as concentrações de citocininas para a multiplicação estão entre 0,1 e 5,0 mg L⁻¹.

Verificou-se interação significativa entre concentração de BAP e KIN quanto a variável biomassa fresca e seca (Figura 4). Houve efeito quadrático das concentrações de citocininas sobre a biomassa dos explantes. Maiores concentrações de BAP e KIN reduziram a biomassa, sendo que a concentração de 10 mg L⁻¹ foi a mais prejudicial. Provavelmente a maior biomassa fresca e seca seja em virtude do maior comprimento dos brotos e entrenós, já evidenciado nessas variáveis com a presença de KIN. Rodrigues *et al.* (2013), corroboram com esta afirmação, pois verificaram em *P. peruviana* que em relação à massa fresca o melhor resultado ocorreu na ausência de BAP. Em estudo com o tomate cultivar Alambra,

Torres (2013) verificou que o aumento de concentrações de KIN reduz a massa fresca da parte aérea e das raízes.

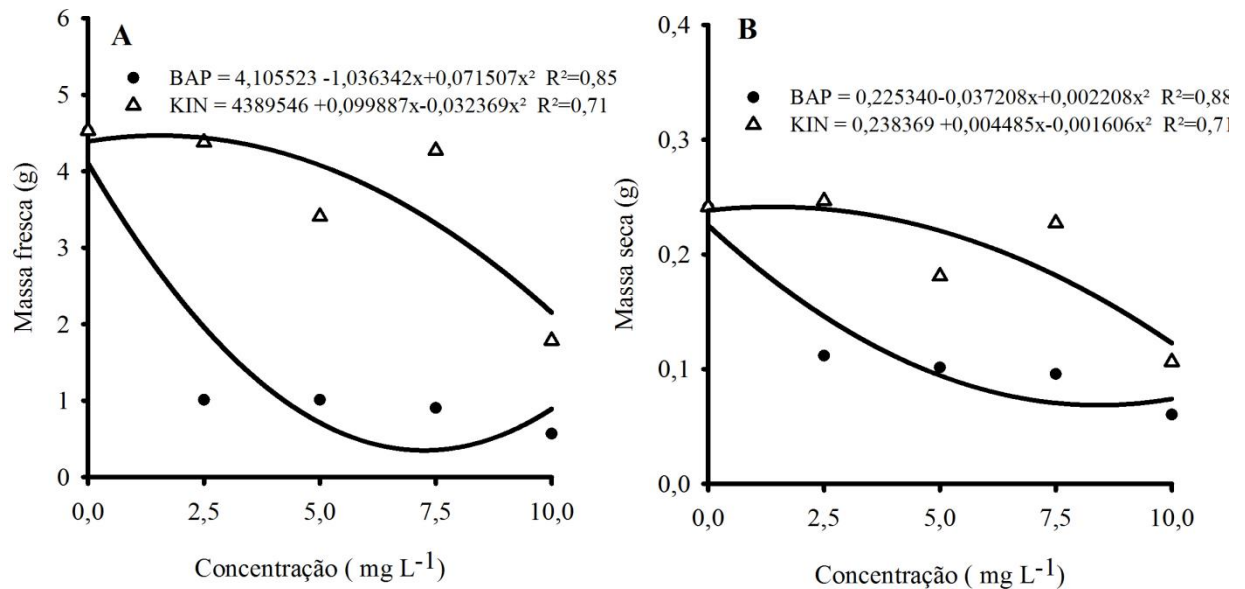


Figura 4. Efeito das diferentes concentrações de citocininas BAP e KIN (cinetina) na biomassa fresca (A) e biomassa seca (B) em *Physalis angulata* L. UNICRUZ, Cruz Alta - RS. 2014.

2.6 CONCLUSÃO

Recomenda-se o uso do regulador de crescimento KIN na concentração de 5 mg L⁻¹ e na ausência de 2,4-D, para a comprimento de brotos e número de entrenós na multiplicação *in vitro* de plantas de *Physalis angulata* L.;

Para biomassa fresca e seca, percentagem de raiz, o meio de cultura isento de reguladores de crescimento vegetal propiciou resultados satisfatórios.

