

DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE SAIS DO MEIO MS E BAP NA MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* DE *Physalis peruviana* L.

DIFFERENT CONCENTRATIONS OF THE MS MEDIUM AND BAP ON MULTIPLICATION IN VITRO OF Physalis peruviana L.

Filipe Almendagna RODRIGUES¹; Edwaldo dos Santos PENONI¹;
Joyce Dória Rodrigues SOARES²; Moacir PASQUAL³

1. Engenheiro Agrônomo, DSc., Pós-doutorando em Agronomia/Fitotecnia, Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras – UFLA, Lavras, MG, Brasil. filipealmendagna@yahoo.com.br; 2. Engenheira Agrônoma, DSc., Pós-doutoranda em Agronomia/Fitotecnia - UFLA, Lavras, MG, Brasil. 3. Engenheiro Agrônomo, DSc., Professor Titular do Departamento de Agricultura – UFLA, Lavras, MG, Brasil. mpasqual@dag.ufla.br

RESUMO: A *Physalis peruviana* L. pertence à família Solanaceae, representa um grande potencial econômico, sendo classificada como fruta fina, a exemplo do mirtilo, framboesa, cereja, amora e pitaya. Ainda tem consumo restrito por causa do alto valor agregado, em decorrência da produção limitada, do manejo da colheita, da exigência em mão-de-obra, dos cuidados no transporte e da armazenagem. Objetivou-se com este trabalho a adequação de protocolo para indução de brotações *in vitro*. O material vegetal utilizado foram segmentos caulinares (de aproximadamente 2 cm, contendo duas gemas) de *Physalis peruviana* L., oriundos da germinação das sementes *in vitro*. O meio de cultura básico utilizado foi o de MS nas seguintes concentrações: 0, 25, 50, 75 e 100%, combinadas com diferentes concentrações de BAP: 0, 0,5, 1,0 e 2,0 mg L⁻¹. A adição da citocinina 6-benzilaminopurina (1,3 mg L⁻¹) no meio MS com 50% dos sais foi eficiente para a multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana* L.

PALAVRAS-CHAVE: Cultura de tecidos. Propagação. Fruticultura. Micropropagação.

INTRODUÇÃO

A *Physalis peruviana* L., pertencente à família Solanaceae, é originária da Amazônia e dos Andes, possuindo variedades cultivadas na América, Europa e Ásia. A Colômbia é o maior produtor mundial de *P. peruviana* produzindo 11.500 toneladas de frutos por ano, porém apenas 50% dessa produção são destinadas à exportação, o restante é utilizado em outros fins, como produtos desidratados, pois o fruto não atinge o tamanho padrão para exportação (CASTRO et al., 2008).

Representa grande potencial econômico, sendo classificada como fruta fina, a exemplo do mirtilo, framboesa, cereja, amora e pitaya. Ainda tem consumo restrito por causa do alto valor agregado, em decorrência da produção limitada, do manejo da colheita, da exigência em mão-de-obra, dos cuidados no transporte e da armazenagem. Segundo Tomassini et al. (2000), a família Solanaceae é reconhecida pela presença de metabólitos poli-oxigenados e vitaesteróides, incluindo uma grande variedade de plantas que são econômica e farmacologicamente importantes, a exemplo da *Physalis angulata* L., que é largamente empregada na medicina popular de vários países, especialmente os da América do Sul.

Essa fruta caracteriza-se pelo sabor doce e expressivo conteúdo de vitamina A, C, ferro e fósforo (FISCHER; ALMANZA, 1993), sendo que

o principal grupo de esteróides encontrados no gênero *Physalis* são as fisalinas. Tomassini et al. (2000), também relatam aplicações terapêuticas e atividades farmacológicas de espécies de *Physalis* como antiparasítica, anti-viral, e anti-neoplásica.

Em relação aos métodos de propagação desta espécie pode-se citar a obtenção de mudas por sementes, estacas e a micropropagação que possibilita a obtenção mudas sadias e em grande quantidade. Para isso, deve-se utilizar o meio apropriado que possibilite a concentração de sais de que a espécie necessita, bem como a concentração e o tipo de regulador de crescimento que aperfeiçoe o processo de multiplicação.

