

## Estabelecimento *in vitro* e crescimento inicial de *Physalis angulata* (Solanaceae)

Lenaldo Muniz de Oliveira<sup>1\*</sup>, Anderson de Carvalho Silva<sup>1</sup>, Danilo Marcelo Santos Pereira<sup>1</sup>, Angélica Maria Lucchese<sup>2</sup> & José Raniere Ferreira de Santana<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ciências Biológicas e <sup>2</sup> Departamento de Ciências Exatas, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brasil.

**Resumo** – O objetivo deste estudo foi estabelecer *Physalis angulata in vitro* e identificar o meio de cultura mais adequado para a germinação e crescimento inicial da espécie. Nós avaliamos a germinação, o estabelecimento *in vitro* e o crescimento inicial de suas plântulas em diferentes meios de cultura (MS, WPM e ½MS). Primeiro, foram avaliados porcentagem, tempo médio e índice de velocidade de germinação 15 dias após a inoculação das sementes. Em seguida, foram avaliados número médio de raízes e folhas, comprimento da parte aérea e da raiz, e massa seca da parte aérea, foliar e da raiz de plântulas após 15, 30 e 45 dias da inoculação das sementes. A germinação iniciou-se quatro dias após a inoculação e não foi afetada pelos meios de cultura. Por outro lado, foram observadas diferenças significativas entre os tipos de meio de cultura para a maioria dos parâmetros de crescimento avaliados. Os meios de cultura WPM e ½MS foram mais adequados para o desenvolvimento inicial das plântulas, sendo recomendados para as demais etapas da micropropagação da espécie.

**Palavras-chave adicionais:** Camapu, micropropagação, meio de cultura, planta medicinal.

**Abstract** (*In vitro* establishment and initial growth of *Physalis angulata* (Solanaceae)) – The aim of this study was to establish *Physalis angulata in vitro* and identify the best culture medium for germination and initial growth of the species. We assessed the germination, *in vitro* establishment and initial growth of its seedlings in different culture media (MS, WPM and ½MS). First, we evaluated the percentage, average time and speed index of germination 15 days after seed inoculation. Then, we evaluated the average number of roots and leaves, length of shoots and roots, and dry mass of shoots, leaves and roots of seedlings 15, 30 and 45 days after seed inoculation. Germination started four days after inoculation and the choice of culture media did not affect germination. However, significant differences among culture media were found for most growth parameters evaluated. The culture media WPM and ½MS provide better initial growth of seedlings and these are recommended for the other stages of micropropagation of this species.

**Additional key words:** Camapu, micropropagation, culture medium, medicinal plant.

*Physalis angulata* L. (Solanaceae) é um pequeno arbusto anual de ampla ocorrência nos Estados Unidos, Americas Central e do Sul e em regiões tropicais no velho mundo (Soares et al. 2009). No Brasil, a espécie é comumente conhecida como camapu, mullaca ou Juá de capote, sendo muito utilizada na medicina popular para o tratamento de doenças como reumatismo crônico, distúrbios renais e do fígado, como sedativo, antifebril, antivomitivo e dermatoses (Souza & Amorim 2009). Essa prática se deve a presença de derivados esteroidais produzidos e/ou armazenados nas raízes, caules e folhas. Os principais metabólitos produzidos no gênero são conhecidos como fisalinas, esteroides com diversas atividades comprovadas, como imunomoduladora, antimicrobiana, antitumoral, moluscicida, antiparasitária, antiviral e antineoplásica (Tomassini et al. 2000; Lopes et al. 2006).

Quimicamente, as fisalinas são denominadas lactonas sesquiterpênicas esteroidais e são caracterizadas como moléculas de estruturas bastante complexas. Pesquisas realizadas pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) no Rio de Janeiro e em Salvador, têm demonstrado o grande potencial das fisalinas para a produção de anti-inflamatórios com ação

até 30 vezes mais potentes que os conhecidos (Tomassini et al. 2000). Apesar do grande potencial dessas substâncias para a indústria farmacêutica, dificuldades para sua produção comercial persistem principalmente devido ao baixo teor em que são encontradas nas plantas. Além disso, as espécies de *Physalis* apresentam polinização mista, com dominância da polinização cruzada, o que leva à produção de descendentes com elevada variação na produção de metabólitos secundários (Gonzales et al. 2008).