2.8 REFERÊNCIAS

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

BRUM, G.R. et al. Efeito de diferentes concentrações de BAP e ANA na propagação *in vitro* da figueira (*Ficus carica* L.). **Ciência Agrotécnica**, v.26, n.2, p.1403-9, 2002.

BORGES, N. S. S.; BENBADIS, A. K.; MARCO, C. A. Respostas morfogênicas de tomateiro cultivado *in vitro*. **Revista Ciência Agronômica**, v. 36, n. 1. Jan-Abr. 2005. P. 91 - 97.

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.

CHAVES, A. C.; SCHUCH, M. W.; ERIG, A. C. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana* L. **Ciênc. agrotec**, Lavras, RS, v. 29, n. 6, páginas 1281-1287. Dez. 2005. Disponível em < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542005000600024&lng=p&nrm=iso>. Acesso em 29 set. 2014.

COSTA, G. M. **Propagação *in vitro* de *Erythrina velutina*.** Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Programa de Pós Graduação em Biotecnologia- Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana-BA. 2009, 64f.

DALL'AGNOL, I. **Perfil fitoquímico e atividade antimicrobiana de *Physalis pubescens* L. Erechim, RS.** 2007. 36f. Monografia (Graduação em Farmácia Bioquímica Clínica) - Departamento de Ciências da Saúde da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, 2007.

DE OLIVEIRA, L. M., *et al.* Estabelecimento *in vitro* e crescimento inicial de *Physalis angulata* (Solanaceae). **Sitientibus série Ciências Biológicas**. 2013.

DODE, L. B. *et al.* *In vitro* propagation of *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v.25, n.2, p.435-7, 2003.

DOSTER, N. *et al.* **Hoja botânica: Aguayamanto. *Physalis peruviana*.** Disponível em: http://www.botconsult.de/downloads/Hoja_Botanica_Aguaymanto_2012.pdf . Acesso em: 14 de nov. de 2014.

ESPINOSA, J. A. O. *et al.* Potencial de propagación *in vitro* para el tomate de árbol partenocárpico *Cyphomandra betacea* Cav. (Sendt). **Revista Facultad Nacional de Agronomía**. Medellín. Colombia. v. 58, n. 1, p. 2685-2695. 2005.

FERREIRA, D.F. **Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0.** In: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria, 45, 2000, São Carlos, SP. Anais. São Carlos: Universidade Federal de São Carlos, 2000. p. 255 – 258.

FERREIRA, M.E.; CALDAS, L. S.; PEREIRA, E. A. **Aplicações da cultura de tecidos no melhoramento genético de plantas.** In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: Embrapa – CNPH. 1998. p. 21 – 43.

FLORES, R.; NICOLOSO, F.T.; MALDANER, J. e GARLET, T.M.B.. Benzilaminopurina (BAP) e thidiazuron (TDZ) na propagação in vitro de *Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen. **Rev. bras. plantas med.** [online]. 2009, vol.11, n.3 [citado 2014-11-11], pp. 292-299 . Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-05722009000300010&lng=pt&nrm=iso>. ISSN 1516-0572. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722009000300010>

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M.A. Micropropagação. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas.** Brasília:Embrapa-SPI; Embrapa-CNPH, 1999. v.2, p.533-568.

HU, C. Y.; WANG, P. J. Meristem, shoot tip and bud culture. In: EVANS, D. A.; SHARP, W. R.; AMMIRATO, P. V.;YAMADA, Y. (Eds.). **Handbook of plant cell culture:techniques for propagation and breeding.** New York:Macmillan, 1983. p. 117-227.

IBGE, 2006. **Censo Agropecuário.**

KIELSE, P. *et al.* Regeneração in vitro de *Parapiptadenia rigida*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 4, p. 1098-1104, jul. 2009.

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. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 56, n.5, p. 555-561, set/out. 2009.