Dentre as citocininas, o BAP tem sido muito eficaz para promover a multiplicação em diversas espécies e parece ser o fitorregulador mais adequado para a multiplicação de parte aérea e indução de gemas adventícias (GRATTAPLAGIA; MACHADO, 1998). Diversos trabalhos em frutíferas corroboram com esta afirmação, como os de Moura et al. (2001) em *Citrus*, Oleg et al. (2000) em pêssego e cereja, Schwartz et al. (2000) em macieira, dentre outros. Além disso, em algumas culturas, as brotações obtidas na fase de multiplicação geralmente são pequenas e não se encontram em condições de ser individualizadas para o enraizamento. Neste caso, necessita-se de estudos relativos à nutrição para que as mudas formadas tenham condições de prosseguirem com o

processo de micropropagação. Assim sendo, objetivou-se com este trabalho promover a adequação de protocolo para a indução de brotações *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados segmentos caulinares (de aproximadamente 2 cm, contendo duas gemas) de *Physalis peruviana* L., oriundos da germinação das sementes *in vitro*.

O meio de cultura básico utilizado foi o de Murashige e Skoog (1962) nas seguintes concentrações: 0, 25, 50, 75 e 100%, combinadas com diferentes concentrações de BAP: 0, 0,5, 1,0 e 2,0 mg L⁻¹. Os meios foram solidificados com 5,5 g L⁻¹ de ágar e o pH ajustado para 5,8, antes da autoclavagem (121 °C e 1,0 atm por 20 minutos).

Os segmentos caulinares foram inoculados em tubos de ensaio, e posteriormente mantidos em sala de crescimento com iluminação artificial fornecida por lâmpadas fluorescentes do tipo luz do dia especial (OSRAM 20 W), com irradiância média de 42 W m⁻², fotoperíodo de 16 horas e temperatura de 25 ± 2 °C.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x4, sendo 12 segmentos caulinares por tratamento, ou seja, 4 repetições com 3 plantas cada uma.

As avaliações do experimento foram efetuadas 60 dias após a instalação, observando-se número de brotos, comprimento médio de brotos e massa fresca de brotos.

Os dados foram submetidos ao programa estatístico Sisvar 4.3 (FERREIRA, 2000) e comparados por meio de regressão polinomial, em nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Decorrido o período de incubação, observou-se que as plântulas responderam ao tratamento com BAP em termos de multiplicação da espécie *in vitro*. Nos tratamentos em que continha doses da citocinina, surgiram novas brotações a partir da base e/ou dos nós, e naqueles onde havia apenas meio de cultura houve crescimento em detrimento à multiplicação (Figura 1). Plantas ou explantes cultivados *in vitro* têm exigências nutricionais específicas e requerem meios nutritivos compostos por minerais, vitaminas, fontes de energia e reguladores de crescimento. A composição do meio de cultura tem importante função nas respostas de crescimento de células e tecidos, sendo que os meios de cultura podem ser modificados de acordo com a necessidade de cada tipo de explante e a espécie com a qual se esteja trabalhando (TORRES et al., 2001).

