



# INTRODUÇÃO *IN VITRO*, MICROPROPAGAÇÃO E PRÉ- ACLIMATIZAÇÃO DE *PHYSALIS PERUVIANA L* IN VITRO INTRODUCTION, MICROPROPAGATION AND PRE- ACCLIMATIZATION OF *PHYSALIS PERUVIANA L*

ROBERSON DIBAX<sup>1</sup>; PEDRO JUNIOR BARTOSKI<sup>2</sup>; MATHEUS DOS SANTOS MACHADO<sup>2</sup>; JEAN CARLOS ZOCHE<sup>3</sup>; MAYCON RODRIGO PETRECHEN<sup>4</sup>; LUIZ EDUARDO BABARESCO<sup>4</sup>

<sup>1</sup> ENG. AGRÔNOMO PROFESSOR PESQUISADOR DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL, CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL. RODOVIA BR 158 - KM 405, CEP 85301-970. E MAIL: [ROBERSON.DIBAX@UFFS.EDU.BR](mailto:ROBERSON.DIBAX@UFFS.EDU.BR) APRESENTADOR DO TRABALHO

<sup>2</sup> ACADÊMICOS DO CURSO DE AGRONOMIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL, CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL.

<sup>3</sup> ENG. AGRÔNOMO DOUTORANDO EM PRODUÇÃO VEGETAL PELO PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO OESTE - UNICENTRO.

<sup>4</sup> LICENCIADOS EM BIOLOGIA PELA UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL, MESTRANDOS DA UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA

## INTRODUÇÃO

O gênero *Physalis* apresenta cerca de 90 espécies amplamente distribuídas por todo o continente americano sendo que, no Brasil são encontradas oito espécies distribuídas principalmente na Amazônia e Nordeste (STEHMANN et. al, 2015). De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a produção de physalis no Paraná em 2023 foi de 5.200 toneladas, o que representa 44% da produção nacional total de 11.800 toneladas.

O cultivo *in vitro* de *Physalis Peruviana L.* teve início na última década e tornou-se uma alternativa de produção de mudas devido ao fato de que a propagação por sementes não representa uma opção viável devido à alta variabilidade genética (MASCARENHAS et. al, 2019). Trabalhos que tratam do cultivo *in vitro* de *Physalis Peruviana L.* são escassos na literatura e podemos destacar os que foram desenvolvidos com o objetivo de propor protocolos de produção *in vitro* como os descritos por (CHAVES et. al. 2005; RODRIGUES et. al. 2013) os quais compararam diferentes diluições do meio de cultura MS no desenvolvimento *in vitro* das mudas. Em outro trabalho, Mascarenhas et al 2019 compararam o efeito da citocinina BAP na organogênese direta de brotações para a espécie e obtiveram sucesso na obtenção de plantas a partir de genótipos selecionados da espécie.

Devido a crescente demanda no mercado global, a micropropagação oferece vantagens significativas, como rápida multiplicação de plantas geneticamente idênticas, produção de mudas livres de patógenos e escalabilidade na produção. Apesar dos desafios técnicos e custos associados, a micropropagação de *Physalis Peruviana L.* promete impulsionar a produção e o desenvolvimento sustentável dessa cultura, contribuindo para a segurança alimentar e o fornecimento de frutas frescas

de alta qualidade (EMBRAPA, 2012). Diante deste contexto, o presente trabalho teve como objetivo a obtenção de um protocolo de introdução *in vitro* de *Physalis peruviana* L. bem como a multiplicação *in vitro*, o enraizamento e pré-aclimatização das plantas. As informações aqui presentes poderão ser utilizadas em trabalhos de melhoramento para a espécie mediante o uso da biotecnologia vegetal e suas técnicas.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O presente trabalho foi desenvolvido nos laboratórios didáticos do campus da Universidade Federal da Fronteira Sul, em Laranjeiras do Sul, Paraná. Todas as culturas *in vitro* foram mantidas em câmara de germinação BOD, sob luz fluorescente branca fria (densidade de fluxo fotossintético de 40  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ), com fotoperíodo de 16 horas e temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ . Tubos de ensaio (14 x 140 mm, capacidade de 16 ml) contendo 5 ml de meio de cultura foram utilizados, vedados com filme PVC. Todos os meios de cultura tiveram o pH ajustado para 5,8 e foram autoclavados a  $120^\circ\text{C}$  por 20 minutos.