LIMA, C. S. M. *et al.* Sistemas de tutoramento e épocas de transplante de *Physalis*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 12, p. 2472 – 2479, dez, 2010.

LINO, L. de O. *et al.* KIN, ácido giberélico e BAP na indução de embriões somáticos a partir de anteras de cafeeiro *Coffea arabica* L. **Plant Cell Culture & Micropropagation**, Lavras v.5, n.2, p. 111-117, 2009.

LISSNER, R. A. e VELA, H. A. Introdução ao Cultivo de *Physalis* (*Physalis angulata* L.) de Base Agroecológica na Região Central do Estado do Rio Grande do Sul. Resumos do VI CBA e II CLAA. **Revista Brasileira de Agroecologia**. Santa Maria. v.4, n. 2, nov. 2009.

LLOYD, G.; McCOWN, B. Commercially feasible micropropagation of mountains laurel, *Kalmia latifolia* by use of shoot tip culture. **Combined Proceedings International Plant Propagators Society**, Washington, v. 30, p. 327 - 421, 1981

LUZ, J. M. Q. *et al.* Indução *in vitro* de embriões em anteras de pimentão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 1, p. 56-60, nov. 1998.

MUNIZ, J. N. **Micropropagação e aclimatização de *Physalis peruviana* e *Physalis alkekengi***. Dissertação (mestrado) – Centro de Ciências Agroveterinárias/UEDESC. 70p. 2013.

MUNIZ, J. N. **Sistemas de condução e espaçamentos para o cultivo de *Physalis* (*Physalis peruviana* L.) no Planalto Catarinense**. Dissertação (mestrado) – Centro de Ciências Agroveterinárias / UEDESC. Lages, 2011.

MALOSSO, M. G.; BARBOSA, E. P.; NAGAO, E. O. Micropropagação de jambu [*Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen]. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v.10, n. 3. p. 91-95, 2008.

MUNIZ, J. *et al.* Sistemas de condução para cultivo de *Physalis* no planalto Catarinense. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP, v. 33, n. 3, p. 830-838, Set. 2011.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473 – 497. 1962.

NOGUEIRA, R. C. *et al.* Indução de calos em explantes foliares de Murici-pequeno (*Byrsonima intermedia* A. Juss.) **Ciênc. Agrotec**. Lavras, v. 31, n. 2, p. 366-370. Mar./Abr. 2007.

QUER, P. F. **Plantas Medicinales**. El Dioscórides Renovado. Editorial Labor, S. A. Barcelona. 1982. 579p.

RODRIGUES, F. A. Diferentes concentrações de sais do meio MS e BAP na multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana* L. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.29, n. 1, p. 77-82, Jan./Feb. 2013.

SAHA,S.; KADER, A.;SENGUPTA, C. ; GHOSH,P. "In Vitro Propagation of *Ocimum Gratissimum* L. (Lamiaceae) and Its Evaluation of Genetic Fidelity Using RAPD Marker. **American Journal of Plant Sciences**, v.3, n.1, 2012, p. 64-74. doi: [10.4236/ajps.2012.31006](https://doi.org/10.4236/ajps.2012.31006).

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

SILVA, F. G. et al . Efeito da concentração de sais e fitorreguladores na indução de calos em carqueja. **Ciênc. Agrotec.** Lavras, v. 27, n. 3, jun. 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542003000300007&lng=pt&nrm=iso>. Acessado em: 09 nov. 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542003000300007>.

SOARES, G. de A. **Aspectos do cultivo in vitro do ingazeiro (*Inga vera* Willd. Subsp. *Affinis* (DC) T. D. Penn)**. Dissertação de Mestrado, Curso de Pós-graduação em Agronomia, UFLA, Lavras. 2003.

STOFFELL, J. **Agricultura Familiar nos Estados da Região Sul do Brasil: caracterização a partir dos dados do censo agropecuário de 2006**. Discente do Doutorado em Desenvolvimento Regional da Unisc/RS. Bolsista do Programa BIPSS-Bolsas Institucionais para Programas de Pós-Graduação da Universidade de Santa Cruz do Sul, RS, Edital 01/2011. Docente da Faculdade Horizontina. 2011.

