

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**AMANDA IZABEL DOS PASSOS**

**ADUBAÇÃO E ASSIMILAÇÃO DE NITROGÊNIO EM DUAS  
ESPÉCIES DE FISÁLIS**

**DISSERTAÇÃO**

**PATO BRANCO**

**2013**



**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**AMANDA IZABEL DOS PASSOS**

**ADUBAÇÃO E ASSIMILAÇÃO DE NITROGÊNIO EM DUAS  
ESPÉCIES DE FISÁLIS**

**DISSERTAÇÃO**

**PATO BRANCO**

**2013**

AMANDA IZABEL DOS PASSOS

**ADUBAÇÃO E ASSIMILAÇÃO DE NITROGÊNIO EM DUAS  
ESPÉCIES DE FISÁLIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marisa de Cacia  
Oliveira

PATO BRANCO

2013

P289a      Passos, Amanda Izabel dos.  
Adubação e assimilação de nitrogênio em duas espécies de  
fisális / Amanda Izabel dos Passos. -- 2013.  
54 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Profa. Dra. Marisa de Cacia Oliveira  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do  
Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco,  
PR, 2013.

Bibliografia: f. 47 – 54.

1. Clorofilas. 2. *Physalis*. 3. Nitrato redutase. 4. Nutrição. 5.  
Produção de frutos. I. Oliveira, Marisa de Cacia, orient. II.  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-  
Graduação em Agronomia. III. Título.

CDD (22. ed.) 630



Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Câmpus Pato Branco  
Gerência de Ensino e Pesquisa  
**Programa de Pós-Graduação em Agronomia**



## **TERMO DE APROVAÇÃO**

**Título da Dissertação nº 083**

# **ADUBAÇÃO E ASSIMILAÇÃO DE NITROGÊNIO EM DUAS ESPÉCIES DE FISÁLIS**

por

**AMANDA IZABEL DOS PASSOS**

Dissertação apresentada às 14 horas 00 min. do dia 6 de junho de 2013 como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Produção Vegetal, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho .....

Banca examinadora:

---

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Luciana Pelegrini**  
UTFPR

---

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Fabíola Villa**  
UNIOESTE

---

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marisa de Cacia  
Oliveira**  
UTFPR  
Orientador

Visto da Coordenação:

---

**Prof. Dr. Idalmir dos Santos**  
Coordenador do PPGAG

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pela vida, e por ter colocado em meu caminho as pessoas que conheci durante este período.

Agradeço aos meus pais, Plácido e Tânia pelo apoio que sempre me deram, e por me ensinarem desde cedo a valorizar a busca pelo conhecimento.

Às minhas irmãs, Ana Paula e Ana Eliza pelo companheirismo, e união sempre.

À minha orientadora, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marisa de Cacia Oliveira, que além de professora e orientadora também se tornou uma grande amiga.

Às minhas amigas, Danielle, Mariana, Francielli, Daiana, Ana Paula, Eli, Ana Claudia, Elouize, e ao meu amigo Douglas, entre tantas outras pessoas, que estiveram comigo nestes anos, ajudando na execução dos trabalhos e proporcionando momentos de diversão.

Também quero agradecer aos colegas do Laboratório de Fisiologia Vegetal pelos vários anos de convivência, troca de informações e amizade que se criou neste período.

À CAPES e ao Cnpq pelas bolsas concedidas.

Enfim, quero agradecer todas as pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho de maneira direta ou indireta, pois experimentos nunca são feitos por uma só pessoa, e sim por uma grande equipe onde cada um tem o seu papel.

*“Alguns homens veem as coisas como são e dizem ‘Por que’? Eu sonho com as coisas que nunca foram e digo ‘Por que não?’”*

*George Bernard Shaw*

## RESUMO

PASSOS, Amanda Izabel. Adubação e assimilação de nitrogênio em duas espécies de fisális. 41f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2013.

O gênero *Physalis* pertence à família Solanaceae e apresenta cerca de 120 espécies, amplamente distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais. Entre as espécies existentes, optou-se por trabalhar com *Physalis peruviana* e *P. pubescens*, a primeira, devido ao seu uso para fins produtivos, e a segunda, por ter potencial para produção, mas não ser explorado devido à planta ser considerada como daninha. Levando em consideração que não há estudos sobre adubação nitrogenada para as duas espécies e que este nutriente é um dos mais limitantes para o desenvolvimento e produção das plantas, os objetivos do presente trabalho foram avaliar os aspectos agrônômicos de plantas de *P. peruviana* e *P. pubescens* e verificar a atividade da enzima nitrato redutase e os teores de clorofila nas duas espécies sob diferentes doses de nitrogênio. O experimento de avaliação dos aspectos agrônômicos foi desenvolvido em casa de vegetação utilizando 2 espécies de fisális, 5 doses de N: 0, 200, 250, 300 e 350 kg ha<sup>-1</sup> e em todos os tratamentos foram utilizados 600 e 300 kg ha<sup>-1</sup> de P e K respectivamente. O experimento continha 7 repetições por tratamento em delineamento inteiramente casualizado. As variáveis analisadas foram altura de plantas, matéria seca de raiz e parte aérea, número de ramos, comprimento de raízes, produção média e peso de frutos. *P. pubescens* apresentou maior resposta ao nitrogênio para todas as variáveis com exceção do número de ramos e matéria seca de parte aérea, mostrando que esta espécie possui um grande potencial produtivo. No segundo experimento, avaliou-se a atividade da enzima nitrato redutase e os teores de clorofilas *a*, *b* e total através do método bioquímico e por medidor portátil, nas duas espécies submetidas a 3 doses de nitrogênio: 0, 150 e 300 kg ha<sup>-1</sup>. As mudas foram colocadas em copos plásticos com substrato comercial, onde foram adicionadas as respectivas doses de nitrogênio, fósforo e potássio (600 e 500 kg ha<sup>-1</sup> para todos os tratamentos), além das variáveis acima descritas também foi realizada a análise de proteínas. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com 6 repetições e as análises foram feitas um mês após a adubação. O incremento de N ocasionou um aumento nos teores de clorofilas e proteínas totais e redução da atividade enzimática em ambas as espécies, sendo que na maior dose *P. peruviana* obteve os maiores valores em todos os casos.

**Palavras-chave:** Clorofilas. *Physalis*. Nitrato redutase. Nutrição. Produção de frutos.

## ABSTRACT

PASSOS, Amanda Izabel. Fertilization and nitrogen assimilation in two species of *Physalis*. 41 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Federal University of Technology - Paraná. Pato Branco, 2012.

The genus *Physalis* belongs to the Solanaceae family and has about 120 species, widely distributed in tropical and subtropical regions. Among extant species, we chose to work with *Physalis peruviana* and *P. pubescens*, the first due to its use for productive purposes, and second, to have potential for production, but not be exploited due to be considered a weed plant. Assuming there are no studies on fertilization for the two species and that this nutrient is one of the most limiting to the development and production of plants, the objectives of this study were to evaluate the agronomic aspects of plants of *P. peruviana* and *P. pubescens* and check the activity of nitrate reductase and chlorophyll contents of the two species under different nitrogen levels. The experimental evaluation of the agronomic aspects was developed in a greenhouse using two species of *Physalis*, five N rates: 0, 200, 250, 300 and 350 kg ha<sup>-1</sup> and in all treatments were 600 and 300 kg ha<sup>-1</sup> P and K, respectively. The experiment contained 7 replications per treatment in a randomized design. The variables studied were plant height, dry matter of roots and shoots, number of branches, root length, production and average fruit weight. *P. pubescens* showed greater response to nitrogen for all variables except number of branches and dry weight of shoots, showing that this species has a large productive potential. In the second experiment, we evaluated the activity of nitrate reductase and the content of chlorophyll *a*, *b* and total by biochemical method and portable meter in two species subjected to three nitrogen levels: 0, 150 and 300 kg ha<sup>-1</sup>. The seedlings were placed in plastic cups with commercial substrate, which were added the respective doses of nitrogen, phosphorus and potassium (600 and 500 kg ha<sup>-1</sup> for all treatments), in addition to the variables described above was also performed protein analysis. The experimental design was completely randomized with six replications and analyzes were made one month after fertilization. The increase of N caused an increase in the levels of chlorophyll and protein and reduced enzyme activity in both species, with the highest dose *P. peruviana* highest values obtained in all cases.

Keywords : Chlorophylls . *Physalis* . Nitrate reductase. Nutrition. Fruit production.

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b> – Altura final de plantas de <i>Physalis pubescens</i> e <i>Physalis peruviana</i> submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N). UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.....	22
<b>Gráfico 2</b> – Massa seca da parte aérea de plantas de <i>Physalis pubescens</i> e <i>Physalis peruviana</i> submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N). UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.....	23
<b>Gráfico 3</b> – Número de ramos de plantas de <i>Physalis pubescens</i> e <i>Physalis peruviana</i> submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N). UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.....	24
<b>Gráfico 4</b> – Comprimento médio de raízes de plantas de <i>Physalis pubescens</i> e <i>Physalis peruviana</i> submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N). UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.....	25
<b>Gráfico 5</b> – Massa seca de raízes de plantas de <i>Physalis pubescens</i> e <i>Physalis peruviana</i> submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N). UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.....	26
<b>Gráfico 6</b> – Produção média de frutos ( $\text{g planta}^{-1}$ ) de plantas de <i>Physalis pubescens</i> e <i>Physalis peruviana</i> submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N). UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.....	26
<b>Gráfico 7</b> – Massa média de frutos (g) de plantas de <i>Physalis pubescens</i> e <i>Physalis peruviana</i> submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N). UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.....	27
<b>Gráfico 8</b> – Teores de clorofila <i>a</i> em folhas de <i>Physalis pubescens</i> e <i>Physalis peruviana</i> , submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N), avaliados através de clorofilômetro (A) e análise bioquímica (B). Letras minúsculas diferem entre si nas espécies e maiúsculas nas doses para cada espécie pelo teste de Tukey a 5% de significância. UTFPR, Pato Branco - PR, 2013. ....	38
<b>Gráfico 9</b> – Teores de clorofila <i>b</i> em folhas de <i>Physalis pubescens</i> e <i>Physalis peruviana</i> , submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N), avaliados através de clorofilômetro (A) e análise bioquímica (B). Letras minúsculas diferem entre si nas espécies e maiúsculas nas doses para cada espécie pelo teste de Tukey a 5% de significância. UTFPR, Pato Branco - PR, 2013. ....	39
<b>Gráfico 10</b> – Teores de clorofila total em folhas de <i>Physalis pubescens</i> e <i>Physalis peruviana</i> , submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N), avaliados através de clorofilômetro (A) e análise bioquímica (B). Letras minúsculas diferem entre si nas espécies e maiúsculas nas doses para cada espécie pelo teste de Tukey a 5% de significância. UTFPR, Pato Branco - PR, 2013. ....	40
<b>Gráfico 11</b> – Atividade da enzima nitrato redutase (NR) em plantas de <i>Physalis pubescens</i> e <i>Physalis peruviana</i> , submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N). Letras minúsculas diferem entre si nas espécies e maiúsculas nas doses para cada espécie pelo teste de Tukey a 5% de significância. UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.. ....	43
<b>Gráfico 12</b> – Concentração de proteínas totais em plantas de <i>Physalis pubescens</i> e <i>Physalis peruviana</i> , submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N). Letras minúsculas diferem entre si nas espécies e maiúsculas nas doses	

para cada espécie pelo teste de Tukey a 5% de significância. UTFPR,  
Pato Branco - PR, 2013.....44

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 01</b> - Resultado da análise de solo utilizado no experimento de adubação. UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.....	20
<b>Tabela 02</b> - Razão entre clorofilas <i>a</i> e <i>b</i> em plantas de <i>Physalis pubescens</i> e <i>Physalis peruviana</i> submetidas a diferentes doses de nitrogênio(N). UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS

Al	alumínio
Ca	cálcio
cm	centímetro
cm <sup>2</sup>	centímetro quadrado
cmol <sub>c</sub>	Centimol de carga
dm <sup>3</sup>	decímetro cúbico
g	grama
h	altura
H	hidrogênio
ha	hectare
IRPAN	índice de
kg	quilograma
L	litro
M	concentração molar
Mg	miligrama
Mg	magnésio
mL	mililitro
mM	concentração milimolar
mf	Matéria Fresca
MO	matéria orgânica
μmol	concentração micromol
nm	nanômetro
N	Nitrogênio
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Nitrato
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Amônio
NR	Nitrato Redutase
P	Fósforo
PBC	Produção de frutos na dose zero
pH	Potencia hidrogênico
PM	Produção Máxima
S	Área total do disco foliar
SB	Soma de bases
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	<b>13</b>
<b>2 CAPÍTULO I - Adubação nitrogenada em duas espécies de fisális</b> .....	<b>16</b>
2.1 RESUMO.....	16
2.2 ABSTRACT:.....	17
2.3 INTRODUÇÃO .....	18
2.4 MATERIAL E MÉTODOS .....	20
2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	22
2.6 CONCLUSÕES .....	30
<b>3 CAPÍTULO II – Atividade da enzima nitrato redutase e teores de clorofila em duas espécies de fisális submetidas a diferentes doses de nitrogênio</b> .....	<b>31</b>
3.1 RESUMO .....	31
3.2 ABSTRACT: .....	32
3.3 INTRODUÇÃO .....	33
3.4 MATERIAL E MÉTODOS .....	35
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	37
3.6 CONCLUSÕES .....	45
<b>4 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>46</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>47</b>

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O gênero *Physalis*, pertencente à família Solanaceae, apresenta cerca de 120 espécies, amplamente distribuídas no mundo (LI et al., 2008), com prováveis origens no Continente Americano (BRIGHENTI, 2011). O nome *Physalis* vem da palavra grega “physa” que significa bolha ou bexiga, fazendo referência ao cálice que envolve os frutos da planta (RUFATO et al., 2008). É o gênero de maior destaque na família, devido a produção de metabólitos polioxigenados, os vitaesteróides, entre eles as fisalinas, que são substâncias que apresentam interessantes atividades farmacológicas (TOMASSINI et al., 2000).

No Brasil são encontradas *P. pubescens*, *P. peruviana* e *P. angulata*, que são muito parecidas entre si e, portanto, conhecidas pelos nomes comuns de fisális, camapu, balãozinho, bucho de rã, joá de capote, camapum, entre outros. As plantas destas espécies possuem ciclo anual e se reproduzem através de sementes, as quais apresentam uma boa viabilidade; são plantas herbáceas, eretas, podendo atingir até um metro de altura, o caule é sublenhoso, com muitas ramificações e cilíndrico; os frutos, em geral, apresentam coloração que varia do amarelo ao alaranjado quando maduro e com cerca de 1 cm de diâmetro (KISSMANN; GROTH, 2000).

Diversas espécies vegetais são utilizadas na medicina popular, porém, poucas são aquelas de múltiplas funções, como alimentícias e produtoras de compostos secundários de interesse, como as várias espécies de fisális.

O consumo de pequenas frutas no Brasil tem chamado, gradativamente, a atenção dos consumidores devido à necessidade de diversificação da dieta e, também, pela descoberta de propriedades nutracêuticas destas frutas. Com isso, os produtores de pequeno e médio porte têm se interessado no cultivo das mesmas (HOFFMANN, 2003). A fruticultura é uma atividade em expansão no Sudoeste do Paraná, sendo mais uma opção de produção, principalmente nas pequenas propriedades (CITADIN et al., 2005).

O termo “pequenas frutas” é utilizado para um grupo de espécies já consagradas em países tradicionais produtores, porém, novas espécies são adicionadas a este grupo frequentemente (PAGOT; HOFFMANN, 2003). Uma espécie que tem apresentado grande potencial e já possui importância comercial em alguns países da América Latina é a *Physalis peruviana* (CHAVES et al., 2005),

sendo a Colômbia o principal produtor mundial (cerca de 11.500 t ano<sup>-1</sup>) onde é conhecida como “uchuva” (CASTRO et. al; 2008).

Adubação e métodos de tutoramento vêm sendo estudados para esta cultura, pois no momento são utilizados os mesmos aplicados ao tomateiro (RUFATO et al., 2008). A fisális pode produzir por até dois anos, sendo que no segundo ano, a produção de frutos é reduzida quando comparada ao primeiro, porém, se for realizada uma adubação adequada, tutoramento e podas a quantidade de frutos pode ser satisfatória até no segundo ano de cultivo (MUNIZ et al., 2011).

Um dos nutrientes mais limitantes para o desenvolvimento vegetal é o nitrogênio (N), pois está presente na composição dos aminoácidos e, conseqüentemente, das proteínas, além das moléculas de clorofila, estando, portanto, ligado à capacidade fotossintética da planta, e por fim, ao crescimento e produção desta (ALVARENGA, 2004). Por isso, vários trabalhos de pesquisa têm utilizado a quantificação da clorofila como uma forma de avaliar indiretamente o N nas plantas, ou as alterações destas moléculas com a adubação nitrogenada (CARDOSO et. al 2011; AMINEFARD et. al 2010; SHI et. al 2009; REIS et. al 2006) .

Uma maneira rápida de se obter os dados de clorofila *a*, *b* e total é através do clorofilômetro, e como a quantidade de clorofila pode ser diretamente relacionada ao nitrogênio na planta, esta análise se torna eficiente para verificar a necessidade deste nutriente (QUADROS et. al, 2010). Outra técnica de obtenção dos teores de clorofila nas folhas é através de métodos bioquímicos, através espectrofotometria, onde se emprega a extração com solventes, como etanol ou acetona, e através de fórmulas específicas se calcula a concentração destas moléculas.

Além da aplicação de uma quantidade adequada de N, também é necessário que a planta apresente uma boa capacidade de absorção e, principalmente, a assimilação deste nutriente deve ser eficiente. Uma forma de se obter esta última informação é avaliando a atividade da enzima nitrato redutase (NR), que é a primeira enzima no processo do metabolismo do nitrato absorvido pelas raízes da planta.

Entre as várias espécies de fisális existentes, neste trabalho optou-se por trabalhar com duas, *P. peruviana*, a mais cultivada com fins produtivos (frutos) e *P. pubescens*, sobre a qual não se encontram muitos estudos, já que é considerada

planta daninha (LORENZI, 2008.), por isso a escolha, assim como as características que podem torná-la uma planta a ser cultivada e explorada comercialmente.

## 2 CAPÍTULO I – ADUBAÇÃO NITROGENADA EM DUAS ESPÉCIES DE FISÁLIS

### 2.1 RESUMO

O cultivo de pequenas frutas vem se destacando, de modo geral, pelo bom retorno econômico, e dentre estas, o gênero *Physalis* tem se mostrado uma importante alternativa de renda, devido ao alto valor agregado e a possibilidade de cultivo em pequenas áreas. Porém, ainda não há recomendações de adubação estabelecida para esta cultura e, considerando-se que o nitrogênio é um dos elementos mais limitantes para o crescimento e desenvolvimento das plantas, este trabalho teve por objetivo avaliar os aspectos agrônômicos de duas espécies de fisális submetidas a diferentes doses de N. O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação, em esquema fatorial 2x5, em delineamento inteiramente casualizado, utilizando-se 2 espécies (*Physalis pubescens* e *P. peruviana*) e 5 doses de N (0, 200, 250, 300 e 350 kg ha<sup>-1</sup>), com 7 repetições. Foram avaliados altura de plantas, matéria seca de raiz e parte aérea, número de ramos, comprimento de raízes, produção média e peso de frutos. *P. pubescens* apresentou melhores respostas ao nitrogênio para quase todas as variáveis analisadas, com exceção de matéria seca de parte aérea e número de ramos, onde houve maior destaque para *P. peruviana* o que pode ser explicado por características genéticas da espécie, mostrando que a primeira espécie citada possui um grande potencial produtivo que ainda deve ser explorado.

## 2.2 ABSTRACT:

The cultivation of small fruits has been increasing, in general, the good economic returns, and among these, the genus *Physalis* has been an important alternative source of income, due to the high value and possibility of cultivation in small areas. However, there is still no established fertilizer recommendations for the crop, and considering that nitrogen is one of the most limiting to the growth and development of plants, this study aimed to evaluate the agronomic aspects of two species of *physalis* subjected to different doses of N. The experiment was conducted in a greenhouse in a 2x5 factorial arrangement in a completely randomized design, using two species (*Physalis pubescens* and *P. peruviana*) and five N rates (0, 200, 250, 300 and 350 kg ha<sup>-1</sup>), 7 replicates. Were evaluated for plant height, dry weight of roots and shoots, number of branches, root length, production and average fruit weight. *P. pubescens* showed better responses to nitrogen for almost all variables, with the exception of dry shoots and number of branches, where there was greater emphasis on *P. peruviana* which can be explained by genetic species, indicating that the first mentioned kind have a great potential yield yet to be explored.

## 2.3 INTRODUÇÃO

O gênero *Physalis* pertence à família Solanaceae e apresenta cerca de 120 espécies, amplamente distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais (LI et al., 2008) e segundo Whitson (2012), o México é o centro de diversidade do gênero. O nome *Physalis* vem da palavra grega “physa” que significa bolha ou bexiga, fazendo referência ao cálice que envolve os frutos da planta (RUFATO et al., 2008). É o gênero de grande destaque na família devido à produção de metabólitos polioxigenados, os vitaesteróides, entre eles as fisalinas, que são substâncias que têm apresentado significativas atividades farmacológicas (TOMASSINI et al., 2000; MAGALHÃES, 2005; SOARES et al., 2006; DAMU et al., 2007; REYES-REYES et al., 2013). O suco de seus frutos contém altos teores de carotenóides, polifenóis, vitamina C e sólidos solúveis totais (EL-SHEIKHA et al., 2008; HASSANIEN, 2011).

Entre as várias espécies de fisális, a que mais se destaca é *P. peruviana*, que apresenta importância comercial, principalmente na Colômbia que é o maior produtor de frutos da espécie (CHAVES et al., 2005). No Brasil existem áreas produtoras em Minas Gerais, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, porém, a produção é pouco significativa (RODRIGUES et al., 2009), sendo a maior parte dos frutos comercializados no país importados da Colômbia.

*P. pubescens* L. é um subarbusto com 30 cm de altura, podendo atingir até 1,5 m e é considerada, na maioria das regiões do Brasil como espécie daninha (LORENZI, 2008), o que parece ter influência sobre o desconhecimento de suas qualidades para seu cultivo e consumo (ERASMO et al., 2004), sendo uma espécie de ampla distribuição, encontrada em várias partes do mundo.

Apesar de existirem diversos estudos com fisális, a maior parte se refere às fisalinas e ao potencial farmacológico destes compostos. O que se refere à adubação, poucos trabalhos foram desenvolvidos, principalmente com a espécie *P. peruviana* (RUFATO et al., 2008; EL-TOHAMY et al., 2009; MUNIZ et al., 2011); ainda não se conhece as respostas de *P. pubescens* submetida à adubação (PEIXOTO et al., 2010), já que se trata de uma espécie considerada daninha e não despertou, até algum tempo atrás, interesse para estudos de suas propriedades e possíveis aplicações. As recomendações de condução da cultura (*P. peruviana*) são

as mesmas indicadas para o tomateiro, com algumas adaptações (RUFATO et al., 2008).