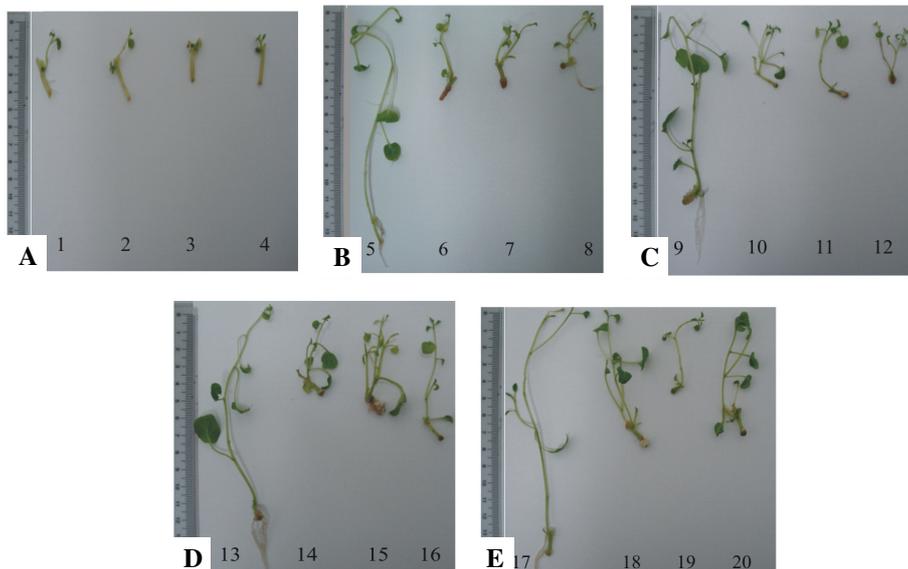


Figura 1. Plântulas de *Physalis peruviana* L. agrupadas por tratamentos, sendo: A – ausência de sais do meio MS e 0, 0,5, 1,0 e 2,0 mg L⁻¹ de BAP; B – 25% de meio MS e 0, 0,5, 1,0 e 2,0 mg L⁻¹ de BAP; C – 50% de meio MS e 0, 0,5, 1,0 e 2,0 mg L⁻¹ de BAP; D – 75% de meio MS e 0, 0,5, 1,0 e 2,0 mg L⁻¹ de BAP; E – 100% de meio MS e 0, 0,5, 1,0 e 2,0 mg L⁻¹ de BAP.

Para a variável número de brotos (Figura 2) houve interação significativa entre 25, 50 e 75% do meio MS e as diferentes doses de BAP testadas. Maior número de brotos (3,0) foram obtidos em 50% de meio MS suplementado com 1,3 mg L⁻¹ de BAP. 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 número de brotos por segmento. Estes resultados estão de acordo com Chaves et al. (2005), que afirmam que meios baseados em formulações básicas diluídas têm possibilitado melhores resultados para multiplicação das mais diversas espécies e que a diminuição de

sais e reguladores de crescimento nos meios de cultura é uma tendência mundial, uma vez que muitas pesquisas estão sendo realizadas com esta finalidade, para que o custo final de produção da muda seja reduzida o que possibilita o acesso ao produtor. Costa et al. (2006) verificaram pequenas diferenças na capacidade proliferativa de bananeira entre níveis de BAP testados (2,3 brotos), levando à conclusão de que tais resultados podem estar associados à interação genótipo e citocinina. Daí a necessidade de se otimizar a cada genótipo o nível exógeno ou mesmo o tipo de citocinina a ser adicionado ao meio.

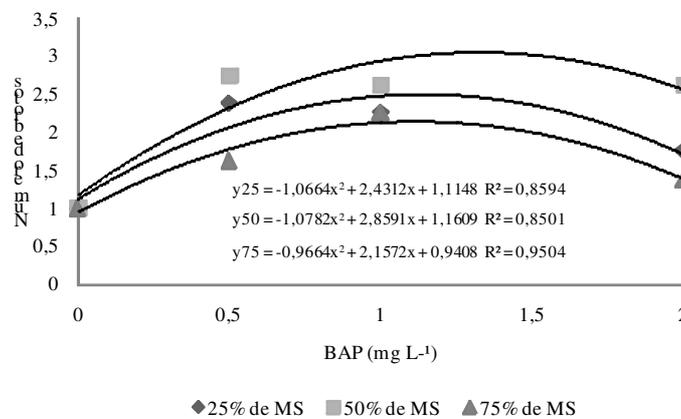


Figura 2. Número de brotos em diferentes concentrações de BAP e de sais do meio MS em plântulas de *Physalis peruviana* L.

De acordo com análise de regressão para a variável comprimento médio de brotos (Figura 3) foram observadas diferenças significativas apenas entre 25, 75 e 100% do meio MS e as diferentes doses de BAP testadas. É possível observar também que maior comprimento médio de brotos (15 cm) ocorreu na ausência de BAP em 75% dos sais do meio MS (Figura 1 B, C, D e E) e à medida que se adicionou BAP ao meio de cultura, houve efeito negativo desta citocinina, o que foi caracterizado pela acentuada redução do comprimento à medida que se elevou a concentração desta no meio. Este fato pode ser atribuído aos efeitos do BAP em quebrar a dominância apical e favorecer a emissão de novos brotos (MOK, 1994, citado por MOK et al., 2000). De acordo com Grattapaglia e Machado (1998), o alongamento pode ser inibido pelo efeito acumulativo do regulador de crescimento presente no meio, no caso a 6-benzilaminopurina (BAP). Estudos realizados por Diniz et al. (2003) demonstraram que a adição de BAP no meio de cultura também causou redução no comprimento de brotações de macela.