STORK, L.; GARCIA, D. C.; LOPES, S. J. et al. **Experimentação vegetal**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2000. 198p

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. Ed. Porto Alegre. Artmed, 2004. 719 p.

TORRES, F. J. B. **Micropropagação e aclimatização do tomateiro híbrido “Alambra”**. Tese (Doutorado Produção Vegetal). Universidade estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências y Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes. RJ. 2013.

USDA, NRCS. 2006. **The Plants Database**. Disponível em: <<http://plants.usda.gov>>, 30 May 2006). National Plant Data Center, Baton Rouge, LA 70874-4490 USA. Acesso em: 27 de maio 2006.

VICENTE, M. A. A. *et al.* Multiplicação *in vitro* e aclimatação de *Vernonia condensata* Baker. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.11, n.2, p.176-83, 2009.

ZAPATA, J.L.; SALDARRIAGA, A.; LONDOÑO, M.; DIAZ, C. Manejo del cultivo de la Uchuva en Colombia. **Boletín Técnico**. Corporación Colombiana de Investigación

Agropecuaria, Corpoica, Regional 4, Centro de Investigación «La Selva», Apartado Aéreo 100, Rio Negro, Antioquia, Colombia. Boletín Técnico. 42 páginas. 2002.

3. ARTIGO II

MULTIPLICAÇÃO POR ESTAQUIA DE *Physalis angulata* L.

3.1 RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a propagação por estaquia para a produção de mudas de *Physalis angulata* L. utilizando-se diferentes tipos de estacas e concentrações de AIB. Para tanto foram avaliadas plantas produzidas a partir de estacas herbáceas oriundas de plantas matrizes na fase reprodutiva. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial 2 x 5, sendo os fatores constituídos de dois tipos de estacas (basal e mediana) e cinco concentrações de AIB (0, 400, 800, 1200 e 1600 mg.L⁻¹) imersas durante 5 minutos, com quatro repetições e cinco estacas por parcela. As avaliações das variáveis realizadas as 20 e 40 dias foram número de brotações, de folhas e altura de brotação, sendo que aos 60 dias foram avaliados também percentagem de sobrevivência, o número e o comprimento da maior raiz, massa seca de folha e massa seca total. Não houve interação significativa entre os fatores tipo de estaca e concentrações de AIB. Aos 20 dias não foram encontradas diferenças significativas para nenhuma das variáveis analisadas, sendo que aos 40 dias verificou-se efeito significativo apenas para a concentração de AIB no número de folhas. Aos 60 dias verificou-se que é dispensável o uso de AIB, em virtude do pouca eficiência do regulador nas variáveis analisadas.

Palavras-chave: *Physalis*. Propagação vegetativa. Produção de mudas.

MULTIPLICATION BY CUTTINGS OF *Physalis angulata* L.

3.2 ABSTRACT

This thesis aimed to evaluate the production of seedlings of *Physalis angulata* L.) using the technique propagation by cuttings. Different types of cuttings and plant regulator concentrations of IBA were tested. Herbaceous cuttings derived from plants in the reproductive phase were used. The experimental design was a randomized block factorial 2 x 5. Factorial consist of two types of cuttings (basal and median) immersed for 5 minutes and in five concentrations (0, 400, 800, 1200 and 1600 mg.L⁻¹) of the auxin IBA, with four replications and five cuttings per plot. Evaluations of the variables were performed at 20 and 40 days, considering the number of shoots, leaves and budding height; and at 60 days were also evaluated percent survival, the number and length of largest root, dry sheet matter and total dry matter. According results no significant interaction between the factors cuttings type and IBA concentrations were found. At the 20 day no significant differences for any of the variables analyzed were found. At the 40 day a significant effect were found between the concentration of IBA and the number of leaves. At the 60 day was found that the use of IBA is dispensable, due to the low growth regulator efficiency in the analyzed variables