Um dos nutrientes mais limitantes para o desenvolvimento vegetal é o nitrogênio, pois este está presente na composição dos aminoácidos e, conseqüentemente, das proteínas, metabólitos secundários, etc., além das moléculas de clorofila estando, portanto, ligado à capacidade fotossintética da planta, e por fim, ao crescimento e produção desta. O excesso ou deficiência deste nutriente é prejudicial à planta, afetando seu crescimento e produção podendo resultar em perdas significativas (ALVARENGA, 2004).

Pelo fato de ainda não existir uma recomendação para adubação nitrogenada específica para fisális, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os aspectos agrônômicos (crescimento, desenvolvimento e produção) de plantas de *P. peruviana* e *P. pubescens* submetidas a diferentes doses de nitrogênio, na tentativa de se estabelecer níveis mais apropriados em função das respostas obtidas.

## 2.4 MATERIAL E MÉTODOS

As mudas das duas espécies – *Physalis pubescens* e *P. peruviana* - foram obtidas através de sementes oriundas de frutos maduros de plantas presentes na UTFPR, Câmpus Pato Branco. Os frutos foram colocados em liquidificador com água e após a separação das sementes da polpa foram realizadas sucessivas lavagens para eliminar os resíduos dos frutos. As sementes foram colocadas sobre papel toalha até estarem secas e posteriormente foram armazenadas em frasco com tampa e mantidas sob refrigeração (4 °C).

A semeadura foi realizada no início de fevereiro de 2012 em bandejas de isopor em casa de vegetação, contendo húmus fértil, onde foram colocadas 3 sementes por célula, sendo feito o raleio das mudas após 20 dias. Quando as plântulas estavam com 70 dias de idade (aproximadamente 15 cm de altura), foram transplantadas para vasos de plástico de 5 L contendo solo previamente analisado (Tabela 1) para efeito de adubação (uma planta por vaso).

Tabela 01 – Resultado da análise de solo utilizado no experimento de adubação nitrogenada em fisális. UTFPR, Pato Branco – PR 2013.

MO g dm <sup>-3</sup>	P mg dm <sup>-3</sup>	K cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	Ca cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	Mg cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	pH CaCl <sub>2</sub>	V (%)	Índice SMP	SB cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>	H+Al cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>
60,31	3,46	0,40	4,86	2,10	4,60	44,20	5,30	7,36	9,29

O experimento foi conduzido nos vasos que foram mantidos em ambiente controlado em casa de vegetação (UTFPR, Câmpus Pato Branco). Os tratamentos consistiram em 5 diferentes doses de N: 0 , 200, 250, 300 e 350 kg ha<sup>-1</sup>, tendo como fonte a ureia, que foi aplicada em 4 parcelas em intervalos de 15 dias. Para o fósforo e potássio foram aplicadas, para todos os tratamentos, as doses de 600 e 500 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente, no momento do plantio. As plantas foram irrigadas por aspersão, uma vez ao dia. A temperatura média diária no período do experimento (22 de fevereiro à 20 de outubro de 2012) foi de aproximadamente 28 °C ± 2 °C.

Foram realizadas avaliações de altura de planta, medindo-se da base do caule no solo até sua extremidade superior com auxílio de uma régua e número de ramificações, sendo que essas variáveis foram medidas semanalmente.

Também foi avaliada a produção por planta e massa média dos frutos, fazendo a pesagem destes em balança analítica. Estas duas variáveis foram avaliadas durante um período de 5 semanas, já que a produção é irregular, e ao final do experimento foram analisadas massas seca e fresca da parte aérea e raízes e o comprimento das raízes. Para obtenção da massa seca, o material fresco de folhas, caule e raiz foi colocado em sacos de papel e acondicionados em estufa a uma temperatura de 40 °C por um período de uma semana, até a obtenção de massa constante e após isto, realizou-se a pesagem do material.

Também foi calculado o incremento relativo na produtividade advindo da adubação nitrogenada (IRPAN). Para tal, utilizou-se a diferença entre a produção máxima de frutos (PM), em  $\text{kg ha}^{-1}$ , e a produção de frutos com a dose zero (PBC zero), dividida pela dose de N necessária para obter a PM, por meio da fórmula:  $\text{IRPAN} = (\text{PM} - \text{PBC zero}) / (\text{Dose para PM})$  (FERREIRA et al., 2010).

O experimento foi executado em delineamento inteiramente casualizado, com 2 espécies - *P. peruviana* e *P. pubescens* -, 5 tratamentos - 0, 200, 250, 300 e 350  $\text{kg ha}^{-1}$  de N - (fatorial 2x5) e 7 repetições e as análises das regressões foram realizadas por meio do programa ASSISTAT (SILVA;AZEVEDO, 2002).

## 2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como esperado, as duas espécies de fisális responderam positivamente ao incremento de N. Com relação à altura de plantas, *P. pubescens* apresentou melhores resultados que *P. peruviana* (Gráfico 1). O mesmo foi observado por El-Tohamy et al. (2009) trabalhando com *P. peruviana*, em solo arenoso e aumento de doses de N (50 a 200 kg ha<sup>-1</sup>), sendo que 200 kg ha<sup>-1</sup> resultou na maior altura (88,25 cm). No presente trabalho, porém, em condições diferenciadas, as plantas de *P. peruviana* e *P. pubescens* atingiram cerca de 110 e 130 cm (Gráfico 1), Respeitando-se as diferentes condições, observou-se melhores respostas no crescimento das plantas neste experimento, já em 200 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente. Em algodoeiro, com níveis de N variando de 60 a 180 kg ha<sup>-1</sup>, foram obtidas plantas mais altas em resposta ao aumento da adubação nitrogenada (TEIXEIRA et al., 2008). No caso do milho, Aratani et al. (2006) não verificaram alterações em altura de plantas pelo incremento na dose de N, em cobertura.

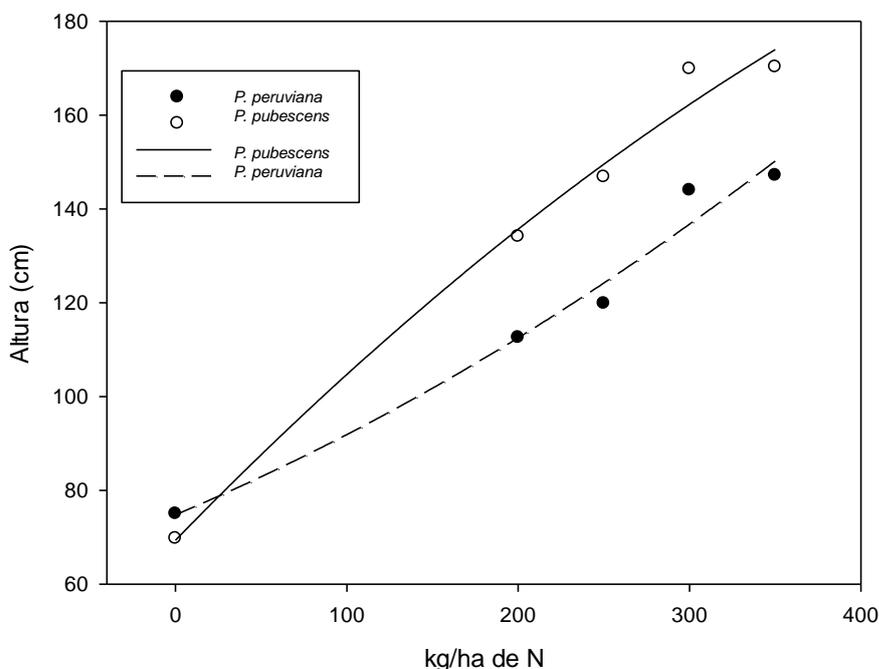


GRÁFICO 01 - Altura final de plantas de *Physalis pubescens* e *Physalis peruviana* submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N). UTFPR, Pato Branco - PR, 2013

Em termos de matéria seca houve influência dos níveis de N, porém, sem diferença significativa entre as espécies (Gráfico 2), mas com leve superioridade para *P. pubescens*. Em experimento com *P. peruviana* a adubação nitrogenada também influenciou positivamente a massa vegetal (fresca), atingindo 846,25 g por planta em 200 kg ha<sup>-1</sup> de N contra 274,25 g por planta (50 kg ha<sup>-1</sup>) (EL-TOHAMY et al., 2009). Sant'Ana e Silveira (2008) acompanharam o ciclo evolutivo de feijoeiro e descreveram a influência das doses de N, em cobertura, no desenvolvimento das plântulas, com 120 kg ha<sup>-1</sup> apresentando a melhor resposta. O aumento de massa também foi observado na produção de couve-flor com aumento das doses de N (KANO et al., 2010), porém, Aratani et al. (2006) não conseguiram relacionar a massa seca à adubação nitrogenada em cobertura, em milho.

Apesar de não existir diferença estatística entre as duas espécies de fisális, numericamente, *P. pubescens* parece absorver e responder melhor ao N, formando uma quantidade maior de matéria seca, o que pode ser uma característica de sua rusticidade.

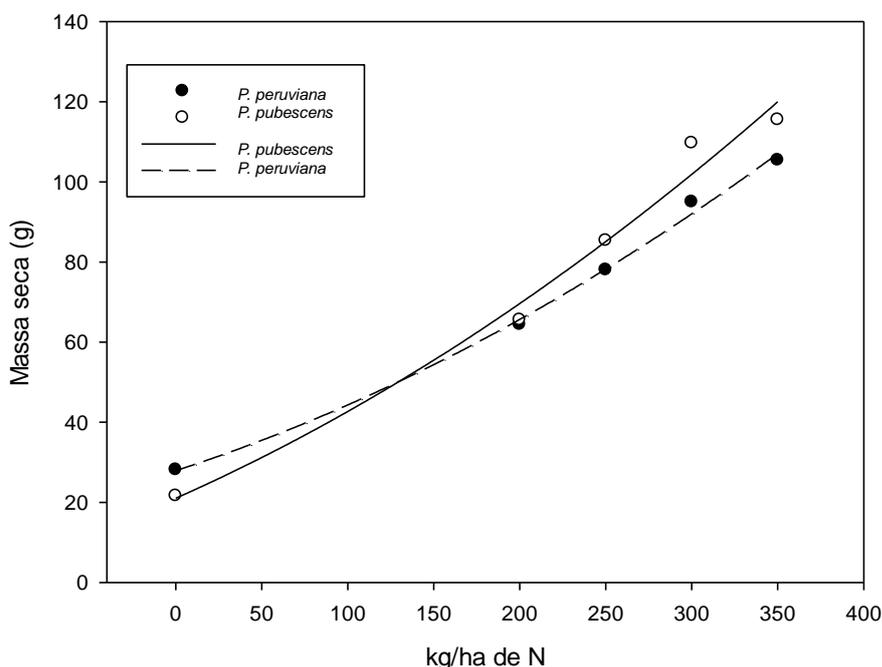


GRÁFICO 02 - Massa seca da parte aérea de plantas de *Physalis pubescens* e *Physalis peruviana* submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N). UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.

Observa-se que as respostas à adubação nitrogenada, normalmente, levam a incrementos no porte das plantas, mas podem ocorrer respostas não significativas, que parecem estar relacionadas ao melhoramento de espécies, que podem ter atingido sua máxima expressão, não respondendo mais à nutrição.

Quanto à produção de ramos, o aumento foi linear para as duas espécies (Gráfico 3), sendo que neste caso, *P. peruviana* apresentou maiores valores. O mesmo foi encontrado por El-Tohamy et al. (2009) com aumentos de N, passando de 11,75 para 16,25 ramificações por planta. Apesar de ter respondido positivamente ao aumento de N, as emissões de ramos variaram pouco em *P. peruviana*, em relação à testemunha, indicando que a maior ramificação parece ser uma característica genética da espécie. Por outro lado, em *P. pubescens* observa-se um grande aumento no número de ramificações, porém, inferior à outra espécie, com o incremento da dose de N, mostrando que a planta possui um grande potencial a ser explorado, se isto significar maior produção, seja de frutos ou massa foliar, dependendo do objetivo, como por exemplo a extração de compostos bioativos..