Diferentemente do número de brotações que requisitou apenas 50% de sais do meio MS para obtenção de melhores resultados, para que o comprimento médio dos brotos fosse máximo foi necessário o incremento de 75% dos sais para que atingisse maior. Este resultado pode ser explicado pelo aumento na concentração dos nutrientes com um todo, principalmente do Zn e N que atuam diretamente no metabolismo de crescimento da plântula.

Para a variável massa fresca (Figura 4) foram observadas diferenças significativas entre as concentrações de BAP e meio MS testadas. Maior massa fresca foi obtida na ausência de BAP juntamente com a adição de 75% dos sais do meio MS (0,43g). Provavelmente o aumento na massa obtida deve-se ao maior comprimento médio dos brotos, uma vez que a mesma composição de meios foi encontrada para as duas variáveis analisadas, remetendo à plântulas de maior tamanho e menor taxa de multiplicação. Villa et al. (2010) avaliaram o efeito de concentrações 6-benzilaminopurina adicionados à diversos meios de cultura na

multiplicação *in vitro* de amoreira-preta (*Rubus sp.*) cultivares Tupy e Brazos, obtendo melhores resultados de massa fresca em meio MS, com aumento significativo da massa fresca no decorrer do tempo sendo que o potencial osmótico do meio foi maior. Com isso, as plantas nesse meio conseguiram absorver mais água para os seus

tecidos e, portanto, tiveram maior massa fresca. Kadota et al. (2001) obtiveram maior massa fresca em espécies medicinais em meio MS sem reguladores de crescimento. Além disso, foi observado maior número de folhas em meio sem BAP, indicando provavelmente maior massa fresca.

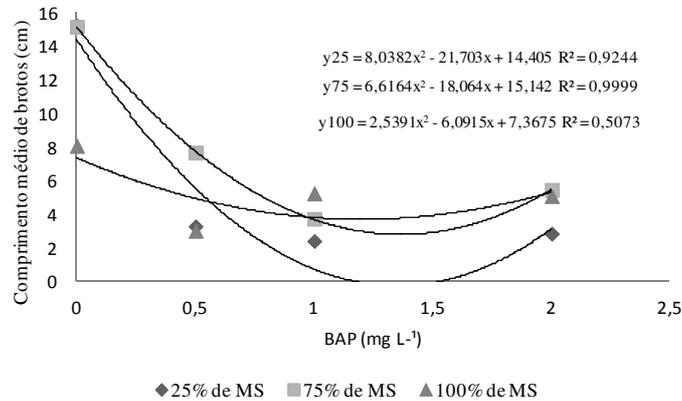


Figura 3. Comprimento médio de brotos em diferentes concentrações de BAP e de sais do meio MS em plântulas de *Physalis peruviana* L.

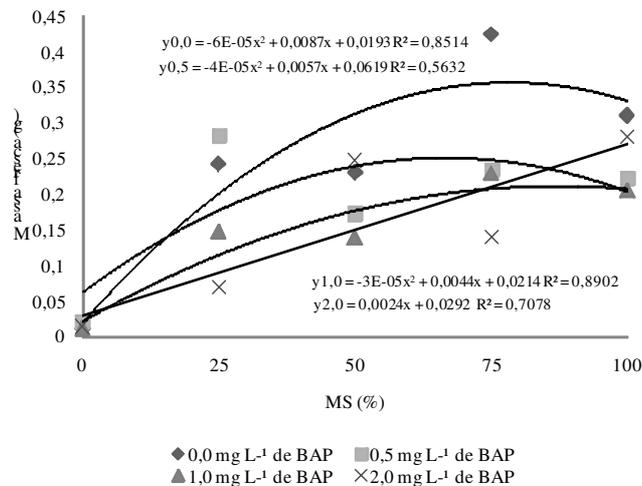


Figura 4. Massa fresca de plântulas de *Physalis peruviana* L. em diferentes concentrações de BAP e de sais do meio MS.

CONCLUSÃO

A adição da citocinina 6-benzilaminopurina (1,3 mg L⁻¹) no meio MS com 50% dos sais foi

eficiente para a multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana* L.