### **Desinfestação das Sementes e Introdução in Vitro de *Physalis peruviana* L.**

Para a desinfestação das sementes, foi realizado um pré-tratamento em etanol 70% por 2 minutos, seguido de tratamento com hipoclorito de sódio (1%, 2%, 4% e 6%) por 20 minutos, e enxágue triplo com água deionizada autoclavada. Todos os procedimentos foram realizados em capela de fluxo laminar. Após a desinfestação, as sementes foram inoculadas em tubos de ensaio contendo meio de cultura MS isento de reguladores. Foram utilizados 25 tubos por tratamento, com 5 repetições de 5 tubos cada. A avaliação foi realizada após 28 dias de acordo com as porcentagens de germinação e contaminação.

### **Micropropagação, Enraizamento e Pré-aclimatização**

A micropropagação das plantas de *Physalis peruviana* introduzidas *in vitro* foi realizada a cada 28 dias em meio de cultura MS sem reguladores de crescimento. As microestacas foram preparadas mediante subdivisões dos caules, com tamanho médio de 1 cm contendo uma gema lateral por segmento. Este procedimento foi repetido por 4 ciclos de subcultivos. Para o enraizamento, as plântulas resultantes da etapa anterior e padronizadas com altura de 3 cm de altura foram cultivadas por mais 28 dias em meio de cultura MS suplementado com  $1,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de AIB. Na pré-aclimatização, 50 plantas de 10 cm, enraizadas *in vitro*, foram retiradas dos frascos, lavadas para remover resíduos de meio de cultura, e plantadas em tubetes esterilizados com etanol 70% contendo substrato Plantmax®. As plantas foram mantidas sob iluminação natural e temperatura média de  $18^\circ\text{C}$ , sendo regadas duas vezes por semana, no início e no final da semana.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

**TABELA 1:** Efeito do hipoclorito de sódio na porcentagem de germinação e contaminação em sementes de *Physalis peruviana* l isoladas em meio de cultura ms (MURASHIGE; SKOOG, 1962), após 28 dias de cultivo.

Concentrações de HIPOCLORITO (%)	germinação (%)	contaminação (%)
(CONTROLE) 0	12 a	88 d
1	32 a b	68 c
2	53,33 b	46,70 b
4	84 c	16 a
6	87,50 c	5 a
CV	23,34	18,80

As médias seguidas das mesmas letras na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey( $p < 0,05$ ).

A porcentagem de germinação das sementes de *Physalis peruviana* L. foi dependente da concentração de hipoclorito de sódio. Os melhores resultados foram obtidos com 4% e 6% de hipoclorito de sódio, apresentando 84% e 87,5% de sementes germinadas, respectivamente, sem diferença estatística entre esses tratamentos. Os piores índices de germinação foram observados no controle e no tratamento com 1% de hipoclorito de sódio, com 12% e 32% de germinação, respectivamente, também sem diferença estatística entre si.

A contaminação das sementes também variou conforme a concentração de hipoclorito de sódio, sendo mais alta no controle (88%) e no tratamento com 1% de hipoclorito de sódio (68%), predominantemente por fungos.

A utilização de hipoclorito de sódio é uma técnica importante de baixo custo para desinfecção de materiais, uma vez que, o potencial microbiológico no ambientes reduzem as chances de propagação eficiente (BOŠNJAK MIHOVILOVIĆ et al., 2024). Segundo Chaves et al., (2005), o tratamento contendo álcool 70% por 30 segundos e 2,5% de hipoclorito de sódio por 3 minutos proporcionou o maior índice de germinação para sementes da mesma espécie e a taxa de germinação foi de 22,90%. Comparado com os resultados obtidos neste estudo, as concentrações de 2 e 4% de hipoclorito de sódio, tiveram uma taxa de germinação de 53,33 e 84% utilizando álcool 70 % por 5 minutos e em seguida o tratamento em solução de hipoclorito de sódio, com a concentração de 2 a 4%.