Keywords: *Physalis*. Vegetative propagation. Seedling production

3.3 INTRODUÇÃO

O gênero *Physalis* pertence à família Solanaceae, com mais de 80 espécies, sendo algumas tóxicas. Destaca-se pela presença de metabólitos poli-oxigenados e vitaesteróides (TOMASSINI et al., 2000). Ferreira (2006) e Brighenti (2011) afirmam que a fisalis possui propriedades nutraceuticas e que os povos nativos da Amazônia e do nordeste do Brasil utilizam suas folhas, frutos e raízes no combate à diabetes, ao reumatismo crônico, às doenças de pele, bexiga, rins e fígado. As frutas são delicadas, pequenas e redondas, com a parte comestível protegida por uma casca grande, derivada do verticilo.

A propagação comercial da fisalis é realizada, basicamente, por sementes. Autores como Sandhu et al. (1989) mencionam que fisalis propagadas por sementes originam plantas com crescimento, vigor, rendimento e qualidade de frutos variados, além disso ocorre também uma grande variabilidade fenotípica. Corroborando com a posição Calderón (1987) que salienta que a vantagem da produção por estaquia dessas espécies em relação a sementes está principalmente em virtude da necessidade de pouco espaço operacional e pelo volume de produção oriundo de apenas uma planta, gerando material propagativo idêntico. Alamino (2011) indica a estaquia como o melhor método de propagação de fisalis se comparado com a semente e que não existe uma grande diferença de resultados em se tratando de substratos usados neste sistema.

Assim, a propagação assexuada torna-se uma alternativa para produção de material homogêneo e com as características desejáveis. Normalmente se utilizam estacas dos ramos, uma vez que essas enraízam melhor por possuírem tecido indiferente e facilitam a formação de primórdios radiculares. Baseada nas dúvidas existentes, o objetivo desse estudo foi avaliar a propagação por estaquia para a produção de mudas utilizando-se diferentes tipos de estacas e concentrações de ácido indolbutírico.

3.4 MATERIAL E METODOS

Foram coletadas estacas de plantas matrizes de *Physalis angulata* com um ano de idade, em período reprodutivo, no mês de dezembro no Laboratório de Multiplicação Vegetal do Polo de Inovação Tecnológica Alto Jacuí, localizado no Campus da Universidade de Cruz Alta, Cruz Alta - RS.

As estacas foram padronizadas com 12 cm de comprimento, com uma folha efetuando-se um corte em bisel na extremidade basal da estaca, e inseridas em um recipiente plástico de 300 ml, contendo 50% de substrato Germina Plant® + 50% de areia e colocadas em casa de vegetação, com irrigação por nebulização.

O delineamento experimental foi blocos ao acaso, em esquema fatorial 2 x 5, sendo os fatores constituídos de dois tipos de estacas (estaca basal, e estaca mediana (localizada entre a estaca basal e a apical) e cinco concentrações da auxina ácido indolbutírico (AIB - 0, 400, 800, 1200 e 1600 mg.L⁻¹) imersas durante 5 minutos, totalizando dez tratamentos com quatro repetições e cinco estacas por parcela. Aos 20 e 40 dias foram avaliados número de brotações, de folhas e altura de brotação, sendo que aos 60 dias foram feitas avaliações destrutivas, avaliando-se também percentagem de sobrevivência, número e o comprimento da maior raiz, massa seca de folha e massa seca total.

Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando necessário, foi avaliada primeiramente a ocorrência ou não de interação para posteriormente proceder-se com o desdobramento das mesmas ou, se ocorreu efeito de fatores isoladamente, as análises complementares adequadas como a análise de regressão polinomial para fatores quantitativos e teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro, para fatores qualitativos com auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000).