Técnicas de cultura de tecidos, como a micropropagação, têm sido consideradas ferramentas promissoras, tanto para a propagação em larga escala de variedades melhoradas, com maior teor dos compostos bioativos, quanto para a produção *in vitro* de compostos com alto valor agregado. Como as fisalinas são encontradas em baixas concentrações nos órgãos vegetais, a produção *in vitro*, via cultivo de células em suspensão, poderá ser uma alternativa viável para contornar o problema da baixa produtividade, como tem sido verificada para outras substâncias de interesse farmacológico (Zhang et al. 2002).

As várias etapas da micropropagação exigem diferentes condições nutricionais e um balanço hormonal adequado. Os meios de cultura se baseiam nas exigências nutricionais das plantas, sendo adequados às necessidades de cada espécie/genótipo e

\*Autor para correspondência: lenaldo.uefs@gmail.com

Editor responsável: Alessandro Rapini

Submetido: 15 abr. 2013; aceito: 10 jul. 2013

Publicação inicial: 30 dez. 2013; versão final: 2 maio 2014

fase do cultivo *in vitro* (Santos-Serejo et al. 2006). Meios de cultura inadequados podem causar sintomas de deficiência nutricional, distúrbios fisiológicos e até a morte dos propágulos (Monteiro et al. 2000). Existe uma grande variedade de meios de cultura adaptados a diversas espécies, diferindo sobretudo na constituição e concentração de nutrientes. Os meios comumente usados são o MS (Murashige & Skoog 1962) e o WPM (Woody Plant Medium) (Lloyd & Mccown 1981). Na tentativa de favorecer o crescimento *in vitro* dos tecidos vegetais, diversos estudos têm proposto a redução na concentração de macro e/ou micronutrientes que compõem esses meios de cultura, suprimindo melhor as exigências nutricionais de cada espécie, bem como possibilitando um melhor ajuste osmótico, sobretudo quando o cultivo se inicia a partir da sementes (Villa et al. 2009). Assim, objetivou-se nesta pesquisa a adequação de protocolos de estabelecimento e identificação do melhor meio de cultura para a germinação e crescimento inicial de *Physalis angulata*.

## MATERIAIS E MÉTODOS

**Estabelecimento *in vitro*.** Para o estabelecimento *in vitro*, foram coletadas sementes de frutos maduros, obtidos de plantas cultivadas na Unidade Experimental Horto Florestal da UEFS. As sementes foram lavadas em água corrente e colocadas para secar sobre papel toalha a temperatura ambiente. Para desinfestação, as sementes foram lavadas em água destilada, seguida da imersão em álcool 70% por 30 seg. e em solução de hipoclorito de sódio (NaOCl a 2,5% de cloro ativo) por 3 min. e, finalmente, lavadas quatro vezes com água destilada autoclavada, segundo a metodologia descrita por Vasconcellos et al. (2003), sendo todas as etapas realizadas em câmara de fluxo laminar.

Após a desinfestação, as sementes foram inoculadas em meio de cultura solidificado com 0,7% de ágar e suplementado com 3% de sacarose, com o pH do meio corrigido para  $5,7 \pm 0,1$  antes da autoclavagem. Avaliou-se o efeito de três tipos de meio de cultura: WPM (Lloyd & Mccown 1981), MS (Murashige & Skoog 1962) e  $\frac{1}{2}$ MS (com metade da concentração de sais). As sementes foram inoculadas em tubos de ensaios ( $12 \times 100$  mm), contendo 10 mL de meio de cultura e mantidas por 15 d em sala de crescimento a temperatura de  $25 \pm 3^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 16 h e radiação fotossintética ativa de  $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . No dia seguinte à inoculação, iniciou-se a avaliação da germinação, conduzida durante 15 d. Avaliou-se a porcentagem de germinação (G), tempo médio de germinação (TMG) e o índice de velocidade de germinação (IVG).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições por tratamento, sendo cada repetição constituída de 25 tubos com uma semente cada, totalizando 100 sementes por