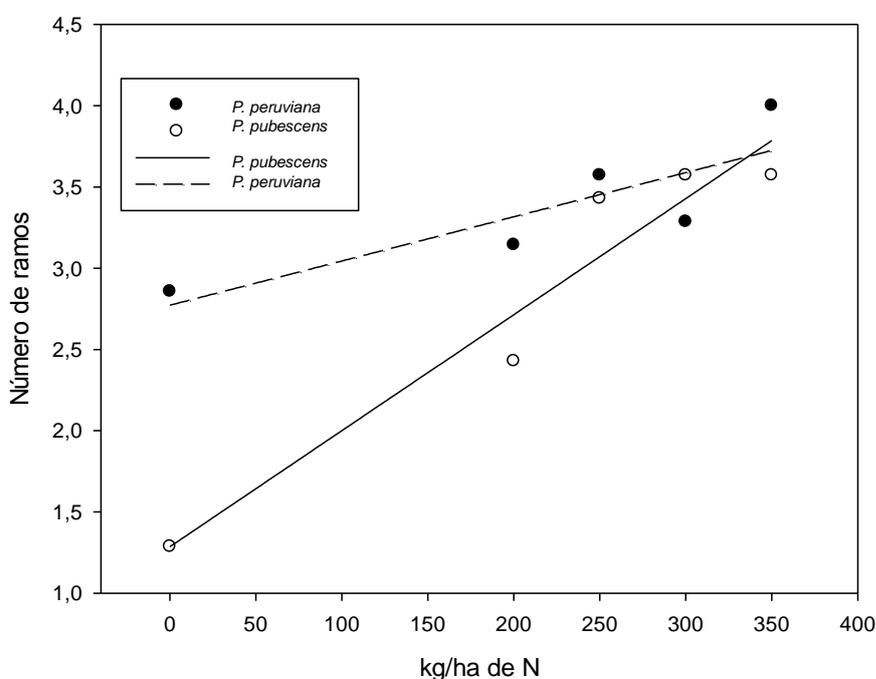


GRÁFICO 03 - Número de ramos de plantas de *Physalis pubescens* e *Physalis peruviana* submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N). UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.

Assim como na parte aérea, o nitrogênio também teve influência positiva nas raízes, tanto no comprimento (Gráfico 4), quanto na matéria seca (Gráfico 5), sendo que para o comprimento, houve resposta linear para as espécies, mas como pode ser observado, *P. pubescens* respondeu melhor aos aumentos de N. Mendonça et al. (2006) trabalhando com diferentes doses de N e fósforo, em mamoeiro, também obtiveram aumentos no comprimento de raízes com a adubação nitrogenada, sendo que o maior comprimento (14,35 cm) foi observado na dose máxima (1,545 g N dm<sup>-3</sup>). Maiores raízes significam maiores áreas de exploração do

solo na absorção de água e nutrientes, sendo um fator positivo e requerido no processo produtivo da planta.

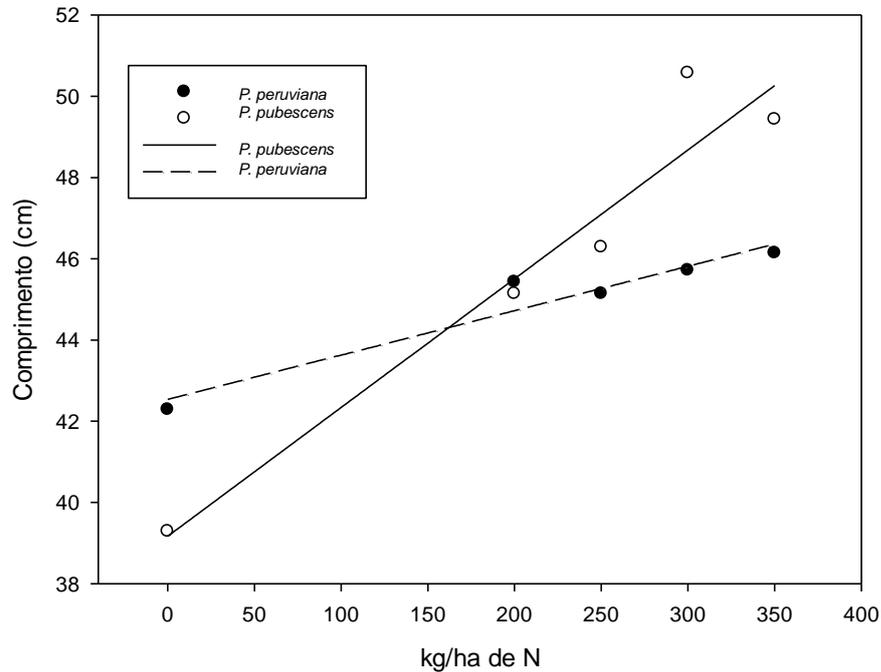


GRÁFICO 04 - Comprimento médio de raízes de plantas de *Physalis pubescens* e *Physalis peruviana* submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N). UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.

Com relação à matéria seca de raízes, ambas as espécies apresentaram resposta quadrática às doses de N (Gráfico 5). Em tamarindo, os maiores valores de matéria seca radicular resultaram da adubação fosfatada ( $5 \text{ kg m}^{-3}$ ) na ausência de N e com  $10 \text{ kg m}^{-3}$  de fósforo combinado com  $1,6 \text{ kg m}^{-3}$  de N (SOUZA et al., 2007). Já em maracujazeiro amarelo, as respostas apresentaram um modelo linear de comportamento, com a melhor ( $6,23 \text{ g}$  de matéria seca) na dose de  $3,2 \text{ g N dm}^{-3}$  (MENDONÇA et al., 2007). Damasceno et al. (2011) verificaram aumento da matéria fresca de raízes de beterraba com incremento de adubação nitrogenada, sendo o maior valor ( $199,95 \text{ g}$ ) apresentado na dose de  $300 \text{ kg ha}^{-1}$ . Com estes resultados, tem-se respostas discrepantes em função das diferentes espécies e a relação com outros nutrientes importantes no processo de desenvolvimento e crescimento vegetal.

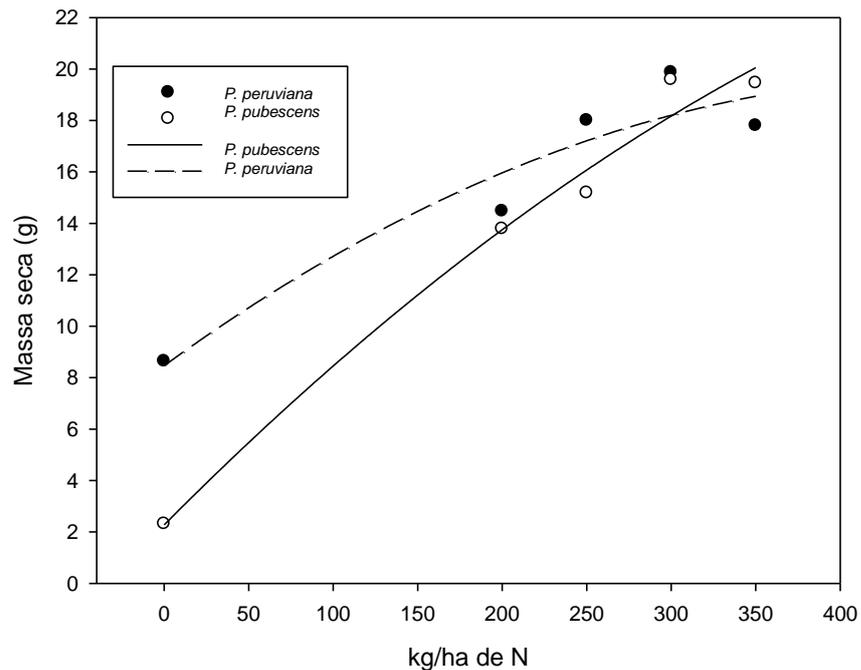


GRÁFICO 05 – Massa seca de raízes de plantas de *Physalis pubescens* e *Physalis peruviana* submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N). UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.

Quando foi avaliada a produção de frutos por planta, pode-se verificar que as maiores doses de N utilizadas no experimento somente foram favoráveis à *P. pubescens*, sendo que *P. peruviana* apresentou decréscimo na produção com 350 kg ha<sup>-1</sup> de N e na massa média dos frutos (Gráficos 6 e 7).

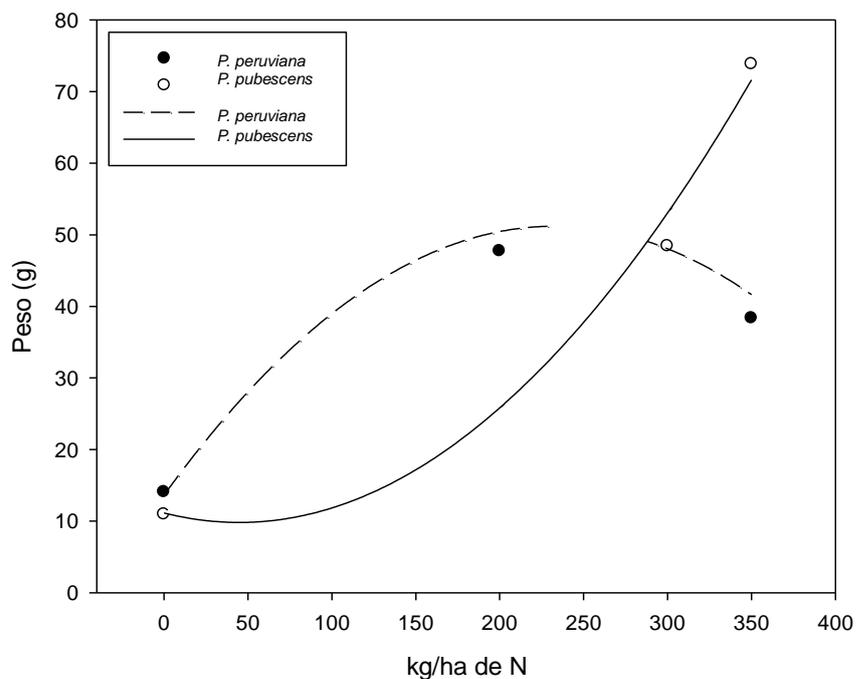


GRÁFICO 06 – Produção média de frutos (g planta<sup>-1</sup>) de plantas de *Physalis pubescens* e *Physalis peruviana* submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N). UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.

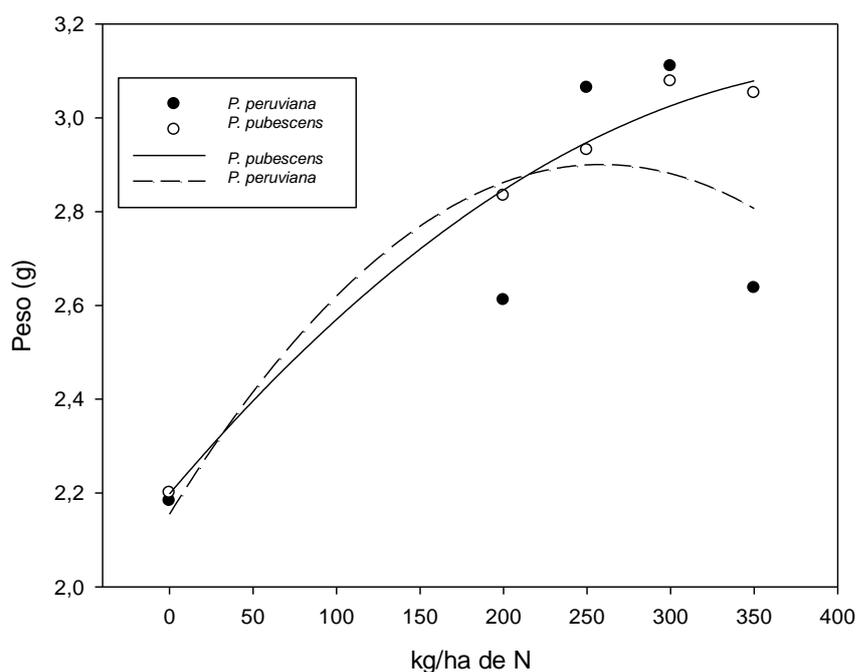


GRÁFICO 07 – Massa média de frutos (g) de plantas de *Physalis pubescens* e *Physalis peruviana* submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N). UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.