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve interação significativa de acordo com o teste F, para as características analisadas, entre os fatores tipo de estaca e concentrações de AIB (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados do teste F da análise de variância para as médias de número de brotações (NB), número de folhas (NF), altura de brotação (AB) em estacas de *Physalis angulata*, em função dos diferentes doses de ácido indolbutírico (AIB) aos 20 e 40 dias após o transplante (UNICRUZ, Cruz Alta, 2014).

Variáveis	-----20 dias-----				-----40 dias-----			
	Doses de AIB	Tipo de estaca	Interação	CV(%)	Doses de AIB	Tipo de estaca	Interação	CV(%)
	(A)	(B)	(AxB)		(A)	(B)	(AxB)	
NB	ns	ns	ns	13,42	*	ns	ns	22,48
NF	ns	ns	ns	22,83	ns	ns	ns	35,17
AB	ns	ns	ns	28,06	ns	ns	ns	37,47

ns= não significativo; CV(%)= coeficiente de determinação

Aos 20 dias não foram encontradas diferenças significativas para nenhuma das variáveis analisadas, sendo que aos 40 dias verificou-se efeito significativo apenas para a concentração de AIB no número de folhas ($p < 0,0119$) conforme Figura 1.

No período inicial de obtenção de mudas de fisális por estaquia pode-se observar que, independentemente, do tipo de estacas utilizadas, as mudas emitiram um número maior de folhas quando submetidas concentração de 400 mg L⁻¹ de AIB (Figura 1). Com o aumento da concentração o numero de folhas tende a decrescer.

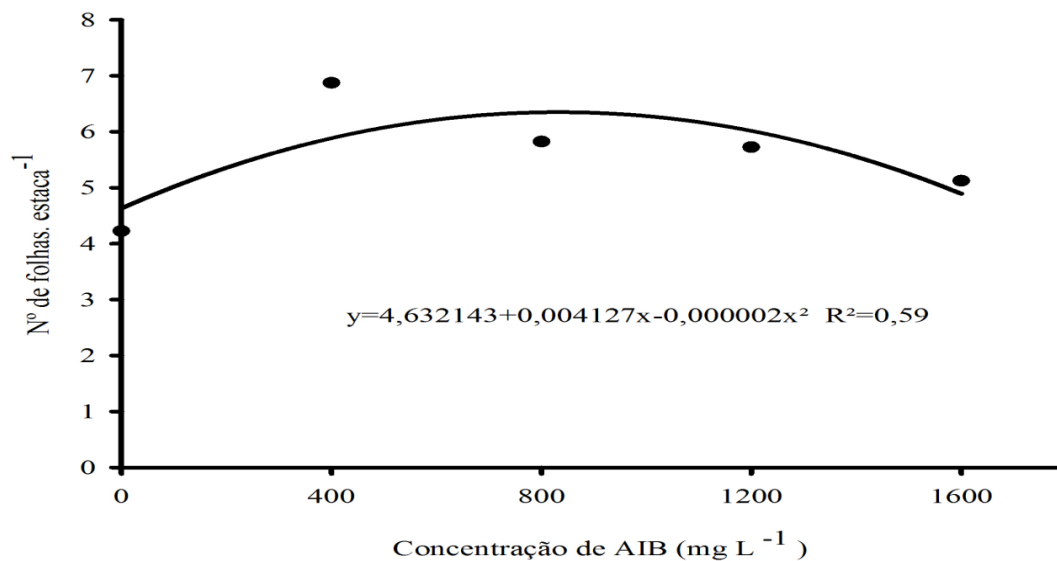


Figura 1. Efeito de diferentes concentrações de AIB sobre o número de folhas em estacas de *Physalis angulata* L. UNICRUZ, Cruz Alta, RS. 2014.

No entanto, quando as mudas foram avaliadas aos 60 dias, não foram encontradas diferenças significativas para o tratamento concentrações da auxina ácido indolbutírico, mas para tipo de estaca quanto as variáveis número de folhas ($p < 0,0250$) e massa seca de folhas ($p < 0,0278$) Tabela 2.