tratamento. A porcentagem de germinação foi calculada pela fórmula proposta nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL 1992); o tempo médio de germinação foi obtido através de contagens diárias das sementes germinadas até o 15º dia e calculado através da metodologia sugerida por Labouriau (1983), sendo os resultados expressos em dias; o índice de velocidade de germinação foi calculado pelo somatório do número de sementes germinadas a cada dia, dividido pelo número de dias decorridos entre a semeadura e a germinação, de acordo com a fórmula de Maguire (1962).

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o software SISVAR, versão 5.3 (Ferreira 2011).

**Crescimento inicial.** Para avaliar o efeito do meio de cultura sobre o crescimento inicial da espécie, um novo experimento foi realizado. As sementes foram desinfestadas e inoculadas nos três diferentes meios de cultura (WPM, MS e  $\frac{1}{2}$ MS), conforme os procedimentos e as condições descritos acima. Após 15, 30 e 45 dias de cultivo *in vitro* quantificou-se o número médio de raízes (NR) e de folhas (NF), comprimento da parte aérea (CPA) e da maior raiz (CR), e massa seca da parte aérea (MSPA), foliar (MSF) e da raiz (MSR) das plântulas.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições, sendo cada repetição constituída de cinco tubos, com uma planta por tubo, totalizando 20 plântulas por tratamento para cada período de avaliação. Os resultados foram, então, submetidos às mesmas análises do experimento anterior.

## RESULTADOS

**Estabelecimento *in vitro*.** O protocolo para assepsia utilizado foi eficiente, não havendo registro de contaminação nas unidades experimentais. De modo semelhante, não foi verificada oxidação dos meios de cultura e eles se mantiveram translúcidos em todos os tratamentos. A germinação iniciou-se quatro dias após a inoculação *in vitro*, sendo detectadas diferenças significativas entre os resultados obtidos apenas para o tempo médio de germinação (TMG) nos diferentes meios de cultura. Contudo, não foram detectadas diferenças significativas para a porcentagem de germinação (G) e índice de velocidade de germinação (IVG) (Tabela 1).

**Crescimento inicial.** A avaliação das plântulas após 15 dias de cultivo nos diferentes meios de cultura demonstrou não haver diferenças significativas entre os resultados obtidos para as variáveis número de raízes por brotação (NR), massa seca de folhas (MSF) e de raízes (MSR) (Tabela 2). Por outro lado, para o número

**Tabela 1.** Porcentagem de germinação, tempo médio de germinação (TMG) e índice de velocidade de germinação (IVG) das sementes de *Physalis angulata* inoculadas em diferentes meios de cultura. CV- coeficiente de variação. Feira de Santana, Bahia, 2013.

Meio de cultura	Germinação (%)	TMG (dias)	IVG
MS	80 <sup>a</sup>	2,7 <sup>a</sup>	7,0 <sup>a</sup>
½MS	82 <sup>a</sup>	3,1 <sup>ab</sup>	7,8 <sup>a</sup>
WPM	89 <sup>a</sup>	3,5 <sup>b</sup>	7,7 <sup>a</sup>
CV(%)	8,16	10,68	10,16

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

de folhas por planta (NF) e comprimento da maior raiz (CR) obteve-se maior valor para as plântulas cultivadas em meio WPM (Tabela 2), enquanto que, para o comprimento da parte aérea (CPA) e massa seca da parte aérea (MSPA), os maiores valores foram obtidos em plantas cultivadas em meio WPM e ½MS, não havendo diferenças significativas entre os mesmos (Tabela 2).

Na avaliação realizada após 30 dias de cultivo, verificou-se que o número de raízes e de folhas por brotação foi maior nas plântulas cultivadas em meio ½MS, assim como o comprimento e a massa seca da parte aérea (Tabela 3). Já para comprimento de raiz, os melhores resultados foram encontrados nas plântulas cultivadas em meio MS.