El-Tohamy et al. (2009) obtiveram uma produção total, por planta, de 472,50 g com a dose de 200 kg ha<sup>-1</sup>, contra 159,19 g com 50 kg ha<sup>-1</sup> de N. No presente trabalho, *P. pubescens* respondeu melhor aos aumentos de N, possivelmente devido à sua rusticidade e por ainda não ter passado por qualquer processo de seleção, diferentemente de *P. peruviana*, a qual por ser a espécie mais cultivada, tende a ter plantas selecionadas pelos produtores, conforme a capacidade de produção. Este resultado indica que para esta última espécie de fisális, adubação nitrogenada acima de 300 kg ha<sup>-1</sup> não é recomendada, já que não surtirá efeito sobre a produção e massa de frutos. No caso de *P. pubescens* valores de N acima dessa dose pode não resultar em frutos maiores, porém, a quantidade obtida por planta é significativa e justifica novos experimentos para atingir seu potencial produtivo.

Excesso de N pode ocasionar desequilíbrio nutricional e afetar a produtividade, o que se observou na produção de *P. peruviana* (Gráfico 6) com dose de N de 350 kg ha<sup>-1</sup>. Em termos fisiológicos, isto pode ter ocorrido em função da redistribuição de fotoassimilados para outras partes vegetativas das plantas. Morales et al. (2012) constataram que em morangos houve diminuição da produção em algumas cultivares e aumento do número de estolhos, nas plantas, com maiores concentrações de N, enquanto outras (cultivares), no mesmo experimento, tiveram

aumento de produção com incremento de adubação nitrogenada, mostrando que respostas diversas ocorrem nas diferentes variedades de uma mesma espécie.

Na avaliação de peso (massa) de frutos, o N também teve influência, sendo que assim como ocorreu com a produção, *P. peruviana* apresentou frutos com massas menores com dose de 350 kg ha<sup>-1</sup>, com *P. pubescens* respondendo melhor aos aumentos de N (Gráfico 7). Em experimento desenvolvido por Roy et al. (2011) com plantas de pimentão, os autores obtiveram aumento de produção de frutos por planta, assim como na massa desses, conforme incremento nas doses de N, o mesmo observado em *P. pubescens*, no presente trabalho. Segundo Campos et al. (2008) o aumento crescente do número de frutos por planta, em pimentão, com elevação de níveis de N se deve, provavelmente, ao fato do N ser o elemento absorvido em maior quantidade e de fundamental importância para o crescimento e desenvolvimento da planta. Apesar de que plantas da mesma família tenham exigências nutricionais semelhantes, não se pode generalizar e, por isso, a importância de determinação das necessidades para cada espécie, senão, para cada variedade.

Para o IRPAN os resultados obtidos foram de 1,78 kg kg<sup>-1</sup> de N para *P. pubescens* e de 1,33 kg de frutos kg<sup>-1</sup> de N para *P. peruviana*. Para o gênero *Physalis* ainda não existem valores ideais estabelecidos, porém, *P. pubescens* apresentou maior eficiência relativa no aproveitamento de nitrogênio, conforme mostraram os resultados. Ferreira et al. (2010), trabalhando com tomate, encontraram índices de 15,23 e 13,22 kg kg<sup>-1</sup> de N para tomates cultivados na primavera/verão com diferentes doses de N e de 22,90 e 27,67 kg kg<sup>-1</sup> de N para plantios no outono/primavera. Os autores alegam que estes valores são baixos para a cultura, mas que, provavelmente, a baixa eficiência no aproveitamento do N foi devido às altas precipitações na primeira época de cultivo e na forma de irrigação na segunda (irrigação superficial) o que pode ter causado a lixiviação do N aplicado.

As diferenças das respostas das duas espécies de fisálias para as melhores produtividades, em diferentes níveis de N, podem estar ligadas aos processos de seleção, pois plantas domesticadas, como é o caso da *P. peruviana*, perdem sua rusticidade ao serem constantemente selecionadas, e são muito mais dependentes das alterações e intervenções humanas em seu meio (VEASEY et al., 2011). Provavelmente, as plantas desta espécie já apresentam um potencial inicial produtivo maior, sendo, portanto, mais próximo de seu limite, com maior resposta em

menores doses de nutrientes e o efeito negativo com aumento da adubação, enquanto que *P. pubescens* ainda tem todo seu potencial a ser explorado, o que pode ser observado pelas respostas positivas em todas as variáveis analisadas.

## 2.6 CONCLUSÕES

As doses de nitrogênio utilizadas neste trabalho causaram efeitos significativos em todos os parâmetros avaliados nas duas espécies de *Physalis*.

*P. pubescens* respondeu melhor com os aumentos de N quando comparada à *P. peruviana*.

Através desse experimento, conclui-se que a melhor dose comum de N para ambas as espécies de fisális, levando-se em consideração todos os parâmetros avaliados, é de 300 kg ha<sup>-1</sup>, porém, individualmente, *P. pubescens* responde melhor com dose maior de N.

### 3 CAPÍTULO II - ATIVIDADE DA ENZIMA NITRATO REDUTASE E TEORES DE CLOROFILA EM DUAS ESPÉCIES DE FISÁLIS SUBMETIDAS A DIFERENTES DOSES DE NITROGÊNIO

#### 3.1 RESUMO

Um dos nutrientes mais limitantes para o desenvolvimento das plantas é o nitrogênio, pois está presente em várias moléculas, e em processos do metabolismo vegetal. Ele é absorvido pela planta na forma de  $\text{NO}_3^-$  e precisa ser convertido a  $\text{NH}_4^+$  antes de ser incorporado aos compostos orgânicos e a primeira enzima que catalisa este processo é a nitrato redutase. Os objetivos do presente trabalho foram avaliar o teor de clorofila, por dois diferentes métodos e relacionar os resultados às doses de nitrogênio e a atividade da enzima nitrato redutase em *Physalis peruviana* e *P. pubescens* sob diferentes doses de nitrogênio a fim de obter maiores informações sobre o metabolismo deste nutriente nestas espécies. As mudas para obtenção do material vegetal para as análises foram cultivadas em casa de vegetação com três doses de N: 0, 150 e 300 kg ha<sup>-1</sup>. Um mês após a adubação foram realizadas as análises de clorofilas *a*, *b* e total (com 4 repetições), atividade da enzima nitrato redutase e proteínas totais (6 repetições). O incremento de N ocasionou um aumento nos teores de clorofilas e proteínas totais e redução da atividade enzimática em ambas as espécies, sendo que na maior dose *P. peruviana* obteve os maiores valores em todos os casos, sendo possível constatar a partir dos dados obtidos que *P. pubescens* possui uma maior capacidade de assimilação do nitrogênio que *P. peruviana*.

### 3.2 ABSTRACT:

One of the most limiting nutrients for plant growth is nitrogen because it is present in several molecules and metabolic processes in plants. It is absorbed by the plant in the form of  $\text{NO}_3^-$  and needs to be converted to  $\text{NH}_4^+$  before being incorporated into organic compounds and the first enzyme that catalyzes this process is the nitrate reductase. The objectives of this study were to evaluate the content of chlorophyll, by two different methods and the results relate to nitrogen levels and the activity of nitrate reductase in *Physalis peruviana* and *P. pubescens* under different nitrogen levels in order to get more information about the metabolism of this nutrient in these species. Seedlings for obtaining plant material for analysis were grown in a greenhouse with three N rates: 0, 150 and 300 kg ha<sup>-1</sup>. A month after fertilization were conducted analyzes of chlorophyll *a*, *b* and total (with 4 repetitions), nitrate reductase activity and total protein (6 repetitions). The increase of N caused an increase in the levels of chlorophyll and protein and reduced enzyme activity in both species, with the highest dose *P. peruviana* obtained the highest values in all cases, and can be seen from the data obtained that *P. pubescens* has a greater ability to assimilate nitrogen than *P. peruviana*.

### 3.3 INTRODUÇÃO

O gênero *Physalis* pertence à família Solanaceae e apresenta cerca de 120 espécies, amplamente distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais (LI et al., 2008) e, segundo Whitson (2012), o México é o centro de diversidade do gênero. O nome *Physalis* vem da palavra grega “physa” que significa bolha ou bexiga, fazendo referência ao cálice que envolve os frutos da planta (RUFATO et al., 2008).

A espécie mais cultivada é *P. peruviana*, sendo a Colômbia o principal produtor e exportador mundial (BRIGHENTI, 2011). Já *P. pubescens* não é explorada comercialmente, por ser considerada planta daninha (LORENZI, 2008), porém, apresenta características organolépticas que a colocam como uma forte concorrente à *P. peruviana*, além de apresentar uma rusticidade maior (dados não mostrados).

Em plantas, as altas produtividades estão relacionadas ao suprimento adequado de nutrientes e do balanço entre eles. Um dos mais importantes é o nitrogênio (N), o qual está envolvido em diversos processos metabólicos relacionados ao crescimento e desenvolvimento vegetal (MALAVOLTA, 2006). O N é componente de diversas moléculas que desempenham as mais variadas funções, entre elas, proteínas, ácidos nucleicos, pigmentos, metabólitos secundários, etc.

O nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) é a principal forma de absorção de N pelas plantas e deve ser reduzido à forma amoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ) antes de ser incorporado aos compostos orgânicos. A nitrato redutase (EC 1.7.1.1) é a enzima chave desta conversão, sendo responsável pela primeira etapa, catalisando a redução de  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NO}_2$ . Esta enzima citosólica tem sua síntese e atividade induzidas pelo nitrato (DONATO et al. 2004). A segunda reação, catalisada pela nitrito redutase, converte  $\text{NO}_2$  a  $\text{NH}_4^+$ , o qual será, primeiramente, utilizado na biossíntese de aminoácidos (ROUZÉ; CABOCHE, 1992).

As clorofilas são moléculas conhecidas como tetrapirróis e se distinguem de outros pela presença de um íon magnésio no anel tetrapirrólico. As clorofilas *a* e *b* são as principais formas de clorofilas encontradas nos vegetais (WILLOWS, 2004). O principal substrato para a síntese das clorofilas é o glutamato e, portanto, um composto que contém nitrogênio. Indiretamente, por compor as

moléculas de clorofila, a determinação destes pigmentos também pode ser um indicativo da assimilação do nitrogênio pelas plantas.

Atualmente, a adubação indicada para a cultura da fisális (principalmente *P. peruviana*) se baseia no recomendado para a cultura do tomate (RUFATO et al., 2008), porém, pouco se sabe sobre os níveis ideais de N para fisális e não há registro de trabalhos envolvendo a assimilação deste nutriente por estas plantas. A importância da determinação das melhores condições nutricionais pode resultar em economia e na proteção ambiental, sem excessos que possam provocar a contaminação, principalmente da água.

Por isso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a assimilação de N em *P. pubescens* e *P. peruviana* submetidas a diferentes níveis de adubação nitrogenada, através da atividade da enzima nitrato redutase (NR) e das concentrações de clorofilas *a*, *b* e total.