As estacas de tipo basal, obtidas da parte basal de plantas matrizes, foram superiores as dos tipos medianas quanto as características número e massa seca de folhas. O que pode estar relacionado segundo Hartmann et al. (2002), a posição da mesma no ramo, pois estacas formadas mais próximas do ramo possuem condições fisiológicas diferenciadas, podendo apresentar maior conteúdo de carboidratos, substâncias nitrogenadas, aminoácidos, auxinas e compostos fenólicos, o que pode contribuir para melhor formação da muda.

Na tabela 2 observa-se que a maioria das variáveis não diferiram estatisticamente. O uso de AIB é dispensável na obtenção de mudas por estaquia de *P.angulata*. A obtenção de estacas sem a utilização de reguladores de crescimento diminui os custos de produção, associado a maior produção de mudas em um menor espaço.

Tabela 2. Percentagem de sobrevivência (% S), massa seca de folhas (MSF), número de folhas (NF), de brotações (NB) e de raízes (NR), altura de brotações (AB), comprimento de maior raiz (CMR) e total (MST) em resposta ao tipo de estaca de *Physalis angulata* L UNICRUZ, Cruz Alta, RS. 2014.

Tipo de estaca	% S	MSF (g)	NF	NB	AB (cm)	NR	CMR (cm)	MST (g)
Mediana	86,72a	0,046 b	5,80 b	1,40a	7,07a	37,29a	24,18a	0,47a
Basal	80,08a	0,065 a	7,02 a	1,47a	7,38a	40,10a	26,87a	0,48a
CV(%)	14,63	4,08	24,97	14,41	25,60	23,42	19,14	17,78

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade de erro. Dados transformados $\sqrt{x+0,5}$. ns= não significativo

Quanto ao tipo de estaca verifica-se uma variação muito pequena nas variáveis estudadas, o que possibilita o uso dos dois tipos. Recomenda-se a basal quando houver disponibilidade de material genético, pois a variável número de raízes que é importante na produção de mudas, não diferiu entre os tipos de estaca.

A utilização de estacas beneficia o produtor uma vez que a coleta pode ser realizada em qualquer fase do desenvolvimento da planta. E de acordo com Doster *et al* (2012) na propagação vegetativa as plantas são maiores do que aquelas oriundas por propagação seminal, apesar de não se desenvolverem tão vigorosamente, isto é, tem uma baixa relação produção vegetativa/produção de frutos, o que indica que produzem mais frutos que biomassa vegetativa. Além disto, a estaquia permite obter materiais semelhantes em curto espaço de tempo, permitindo uma redução entre o tempo de produção da muda e seu estabelecimento a campo.

3.6 CONCLUSÃO

Diante dos resultados, constatou-se neste trabalho ser possível a propagação vegetativa da fisális, sem a utilização de AIB, sendo que a estaca basal produziu maior número e massa seca de folhas.

3.8 REFERÊNCIAS

- BRIGHENTI, A. F. **A cultura da Physalis**. Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC. Centro de Ciências Agrárias – CCA. Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais – RGV. 10/06/2011.
- CALDERÓN, E. **Fruticultura general, el esfuerzo del hombre**. Editorial Limusa, México. p. 546-549. 1987.
- FERREIRA, M. **Fruta Nativa para fugir da seca**. Reportagem na seção Fruticultura. Campo e Lavoura. Jornal Zero Hora. n.1 ,109. 31/03/2006.
- FERREIRA, D.F. **SISVAR: Um programa para análises e ensino de estatística**. Revista Symposium, v. 6, p. 36-41. 2008.
- HARTMANN, H. T. *et al.* **Plant propagation: principles and practices**. 7. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2002. 880 p.
- SANDHU, A.S. *et al.* **Rhizogenesis of shoot cuttings of raspberry (*Physalis peruviana* L.)**. Indian Journal of Horticulture. v. 46. n. 3. p. 376 – 378. 1989.
- TOMASSINI *et al.* **Gênero *Physalis* – Uma revisão sobre vitaesteróides**. Química Nova, Jan/Fev. 2000.