ABSTRACT: The *Physalis peruviana* L. belongs to the Solanaceae family, represents a great economic potential, and classified as fine fruit, like blueberry, raspberry, cherry, blackberry and pitaya. Although consumption has restricted because of high added value, due of limited production, the management of procurement, the requirement in manpower, transport and care of storage. The aim of this work the suitability of protocol for shoot induction *in vitro*. The plant material were stem segments (about 2 cm, containing two yolks) *Physalis peruviana* L., from of seed germination in

vitro. The culture medium base used was MS in following concentrations: 0, 25, 50, 75 and 100%, combined with different concentrations of BAP: 0, 0.5, 1.0 and 2.0 mg L⁻¹. The addition of the cytokinin 6-benzylaminopurine (1.3 mg L⁻¹) in MS medium with 50% of salts was efficient *in vitro* multiplication of *Physalis peruviana* L.

KEYWORDS: Tissue culture. Propagation. Fruticulture. Micropropagation.

REFERÊNCIAS

- CASTRO, A.; RODRIGUEZ, L.; VARGAS, E. Dry gooseberry (*Physalis peruviana* L.) with pretreatment of osmotic dehydration. **Vitae - Revista de la Facultad de Química Farmacéutica**, Medellín, v. 15, n. 2, p. 226-231, 2008.
- CHAVES, A. C.; SCHUCH, M. W.; ERIG, A. C. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana* (L). **Ciência & Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 6, p. 1281-1287, 2005.
- CHEE, R.; POLL, R. M. Morphogenic responses to propaguls trimming spectral irradiance, and photoperiod of grapevine shoots recultured *in vitro*. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 114, n. 2, p. 330-354, 1989.
- CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, Imprensa Nacional, v. 2, 1984.
- COSTA, F. H. S.; PEREIRA, J. E. S.; PEREIRA, M. M. A.; OLIVEIRA, J. P. Efeito da interação entre carvão ativado e n⁶-benzilaminopurina na propagação *in vitro* de bananeira, cv. Grand naine (AAA). **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 2, p. 280-283, 2006.
- DINIZ, J. D. N. ALMEIDA, J. L.; TEIXEIRA, A. L. A.; GOMES, E. S.; HERNANDEZ, F. F. F. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 4, p. 934-938, 2003.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR 4.3**: sistema de análises de variância para dados balanceados: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos. Lavras: UFLA/DEX, 2000. Software.
- GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA/CBAB, 1998. p. 183-260.
- KADOTA, M.; IMIZU, K.; HIRANO, T. Double-phase *in vitro* culture using sorbitol increases shoot proliferation and reduces hyperhydricity in Japanese pear. **Scientia Horticulture**, v. 89, p. 271-215, 2001.
- LEONTIEV-ORLOV, O.; ROGALSKI, M.; MOSSI, A. J.; CANSIAN, R. L. 6-benzilaminopurina (BAP) na multiplicação *in vitro* de prunáceas (*Prunus* sp.). **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 6, n. 42, p. 42-46, 2000.
- MOK, M. C.; MARTIN, R. C.; MOK, D. W. S. Cytokinins: biosynthesis, metabolism and perception. **In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant**, Columbia, v. 36, p. 102-107, 2000.
- MOURA, T. L.; ALMEIDA, W. A. B.; MENDES, B. M. J.; MOURÃO-FILHO, F. A. A. Organogênese *in vitro* de citrus em função de concentrações de BAP e seccionamento do explante. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 240-245, 2001.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for a rapid growth and bioassays with tobacco tissues cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, p. 473-479, 1962.

Diferente concentrações...

RODRIGUES, F. A. et al.

SCHWARTZ, E.; RONCATTO, G.; FORTES, G. R. L. Multiplicação *in vitro* do porta-enxerto de macieira cv. Marubakaido utilizando 6-Benzilaminopurina e Ácido Naftalenoacético. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 1, p. 77-79, 2000.

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

VILLA, F.; PASQUAL, M.; SOUZA, A. G; VILELA, X. M. S. Meios de cultura e reguladores de crescimento na multiplicação *in vitro* de amoreira-preta. **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 11, n. 2, p. 109-117, 2010.

WHISTLER, W. A. Lista de verificação da flora da erva daninha do polynesia ocidental. **Papel Técnico** n°.194, Commission Pacífico Sul, Noumea, Nova Caledônia, 1988.