Após 45 dias de cultivo, verificou-se que as variáveis número de raízes, comprimento e massa seca da parte aérea atingiram maiores valores em plantas cultivadas nos meios WPM e ½MS. O número de folhas por brotação variou positivamente para as plântulas cultivadas em meio WPM. Já para a massa seca de folhas e de raízes, diferenças significativas não foram detectadas (Tabela 4).

## DISCUSSÃO

**Estabelecimento *in vitro*.** Os resultados demonstram que as variações nos níveis salinos do meio de cultura, em função da concentração de minerais nos diferentes meios, não comprometeram a

germinabilidade das sementes de *Physalis angulata*. Eles apontam ainda para a adaptabilidade da espécie a ambientes salinos, tendo em vista que a taxa de germinação e o IVG não foram afetados pelas diferenças nas concentrações salinas dos meios e que, apesar dos diferentes meios de cultura terem afetado o TMG, estes não prejudicaram a qualidade das plântulas obtidas. A taxa de germinação parece ser bem variável entre as espécies de *Physalis*. Chaves et al. (2005) trabalhando com a espécie *Physalis peruviana* L. obteve taxa de germinação das sementes abaixo dos 30% quando colocadas em meio MS<sup>3/4</sup> utilizando diferentes métodos de desinfestação. Souza et al. (2011), trabalhando com estresse salino de sementes de *Physalis angulata* verificaram uma significativa resistência à salinidade dessa espécie, com IVG para as sementes osmocondicionadas semelhante ao obtido em sementes não osmocondicionadas, até a concentração salina com CE 10 dS m<sup>-1</sup>. Contudo, trabalhos com outras espécies têm demonstrado que uma adequada embebição das sementes é dependente da concentração de sais e outros compostos osmoticamente ativos no meio.

**Crescimento inicial.** Para Drapeu et al. (1986), a composição do meio de cultura, formada por macro e micronutrientes, além de compostos orgânicos, apresenta grande influência no crescimento das plantas *in vitro*. Portanto, ao se iniciar um processo biotecnológico com células vegetais, deve-se, em primeira instância, estabelecer o meio adequado para o seu cultivo.

O tipo de formulação mineral mais adequado para o cultivo de diversas espécies vegetais tem variado bastante, mesmo entre espécies com hábitos semelhantes. O meio de cultura MS e suas variações destacam-se como sendo os mais utilizados em cultura de tecidos vegetais para a maioria das espécies herbáceas (Bertozzo & Machado 2010). Já o meio WPM, que apresenta 25% das concentrações de íons nitrato e amônia do meio em relação ao meio MS, tem sido empregado com êxito para a maioria das espécies lenhosas.

Ledo et al. (2007), pesquisando a ação de meios sobre a cultura da mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes), obtiveram melhor desenvolvimento das

**Tabela 2.** Número médio de raízes (NR), número médio de folhas (NF), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca foliar (MSF) e massa seca da raiz (MSR) de *Physalis angulata* após 15 dias de cultivo *in vitro* em diferentes meios de cultura. CV- coeficiente de variação. Feira de Santana, Bahia, 2013.

Meio de Cultura	NR	NF	CPA (cm)	CR (cm)	MSPA (g)	MSF (g)	MSR (g)
MS	9,12 <sup>a</sup>	4,31 <sup>b</sup>	3,82 <sup>b</sup>	6,83 <sup>b</sup>	0,0016 <sup>b</sup>	0,0049 <sup>a</sup>	0,0019 <sup>a</sup>
½MS	11,25 <sup>a</sup>	4,37 <sup>b</sup>	6,56 <sup>a</sup>	6,25 <sup>b</sup>	0,0040 <sup>a</sup>	0,0086 <sup>a</sup>	0,0011 <sup>a</sup>
WPM	12,12 <sup>a</sup>	5,00 <sup>a</sup>	6,88 <sup>a</sup>	7,48 <sup>a</sup>	0,0047 <sup>a</sup>	0,0066 <sup>a</sup>	0,0020 <sup>a</sup>
CV (%)	33,15	12,73	13,10	13,09	20,41	24,18	29,58

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

**Tabela 3.** Número médio de raízes (NR), número médio de folhas (NF), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca foliar (MSF) e massa seca da raiz (MSR) de *Physallis angulata* após 30 dias de cultivo *in vitro* em diferentes meios de cultura. CV- coeficiente de variação. Feira de Santana, Bahia, 2013.