### 3.4 MATERIAL E MÉTODOS

As mudas para a execução do experimento foram obtidas por meio de sementes oriundas de plantas cultivadas em casa de vegetação na UTFPR Câmpus Pato Branco, Paraná.

As sementes foram colocadas em bandejas com substrato comercial, e após 2 meses as mudas foram transplantadas para copos plásticos com capacidade de 300 mL contendo o mesmo substrato. As plantas foram irrigadas diariamente por aspersão, e a temperatura média na casa de vegetação no período de julho até agosto de 2012, foi de  $26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Dez dias após o transplante foi realizada a adubação com fósforo e potássio nas doses de 600 e 500 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente, para todos os tratamentos utilizando como fontes super fosfato triplo e cloreto de potássio e a adubação nitrogenada em três doses: 0, 150 e 300 kg ha<sup>-1</sup> sendo utilizada a ureia para o fornecimento do nitrogênio, que foi aplicado todo no momento do transplante.

As análises da nitrato redutase (NR) e clorofilas foram realizadas um mês após a adubação. Foram utilizadas as folhas do terço médio das mudas para ambas as análises, as quais foram coletadas e imediatamente analisadas.

Para as clorofilas, primeiramente, utilizou-se o clorofilômetro para a determinação e, posteriormente, as mesmas folhas foram empregadas para a obtenção dos teores pelo método bioquímico conforme proposto por Arnon (1949). Para isso, o material foi lavado com água corrente e com auxílio de um perfurador ( $\varnothing$  1 cm), obteve-se 10 discos que foram colocados em placas de Petri, contendo água destilada. Posteriormente, com auxílio de pinça, foram retirados da água, colocados em almofariz e macerados com 10 mL de acetona a 80%, sendo, então, centrifugados a 12000 rpm por 10 minutos, a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Fez-se a leitura dos extratos obtidos em espectrofotômetro (Shimadzu UV-1800), em comprimentos de onda de 645 e 663 nm. Para a determinação das concentrações de clorofilas foram utilizadas as equações abaixo:

$$(1) \quad \text{Clorofila a (mg cm}^{-2}\text{)} = [(0,0127 \times \text{abs}663 - 0,00269 \times \text{abs}645)] \times V \times 10/S$$

$$(2) \quad \text{Clorofila b (mg cm}^{-2}\text{)} = [(0,0229 \times \text{abs}645 - 0,00468 \times \text{abs}663)] \times V \times 10/S$$

$$(3) \quad \text{Clorofila total (mg cm}^{-2}\text{)} = [(0,0202 \times \text{abs645} + 0,00802 \times \text{abs663})] \times V \times 10/S$$

Onde:

V = volume final do extrato (mL)

S = área total dos discos foliares (1 disco = área do círculo = 0,7854 cm<sup>2</sup>)

A análise da NR foi feita conforme descrito por Jaworski (1971), onde foram utilizadas 0,2 g de tecido foliar, cortados em pedaços e colocados em tubos de ensaio contendo tampão fosfato 0,2 M pH 7,5 com propanol a 2% e 1,5 mL de uma solução de KNO<sub>3</sub> 100 mM, no controle negativo, a solução de KNO<sub>3</sub> foi substituída pela mesma quantidade de água destilada. Após agitação manual os tubos de ensaio foram submetidos a vácuo por 1 minuto, utilizando o dessecador ligado a uma bomba pressurizadora. Em seguida, os tubos foram incubados em banho a 30 °C por 30 minutos. Feito este procedimento, retirou-se uma alíquota de 1 mL de cada solução que foi transferida para outro tubo de ensaio contendo o reagente de nitrito [sulfanilamida 1% e N-(1- naftil) etilenodiamina a 0,02% (1:1 v/v)]. Estes tubos, então, foram incubados em banho a 30 °C por 15 minutos. Após, foram feitas as leituras em espectrofotômetro, em 540 nm.

O *n*-propanol foi usado para aumentar a permeabilidade celular ao nitrato e nitrito (JAWORSKI, 1971), além de facilitar a transferência do nitrato presente no meio de incubação, ou oriundo do vacúolo, para o citoplasma, onde ficaria mais disponível para ação da enzima da redutase de nitrato (JONES; SHEARD, 1977). A atividade da NR foi expressa em micromol de nitrito produzido por grama de matéria fresca (mf) por hora ( $\mu\text{mol de NO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ mf h}^{-1}$ ).

Também foram feitas análises de proteínas totais pelo método de Bradford (1976) extraídas com tampão fosfato 0,2 M pH 7,5 e calculadas através de uma curva padrão de soroalbumina bovina, e o cálculo da razão da clorofila *a/b*.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com 6 repetições para todas as amostras para as análises de NR e proteínas e 4 repetições para avaliação da clorofila. Os resultados foram submetidos ao teste de Tukey a 5% de significância utilizando-se o programa ASSISTAT (SILVA; AZEVEDO, 2002) para as análises.

### 3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As avaliações dos teores de clorofila, através das duas metodologias empregadas, mostrou interação significativa entre os fatores doses e espécies. Conforme Gráfico 8 A e B, pode-se verificar que o aumento da dose de N elevou os teores de clorofila *a* nas duas espécies de fisális, com superioridade para *P. peruviana* na dose de 300 kg ha<sup>-1</sup> de N, sendo que para as outras doses, não houve diferença entre as espécies. O mesmo ocorrendo para clorofila *b* e total (Gráficos 9 A e B e 10 A e B).

Lavres Jr. et al. (2010) verificaram aumento nas leituras de clorofilas (SPAD) com aumento na concentração de N, sendo a dose de 25 g kg<sup>-1</sup> a que apresentou melhor resultado em capim mombaça aos 36 e aos 72 dias após o transplante das plântulas. Segundo estes mesmos autores, a deficiência de nitrogênio vai afetar negativamente a biossíntese de clorofila, além do conteúdo de N nas plantas.

Como era esperado, parte do nitrogênio absorvido pelas plantas será utilizada na síntese de moléculas de clorofila, sendo que um dos sinais de deficiência deste nutriente é a perda da coloração verde das folhas. Neste trabalho, parece haver maior conversão de N em moléculas de clorofila, tanto *a* quanto *b* por *P. peruviana* com doses maiores deste nutriente.

Ressalta-se que apesar das diferenças numéricas entre as metodologias, ambas apresentaram as mesmas tendências, ou seja, de uma leve superioridade para a síntese de clorofilas pela *P. peruviana* com os aumentos da adubação nitrogenada.

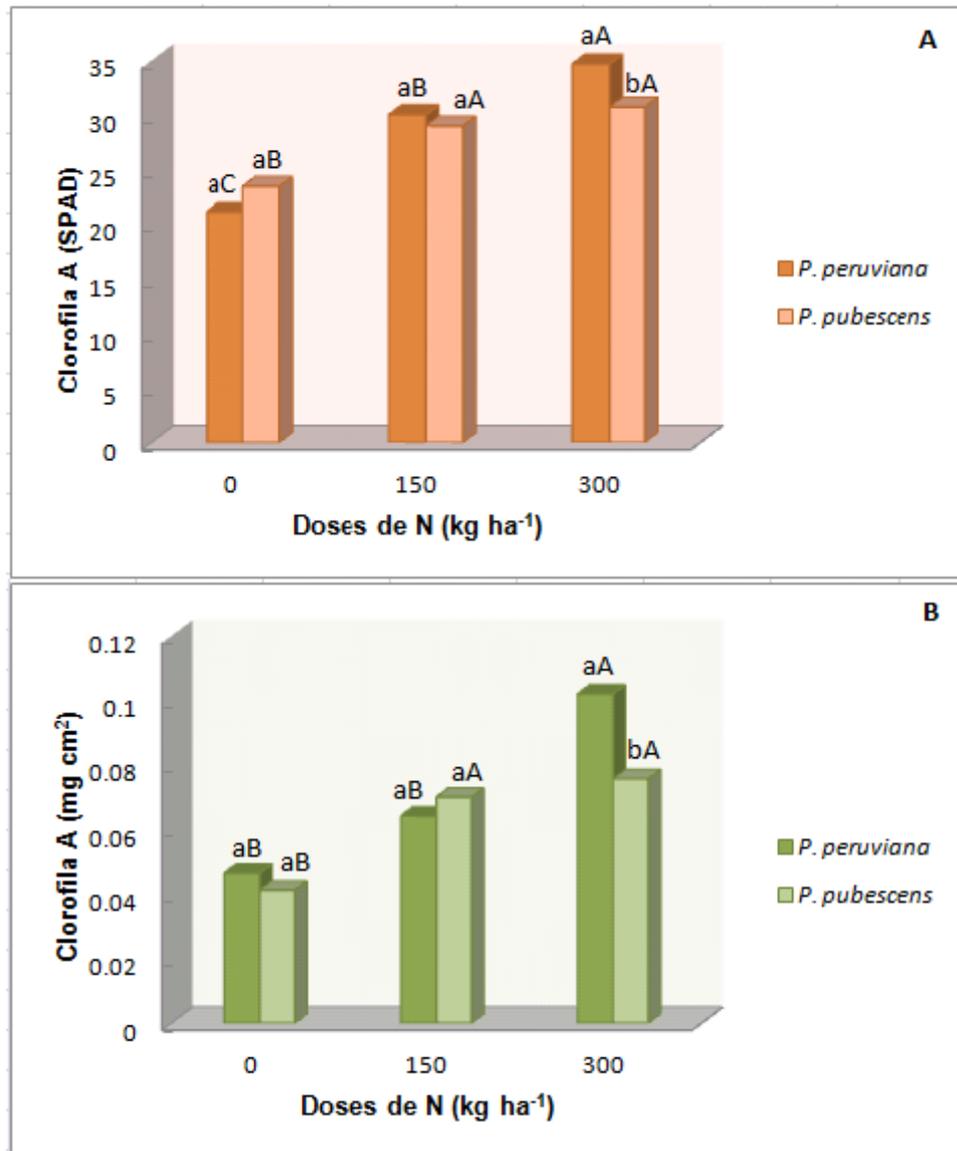


GRÁFICO 08 - Teores de clorofila *a* em folhas de *Physalis pubescens* e *Physalis peruviana*, submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N), avaliados através de clorofilômetro (A) e análise bioquímica (B). Letras minúsculas diferem entre si nas espécies e maiúsculas nas doses para cada espécie pelo teste de Tukey a 5% de significância. UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.