A germinação é processo fisiológico de balanço hormonal, comandado pelo genótipo, em resposta ao ambiente. Para *Physalis peruviana* L. o potencial germinativo é reduzido posterior a maturidade fisiológica da planta, indicando que o processo de perda de água e a maturação das sementes também caracteriza perda do potencial germinativo (CARVALHO et al., 2014). A perda do potencial germinativo pode ocorrer pela presença de substâncias inibidoras da germinação, meio de defesa usado pela semente em condições desfavoráveis a germinação. Neste contexto, o hipoclorito de sódio pode atuar como agente oxidativo externo, afetando as propriedades dos componentes inibidores (KAUR; GUPTA; BORAH, 2024).

Portanto, temos duas hipóteses para o aumento do potencial germinativo em sementes micropropagadas de *Physalis peruviana* em resposta a maior dose de hipoclorito de sódio (6%). A primeira está relacionada com o elevado potencial de desinfecção do hipoclorito, que, em comparação com os demais métodos, é caracterizado como o melhor, permitindo que os solutos degradados sejam aproveitados pelos primórdios radiculares das sementes e não pelos microrganismos (CHAVES; SCHUCH; ERIG, 2005). A segunda hipótese é que o hipoclorito de sódio, em concentrações mais altas, modifica o ambiente, resultando em maior interação com as sementes e causando modificações severas.

## CONCLUSÕES

Conclui-se que as concentrações de 4 e 6% de hipoclorito de sódio, são adequadas para a desinfestação das sementes e introdução *in vitro* de *Physalis peruviana* L; o meio de cultura isento de reguladores de crescimento permitiu a multiplicação de plântulas de *Physalis peruviana* L; o meio de cultura MS contendo mg.L-1 de AIB e o substrato Plantmax® proporcionou a aclimatização das plantas.

Recomenda-se novos estudos de otimização de protocolo de produção *in vitro* de mudas de *Physalis peruviana* L. bem como o estabelecimento de um banco de germoplasma *in vitro* para auxiliar os trabalhos de melhoramento da espécie via biotecnologia.

## REFERÊNCIAS

BOŠNJAK MIHOVILOVIĆ, A.; KEREŠA, S.; LAZAREVIĆ, B.; TOPOLOVEC PINTARIĆ, S.; MARTINKO, K.; MARKOVIĆ, Z.; TURKALJ, K.; HABUŠ JERČIĆ, I. The Use of Sodium Hypochlorite and Plant Preservative Mixture Significantly Reduces Seed-Borne Pathogen Contamination When Establishing In Vitro Cultures of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seeds. **Agriculture**, v. 14, n. 4, p. 556-568, abr. 2024.

CARVALHO, T. C. D., D'ANGELO, J. W. D. O., SCARIOT, G. N., SAES JÚNIOR, L. A., & CUQUEL, F. L. Germinação de sementes de *Physalis angulata* L.: estágio de maturação do cálice e forma de armazenamento. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 44, n. 4, p. 357-362, dez. 2014.

CHAVES, A. da C.; SCHUCH, M. W.; ERIG, A. C. Estabelecimento e multiplicação in vitro de *Physalis peruviana* L. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 6, p. 1281-1287, 2005.

EMBRAPA. Aspectos técnicos da cultura da fisalis, **Informe Agropecuário**, Belo horizonte, v.33, n.268, p.69-83. 2012. Disponível em:  
<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/220107/1/Aspectos-tecnicos-dacultura-da-fisalis.pdf>

KAUR, J.; GUPTA, P.; BORAH, A. **Physicochemical and Morphological Properties of Litchi Seed Starch Oxidized by Different Levels of Sodium Hypochlorite**. *Starch - Stärke*, v. 1, n. 1, p. 2300119 - 2300127, 2024

MASCARENHAS, L. M. S.; SANTANA, J. R. F. de; BRITO, A. L. Micropropagation of *Physalis peruviana* L. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 49, n. 1, p. e55603, 2019.

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

RUFATO, A. D. R.; RUFATO, L.; LIMA, C. S. M.; MUNIZ, J. A cultura da physalis. In: KRETZSCHMAR, A. A.; RUFATO, L.; PELIZZA, T. R. (Org). **Pequenas frutas**. Florianópolis: UDESC, 2013.

STEHMANN, J. R., MENTZ, L. A., AGRA, M. F., VIGNOLI-SILVA, M., GIACOMIN, L., RODRIGUES, I. M. C. **Solanaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB14696>>. Acesso em: 05 março. 2024.