Meio de Cultura	NR	NF	CPA (cm)	CR (cm)	MSPA (g)	MSF (g)	MSR (g)
MS	7,69 <sup>b</sup>	4,94 <sup>b</sup>	5,00 <sup>b</sup>	11,0 <sup>a</sup>	0,003 <sup>b</sup>	0,008 <sup>b</sup>	0,002 <sup>a</sup>
½MS	12,3 <sup>a</sup>	7,36 <sup>a</sup>	12,4 <sup>a</sup>	7,15 <sup>b</sup>	0,016 <sup>a</sup>	0,016 <sup>a</sup>	0,002 <sup>a</sup>
WPM	7,69 <sup>b</sup>	4,88 <sup>b</sup>	6,85 <sup>b</sup>	7,94 <sup>b</sup>	0,005 <sup>b</sup>	0,005 <sup>b</sup>	0,001 <sup>a</sup>
CV (%)	33,88	21,53	15,88	22,50	18,54	14,92	31,29

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

**Tabela 4.** Número médio de raízes (NR), número médio de folhas (NF), comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca foliar (MSF) e massa seca da raiz (MSR) de *Physallis angulata* após 45 dias de cultivo *in vitro* em diferentes meios de cultura. CV- coeficiente de variação. Feira de Santana, Bahia, 2013.

Meio de Cultura	NR	NF	CPA (cm)	CR (cm)	MSPA (g)	MSF (g)	MSR (g)
MS	6,44 <sup>b</sup>	7,63 <sup>b</sup>	5,35 <sup>c</sup>	11,7 <sup>a</sup>	0,007 <sup>b</sup>	0,014 <sup>a</sup>	0,002 <sup>a</sup>
½MS	10,1 <sup>a</sup>	7,49 <sup>b</sup>	12,3 <sup>b</sup>	8,57 <sup>b</sup>	0,020 <sup>a</sup>	0,016 <sup>a</sup>	0,001 <sup>a</sup>
WPM	11,6 <sup>a</sup>	9,06 <sup>a</sup>	13,9 <sup>a</sup>	13,1 <sup>a</sup>	0,027 <sup>a</sup>	0,018 <sup>a</sup>	0,004 <sup>a</sup>
CV (%)	30,40	18,91	19,82	39,69	42,12	14,58	74,81

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

raízes nas plântulas cultivadas em meio ½MS. Já Leitzke et al. (2009) identificaram melhor enraizamento em plântulas de amoreira-preta (*Rubus fruticosus* L.) quando cultivada em meio WPM. Para o abacaxizeiro [*Ananas comosus* (L.) Merr.], valores equivalentes de massa seca das raízes foram registrados em plântulas cultivadas em meio MS e ½MS (Tamaki et al. 2007). Por outro lado, a menta (*Menta × piperita* L.) desenvolveu-se melhor quando cultivada em meio MS (Tonietto et al. 2008). O mesmo foi registrado para *Orthophytum mucugense* Wand. & A.A.Conc., na qual plântulas cultivadas em meios MS apresentaram maiores ganhos de massa seca (Bellintani et al. 2007). Esses resultados reforçam a idéia de que as respostas de crescimento em função da concentração de sais no meio de cultura são altamente relacionadas às exigências nutricionais, típicas de cada espécie e fase do cultivo.

A análise de crescimento de *Physallis angulata* ao longo dos 45 dias de cultivo *in vitro* demonstrou que maiores taxas de crescimento podem ser obtidas com a utilização do meio de cultura WPM e ½MS, sobretudo em relação ao comprimento da parte aérea e acúmulo de massa seca na parte aérea (Tabelas 2–4). Essas variáveis são parâmetros importantes para o cultivo *in vitro*, pois permitem a obtenção de mais explantes para o próximo ciclo de micropropagação e, conseqüentemente, maior taxa de multiplicação. Assim, a escolha do melhor meio de cultura é essencial no processo de micropropagação, visto que, além de fornecer os nutrientes necessários, possibilita melhor crescimento das plântulas *in vitro* (Caldas et al. 1998).