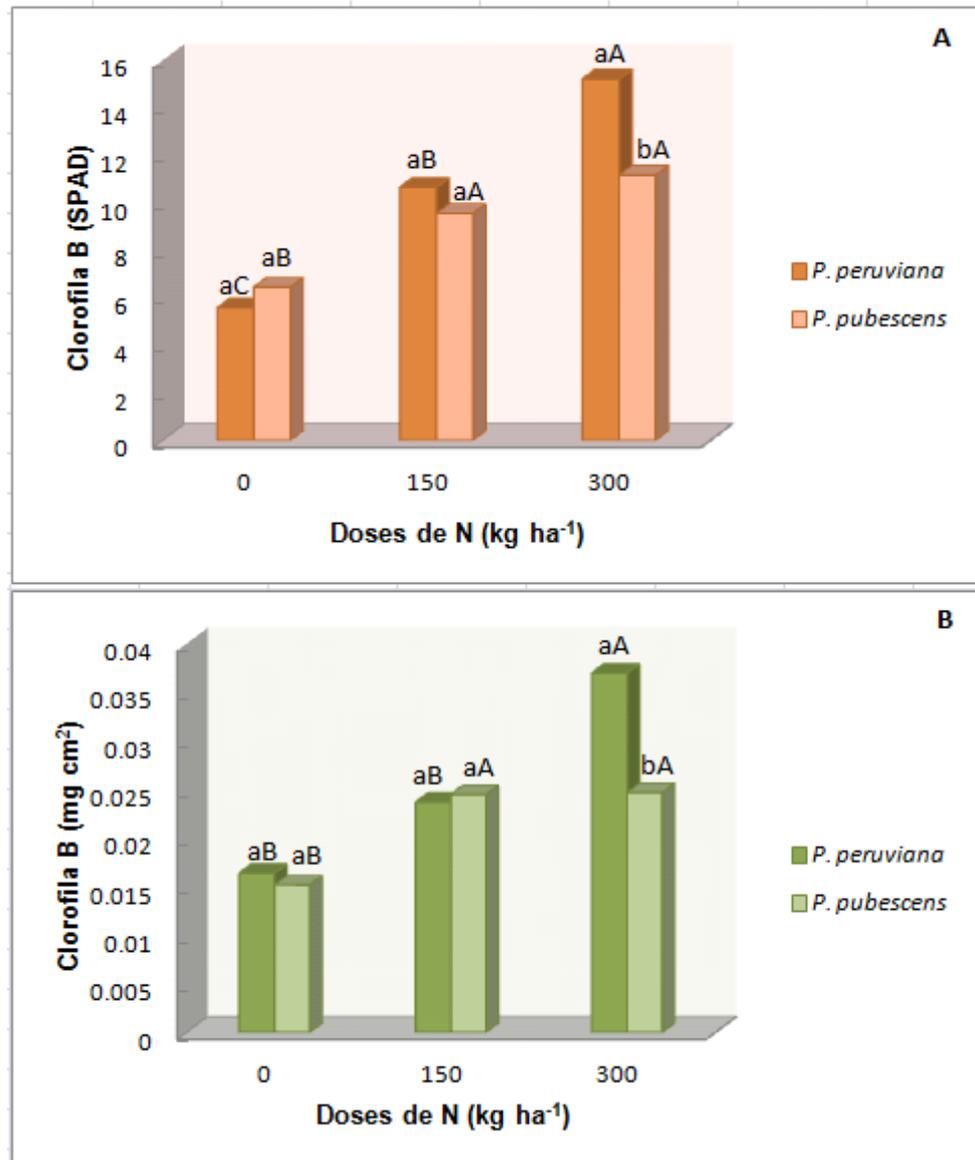


GRÁFICO 9 - Teores de clorofila *b* em folhas de *Physalis pubescens* e *Physalis peruviana*, submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N), avaliados através de clorofilômetro (A) e análise bioquímica (B). Letras minúsculas diferem entre si nas espécies e maiúsculas nas doses para cada espécie pelo teste de Tukey a 5% de significância. UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.

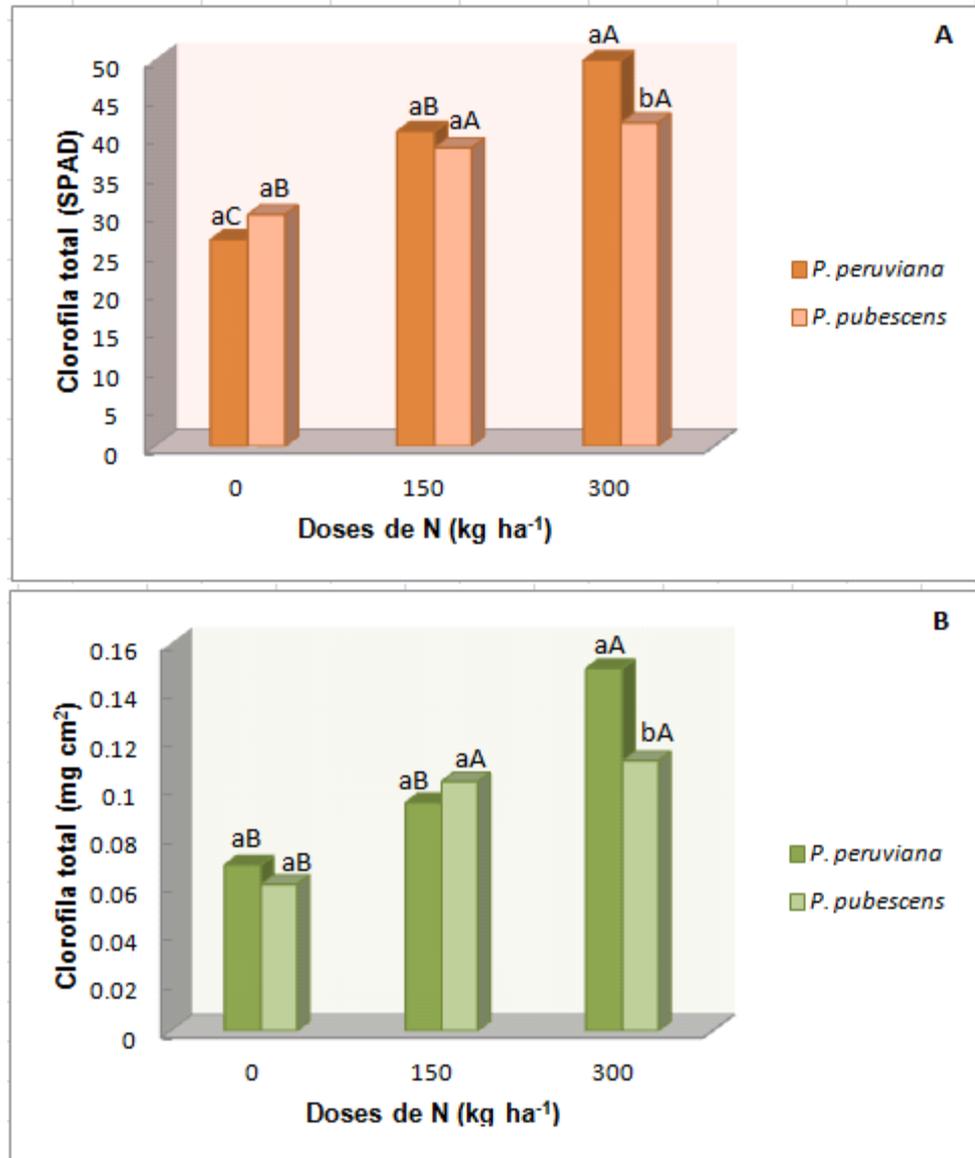


GRÁFICO 10 - Teores de clorofila total em folhas de *Physalis pubescens* e *Physalis peruviana*, submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N), avaliados através de clorofilômetro (A) e análise bioquímica (B). Letras minúsculas diferem entre si nas espécies e maiúsculas nas doses para cada espécie pelo teste de Tukey a 5% de significância. UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.

Coelho et al. (2012) obtiveram aumento linear do índice de clorofila em função das doses de N em batateira. Segundo Coelho et al. (2010) a intensidade da coloração verde nas folhas, determinada por clorofilômetro Spad-502, aumenta de forma quadrática com aumentos de N até 300 kg ha<sup>-1</sup> em batateira.

No presente trabalho, é possível observar nos gráficos que na maior quantidade de nitrogênio utilizada (300 kg ha<sup>-1</sup>) ambas espécies apresentaram aumentos quando comparadas com a testemunha, porém, *P. peruviana* só apresentou aumento significativo na dose mais alta, sendo que na intermediária não

diferiu da testemunha. Já *P. pubescens*, apresentou aumento significativo a partir da dose de 150 kg ha<sup>-1</sup>, o que pode demonstrar possivelmente uma resposta mais rápida a adubação nitrogenada, assim como a conversão deste nutriente em compostos necessários para o crescimento/desenvolvimento, pois na maior dose, as plantas desta espécie apresentaram uma menor quantidade de clorofila em todos os casos.

Outra explicação para a maior quantidade de clorofilas em *P. peruviana* na adubação nitrogenada de 300 kg ha<sup>-1</sup> pode estar relacionada ao fato de que a partir de doses mais elevadas esta espécie tem seu desenvolvimento vegetativo intensificado (dados não mostrados) investindo mais, portanto, no desenvolvimento das folhas e conseqüentemente há uma maior produção de clorofila.

A fonte de N também pode ser um fator importante na biossíntese de clorofilas, como verificado por Garbin e Dillenburg (2008), em *Araucaria angustifolia* utilizando NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Tanto clorofila total, quanto separadamente *a* e *b* apresentaram-se superiores quando as plantas tinham como fonte de N o NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, melhor até que a combinação NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + NH<sub>4</sub><sup>+</sup>. Isto se justifica pelo fato de que o íon NH<sub>4</sub><sup>+</sup> é prontamente incorporado aos compostos orgânicos, principalmente aos aminoácidos.

Já em pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke), os maiores valores de clorofilas *a* e total foram verificados em combinação de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: NH<sub>4</sub><sup>+</sup> em proporção de 75:25% (BARRETO et al., 2007).

Neste experimento, a fonte de N utilizada foi a ureia, que disponibiliza o nitrogênio na forma de amônia gasosa ou nitrato, portanto, a planta tem a necessidade de assimilar os compostos antes de utilizá-los, o que pode ter sido um fator que causou a diferença nos teores de clorofila *a*, *b* e total entre as espécies.

Para a razão entre as clorofilas *a* e *b* foram encontrados valores entre 2,71 e 2,8 para *P. peruviana* e 2,72 e 3,07 para *P. pubescens* (Tabela 02). Segundo Willows (2004), esta relação para plantas de sombra varia entre 2,0 - 2,8 e para plantas de sol de 3,5 - 4,9. É possível dizer pelos dados apresentados na Tabela 02, que as duas espécies podem ser consideradas plantas de sombra, porém, são necessários mais estudos relacionando o sombreamento com a produção para esta afirmação.

TABELA 02 - Razão entre clorofilas *a* e *b* em plantas de *Physalis pubescens* e *Physalis peruviana* submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N) . UTFPR, Pato Branco, 2013.

Espécies	Doses de N (kg ha <sup>-1</sup> )		
	0	150	300
<i>P. pubescens</i>	2,72	2,86	3,07
<i>P. peruviana</i>	2,84	2,71	2,76

Quando analisada a atividade de NR, as respostas indicaram os mesmos comportamentos verificados para as clorofilas, ou seja, *P. peruviana*, com exceção da dose zero de N, respondeu com maiores valores de atividade enzimática que *P. pubescens*, porém, com decréscimo ao incremento de N (Gráfico 11). Brito et al. (2013) também verificaram diminuição na atividade de NR, em crambe (*Crambe abyssinica*), com aumentos nos níveis de N, assim como o conteúdo deste nutriente no principal local de armazenamento, sugerido pelos autores como sendo o caule. Souza (1994) obteve resultados semelhantes em plantas de *Lycopersicon esculentum*, com atividade de NR alta sem o fornecimento de N exógeno. Considerando que a redutase de nitrato é uma enzima cuja síntese e atividade é induzida pelo substrato (BEEVERS; HAGEMAN, 1980), é possível que o NO<sub>3</sub><sup>-</sup> interno não tenha limitado a atividade da enzima, o mesmo ocorrendo com as espécies de fisális, sendo mais evidente em *P. pubescens*, que deve ter uma quantidade maior da enzima ou esta é mais eficiente na utilização de baixos níveis de nitrogênio, resultando em maior formação de nitrito em menos tempo ou as enzimas subsequentes menos efetivas, o que gera um acúmulo deste produto resultando na inibição parcial da atividade de NR.

Outra possibilidade desta resposta inversa pode estar relacionada ao período do experimento – 30 dias após adubação – ou, ainda, à inibição da atividade da NR pelo excesso de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> formado, porém, com indução de síntese de outras proteínas (GRÁFICO 12).