4 DISCUSSÃO GERAL

Physalis é uma planta com características nutraceuticas, gosto, aroma e formato, que a fazem atrativas ao consumo *in natura*, e em produtos como geleias e acompanhamento de doces, como chocolates e diversas salgados na salada. A versatilidade do seu uso e de seus benefícios coloca essa frutífera como uma boa alternativa para a agricultura familiar.

No Artigo I - "Multiplicação *in vitro* de *Physalis angulata* L." avaliou-se o efeito das combinações entre as concentrações (0-1600 mg L⁻¹) das citocininas BAP e KIN e da presença (0,05 mg L⁻¹) ou ausência de 2,4-D. Os resultados indicaram que a KIN na concentração de 5 mg L⁻¹ e na ausência de 2,4-D é mais indicada para maior comprimento de brotos e número de entrenós na multiplicação *in vitro* de plantas de *Physalis angulata* L.; mas para maior biomassa fresca e seca, percentagem de raiz, o meio de cultura isento de reguladores de crescimento vegetal propiciou resultados satisfatórios.

No Artigo II - "Multiplicação por estaquia de *Physalis angulata* L." descreve-se a pesquisa avaliando dois tipos de estacas: mediana e basal, com diferentes doses de AIB. Os resultados evidenciam que o método de propagação vegetativa é possível para a obtenção de plantas semelhantes ou clones, com as mesmas características fisiológicas, independente do tipo de estaca e sem a utilização do AIB.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Recomenda-se a continuidade dos estudos com a utilização de outros reguladores de crescimento, e de extratos vegetais para o enraizamento, bem como os aspectos relacionados com o desenvolvimento da *Physalis angulata* após a formação da muda, para auxiliar no fortalecimento da agricultura familiar e na sustentabilidade dos sistemas orgânicos de produção.

REFERÊNCIAS

- ALAMINO, D. A. **Características agronômicas de *Physalis* (*Physalis pubescens* L.) produzidas por diferentes métodos e substratos e aspectos anatômicos e fitoquímicos.** 2011. 89 f. - Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2011.
- BRIGHENTI, A. F. **A cultura da *Physalis*.** Universidade Federal de Santa Catarina. UFSC. Centro de Ciências Agrárias. CCA. 2011.
- FERREIRA, M. Fruta Nativa para fugir da seca. Reportagem na seção Fruticultura do caderno Campo e Lavoura. **Jornal Zero Hora.** n. 1, 109. 31/03/2006.
- FISCHER G. Crecimiento y desarrollo. In: FLOREZ, V.J.; FISCHER, G.; SORA, A. **Producción, pos cosecha y exportación de la uchuva (*Physalis peruviana* L.).** Bogotá: Unibiblos, Universidad Nacional de Colombia, 2000, p. 9 – 26.
- MUNIZ, J.; KRETZSCHMAR, A. A.; RUFATO, L. Cultivo de *Physalis peruviana* L.: uma nova alternativa para pequenos produtores. **Jornal da Fruta,** Lages, Ano XVIII, n. 228, p. 22, jun. 2010.
- RUFATO, L. *et al.* **Aspectos técnicos da cultura da *Physalis*.** 1. Edição. Lages: CAV/UDESC; Pelotas: UFPel, 2008. 100 p.
- SCHNEID, L. Agrônoma testa cultivo de nova fruta na região. **Diário Popular,** Pelotas, 08 jun. p. 27. 2008.
- STEHMANN, J. R., *et al.* Riqueza e endemismo de Solanaceae na Região Sul do Brasil. **In:** Anais do 57 Congresso Nacional de Botânica “Os avanços da Botânica no início do século XXI: morfologia, fisiologia, taxonomia, ecologia e genética. Gramado, 2006, p. 190 – 193.
- VILLEGAS, I. C. El cultivo de la Uchuva. (*Physalis peruviana*). Área: Manejo integrado de cultivos / Frutales de altura. Proyecto Microcuenca Plantón – Pacayas. **Boletín técnico.** No. 10 San José, Costa Rica. Noviembre, 2009.