Rodrigues et al. (2013), avaliando diferentes concentrações de sais do meio MS (0, 25, 50, 75 e

100%) no cultivo *in vitro* de *Physallis peruviana*, identificou o meio com 50% dos sais como o mais eficiente para a multiplicação *in vitro* da espécie, utilizando suplementação de 1,3 mg L<sup>-1</sup> de 6-benzilaminopurina. Por outro lado, quando o meio não foi suplementado com esse regulador de crescimento, o meio composto por 75% dos sais MS promoveu as melhores respostas. Ambas as respostas corroboram os resultados obtidos neste trabalho com *Physallis angulata*, com as maiores taxas de crescimento em meios menos concentrados.

Em suma, os resultados obtidos aqui demonstram que os diferentes meios de cultura testados não afetam os parâmetros de germinação *in vitro* das sementes de *Physallis angulata* e que os meios de cultura com menor concentração salina (WPM e ½MS) permitem melhor desenvolvimento inicial das plântulas e devem ser utilizados nas demais etapas da micropropagação dessa espécie.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o financiamento da FAPESB, CAPES e CNPq.

#### REFERÊNCIAS

- Bellintani, C.M.; Lima, C.C.; Brito, L.A.; Santana, F.R.J. & Dornelles, C.L.A. 2007. Estabelecimento *in vitro* de *Orthophytum mucugense* e *Neoregelia mucugensis*. bromélias endêmicas da Chapada Diamantina. Bahia - Brasil. *Revista Brasileira de Biociências* 5: 1101-1103.

- Bertoazzo, F. & Machado, I.S.** 2010. Meios de cultura no desenvolvimento de ápices caulinares de mamoneira (*Ricinus communis* L.) in vitro. *Ciência e Agrotecnologia* 34(6): 1477–1482.
- BRASIL** 1992. *Regras para Análise de Sementes*. Ministério da Agricultura, Secretaria Nacional de Defesa da Agropecuária, Brasília.
- Caldas, L.S.; Haridasan, P. & Ferreira, M.E.** 1998. Meios Nutritivos. In: A.C. Torres, L.S. Caldas & J.A. Buso (Orgs), *Cultura de Tecidos e Transformação Genética de Plantas*. EMBRAPA-SPI/EMBRAPA-CNPq, Brasília, p. 87–132.
- Chaves, A.C.; Schuch, M.W. & Erig, A.C.** 2005. Estabelecimento e multiplicação in vitro de *Physalis peruviana* L. *Ciência e Agrotecnologia* 29(6): 1281–1287.
- Drapeau, D.; Blanch, H.W. & Wilke, C.R.** 1986. Growth kinetics of *Dioscorea deltoidea* and *Catharanthus roseus* in batch culture. *Bioengineering and Biotechnology* 28: 1555–1563.
- Ferreira, D. F.** 2011. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia* 35(6): 1039–1042.
- Gonzales, O.T.; Torres, J.M.C.; Cano, C.I.M.; Arias, M.L. & Arboleda, A.A.N.** 2008. Caracterización morfológica de cuarenta y seis accesiones de Uchuva (*Physalis peruviana* L.), em Antioquia (Colombia). *Revista Brasileira de Fruticultura* 30(3): 708–715.
- Labouriau, L.G.** 1983. *A Germinação das Sementes*. OEA, Washington.
- Lédo, A.S.; Seca, G.S.V.; Barboza, S.B.S.C. & Silva, J.J.F.** 2007. Crescimento inicial de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) em diferentes meios de germinação in vitro. *Ciência e Agrotecnologia* 31(4): 989–993.
- Leitzke, L.N.; Damiani, C.R. & Schuch, M.W.** 2009. Meio de cultura, concentração de AIB e tempo de cultivo no enraizamento in vitro de amoreira-preta e framboeseira. *Revista Brasileira de Fruticultura* 31(2): 582–587.
- Lloyd, G. & Mccown, B.** 1981. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. *Combined Proceedings of the International Plant Propagator's Society* 30: 421–427.
- Lopes, D.C.D.X.P.; Freitas, Z.M.F.; Santos, E.P. & Tomassini, T.C.B.** 2006. Atividade antimicrobiana e fototóxica de extratos de frutos e raízes de *Physallis angulata* L. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 16(2): 206–210.
- Maguire, J.D.** 1962. Speed of germination aid in selection and evaluation of seedling emergence and vigor. *Crop Science* 2(1): 176–177.
- Monteiro, A.C.B.A.; Higashi, E.N.; Gonçalves, A.N. & Rodriguez, A.P.M.** 2000. A novel approach for the definition of the inorganic medium components for micropropagation of yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. flavicarpa Deg.). *In vitro Cellular and Developmental Biology-plant* 36(6): 527–531.
- Murashige, T. & Skoog, F.A.** 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15: 473–497.
- Rodrigues, F.A.; Penoni E.S.; Soares, J.D.R. & Pasqual, M.** 2013. Diferentes concentrações de sais do meio MS e BAP na multiplicação in vitro de *Physalis peruviana* L. *Bioscience Journal* 29(1): 77–82.
- Santos-Serejo, J.A.; Junghans, T.G.; Soares, T.L. & Silva, K.M.** 2006. Meios nutritivos para micropropagação de plantas. In: A.S. Sousa & T.G. Junghans (eds.), *Introdução à Micropropagação de Plantas*. Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Cruz das Almas, p. 79–98.
- Soares, E.L.C.; Vendruscollo, G.S.; Vignoli-Silva, M.; Thode, V.A.; Silva, J.G. & Mentz, L.A.** 2009. O gênero *Physalis* L. (Solanaceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. *Pesquisas, Botânica* 60: 323–340.
- Souza, N.K.R. & Amorim, S.M.C.** 2009. Crescimento e desenvolvimento de *Physallis angulata* Lineu submetida ao déficit hídrico. *Revista Acadêmica* 7(1): 65–72.
- Souza, M.O.; Souza, C.L.M. & Pelacani, C.R.** 2011. Germinação de sementes osmocondicionadas e não-osmocondicionadas e crescimento inicial de *Physallis angulata* L. (Solanaceae) em ambientes salinos. *Acta Botanica Brasilica* 25(1): 105–112.
- Tamaki, V.; Mercier, H. & Nievola, C.C.** 2007. Cultivo in vitro de clones de *Ananas comosus* (L.) Merrill cultivar ‘Smooth Cayenne’ em diferentes concentrações de macronutrientes. *Hoehnea* 34: 69–73.
- Tomassini, T.C.B.; Barbi, N.S.; Ribeiro, I.M. & Xavier, D.C.D.** 2000. Gênero *Physalis* - uma revisão sobre vitasteróides. *Química Nova* 23(1): 47–57.
- Tonietto, S.M.; Perini, C.B. & Tonietto, A.** 2008. Concentrações e composição do meio de Murashige & Skoog na micropropagação da Menta. *Plant Cell Culture Micropropagation* 4(1): 42–47.
- Vasconcellos, A.G.; Lage, C.L.S. & Esquibel, M.A.** 2003. In vitro flowering of *Physallis angulata* L. (Solanaceae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 6(1): 23–27.
- Villa, F.; Pasqual, M.; Assis, F.A.; Assis, G.A. & Zárrega, D.Z.A.** 2009. Micropropagação de duas espécies frutíferas, em meio de cultura DSD1, modificado com fontes de boro e zinco. *Ciência e Agrotecnologia* 33(2): 468–472.
- Zhang, W.; Curtin, C.; Kikuchi, M. & Franco, C.** 2002. Integration of jasmonic acid and light irradiation for enhancement of anthocyanin biosynthesis in *Vitis vinifera* suspension cultures. *Plant Science* 162: 459–468.