Diversos resultados de trabalhos apontam para a importância de um balanço entre N e K para melhor ativação enzimática da assimilação do N em algumas espécies, como milho (SILVA et al., 2011) e feijoeiro (PESSOA et al., 2001). Costa et al. (2008) sugerem que a adubação nitrogenada, com inadequados níveis

de K podem prejudicar a absorção e o aproveitamento de ambos macronutrientes.

Talvez a adubação nitrogenada feita toda no momento do transplante das mudas (sem parcelamento) tenha causado um desequilíbrio entre estes nutrientes, inibindo parcialmente a absorção de ambos, o que pode ter gerado os resultados encontrados, ou ainda, a absorção do N tenha ocorrido de forma mais acelerada pelas plantas, o que pode ter ocasionado no final um grande acúmulo de  $\text{NH}_4^+$  e inibido a ação da enzima NR.

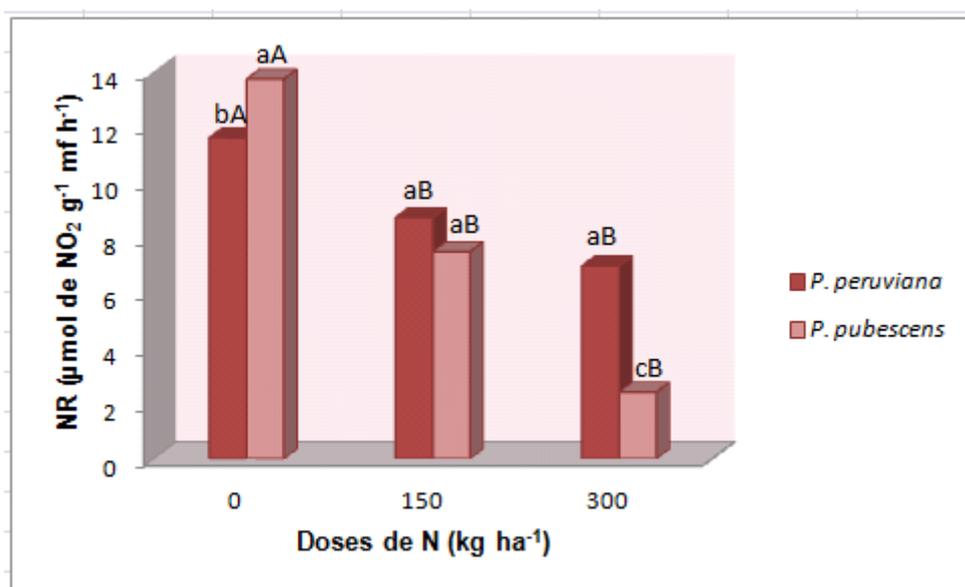


GRÁFICO 11 - Atividade da enzima nitrato redutase (NR) em plantas de *Physalis pubescens* e *Physalis peruviana*, submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N). Letras minúsculas diferem entre si nas espécies e maiúsculas nas doses para cada espécie pelo teste de Tukey a 5% de significância. UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.

Já em cafeeiro, o aumento da adubação nitrogenada mostrou uma regressão linear, na qual a atividade de NR aumentou com níveis crescentes de N (REIS et al., 2007), assim como em capim mombaça (LAVRES Jr. et al., 2010), em *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (LIMA FILHO; NEPTUNE, 1982) e em pau rosa (BARRETO et al., 2007). Novamente, diferentes respostas nas espécies vegetais, demonstrando que não se pode estabelecer um padrão de atividade com a adubação, em condições não semelhantes.

O suprimento de  $\text{NO}_3^-$  leva a um aumento do nível de “steady-state” de mRNA de NR em várias espécies e tecidos (CRAWFORD et al., 1986; CHENG et al., 1991; FRIEMANN et al., 1991). Conseqüentemente, ocorre aumento na síntese de proteínas (Gráfico 12), principalmente da NR e de sua atividade, rapidamente após a

adubação com  $\text{NO}_3^-$ , nas raízes, porém, nas folhas ocorrerá uma fase lag (MELZER et al., 1989). No presente trabalho, é possível que os baixos níveis observados na atividade possam ter coincidido com esta fase, porém, podem ser resultantes de um processo de inibição da enzima pelo excesso de  $\text{NH}_4^+$ , como sugerido por Lima filho e Neptune (1982) em *Vigna*.

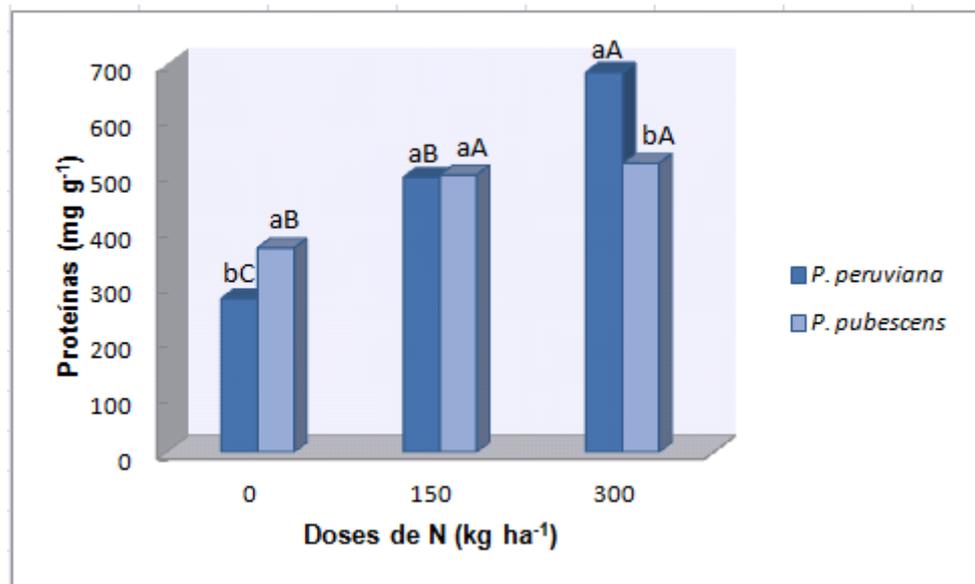


GRÁFICO 12- Concentração de proteínas totais em plantas de *Physalis pubescens* e *Physalis peruviana*, submetidas a diferentes doses de nitrogênio (N). Letras minúsculas diferem entre si nas espécies e maiúsculas nas doses para cada espécie pelo teste de Tukey a 5% de significância. UTFPR, Pato Branco - PR, 2013.

### 3.6 CONCLUSÕES

As doses de nitrogênio alteraram os teores de clorofila em *P. pubescens* e *P. peruviana*, sendo que, na dose de 300 kg ha<sup>-1</sup> *P. peruviana* teve maiores quantidades de clorofila *a*, *b* e total nos dois métodos utilizados para a obtenção dos dados. Apesar das diferenças, os dois métodos são apropriados para indicar, indiretamente, a assimilação de N.

O incremento de N fez com que a atividade da enzima nitrato redutase fosse reduzida, sendo que em *P. pubescens* a enzima apresentava maior atividade que em *P. peruviana* na dose de 0 kg ha<sup>-1</sup> e na dose de 300 kg ha<sup>-1</sup> a situação foi inversa, a maior atividade foi encontrada em *P. peruviana*.

A quantidade de proteínas aumentou com o aumento das doses de N, sendo que na dose de 300 kg ha<sup>-1</sup> *P. peruviana* apresentou maior quantidade que *P. pubescens*.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os experimentos realizados mostram que *P. pubescens* tem um grande potencial produtivo que deve ser mais estudado, e que ambas as espécies (*P. peruviana* e *P. pubescens*) podem ser ótimas opções de cultivo para os pequenos produtores da região, por se tratarem de plantas mais rústicas (principalmente *P. pubescens*) e de um produto diferenciado. As respostas à adubação nitrogenada mostraram que podem ser obtidos aumentos significativos na produção de massa vegetal e frutos, com incremento de N, porém, acima de 350 kg ha<sup>-1</sup> não parece justificar este investimento, se consideradas as duas espécies. Isoladamente, *P. pubescens* respondeu melhor a esta dose, mas sugere-se o uso de 300 kg ha<sup>-1</sup>. No caso da atividade da NR, novos ensaios devem ser realizados para verificar se os resultados obtidos se confirmam, principalmente em associação com outros nutrientes, como por exemplo o potássio, ou mesmo micronutrientes, além de coletas em diferentes períodos após a adubação.

## REFERÊNCIAS

ALVARENGA, M. **Tomate: Produção em campo, em casa de vegetação e em hidroponia**. Lavras: UFLA, 2004.

AMINIFARD, M. H.; AROIEE, H., FATEMI, H.; AMERI, A.. Performace of eggplant (*Solanum melongena L.*) and sweet pepper (*Capsicum annuum L.*) in intercropping system under different rates of nitrogen. **Hort. Environ. Biotechnol.** v.51, n.5, p. 367-372, Jun., 2010.

ARATANI, R.G.; FERNANDES, F. M.; MELLO, L. M. M. Adubação nitrogenada de cobertura na cultura do milho irrigado, em sistema plantio direto. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia** v. 9, 2006. Disponível em: [http://www.revista.inf.br/agro09/notas/NOTA01%20\(1\).pdf](http://www.revista.inf.br/agro09/notas/NOTA01%20(1).pdf). Acessado em 20 de abril de 2013.

ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, v.24, n.1, p.1-15, 1949.

BARRETO, D. C. S.; GONÇALVES, J. F. C.; SANTOS Jr., U. M.; FERNANDES, A. V.; BARIANI, A.; SAMPAIO, P. T. B. Biomass accumulation, photochemical efficiency of photosystem activity in young rosewood plants (*Aniba rosaeodora* Ducke) submitted to different NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ratios. **Acta Amazonica**, v. 37, n. 4, 2007.

BEEVERS, L.; HAGEMAN, R.H. Nitrate and nitrite reduction. In: B.J. Mifflin (ed.). **The biochemistry of plants**, v. 5, p. 115-168, New York, 1980.

BRADFORD, M. M. Rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing principle of protein dye binding. **Anal. Biochem.**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRIGHENTI, A. F. **A cultura da *Physalis***. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. 12p, 2011. Disponível em [www.fit.ufsc.br/disciplinas\\_download.php?cod=1924](http://www.fit.ufsc.br/disciplinas_download.php?cod=1924)

BRITO, D. M. C.; SANTOS, C. D.; GONÇALVES, F. V.; CASTRO, R. N.; SOUZA, S. R. Effects of nitrate supply on plant growth, nitrogen, phosphorus and potassium accumulation, and nitrate reductase activity in crambe. **Journal of Plant Nutrition**, v. 36, n. 2, p. 275-283, 2013.

CAMPOS, V. B.; OLIVEIRA, A. P.; CAVALCANTE, L. F.; PRAZERES, S.S. Rendimento do pimentão submetido ao nitrogênio aplicado via água de irrigação em ambiente protegido. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 8, n. , p.72-79, 2008.

CARDOSO, A. D.; ALVARENGA, M. A. R.; MELO, T. L.; VIANA, A. E. S.; MATSUMOTO, N. Índice SPAD no limbo foliar da batateira sob parcelamentos e doses de nitrogênio e potássio. **Revista Ciência Agronômica**. Fortaleza v. 42, n. 1, p. 159-167, mar., 2011.

CASTRO, A.; RODRIGUEZ, L.; VARGAS, E. Dry gooseberry (*Physalis peruviana* L) with pretreatment of osmotic dehydration. **Vitae - Revista de la Facultad de Química Farmacéutica**, v. 15, n. 2, p. 226-231, 2008.

CHAVES, AC; SCHUCH, MW; ERIG, AC. Estabelecimento e multiplicação *in vitro* de *Physalis peruviana* L. **Revista Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. , p. 1281-1287, 2005.

CHENG, C.L.; ACEDO, G. N.; DEWDNEY, J.; GOODMAN, H. M.; CONKLING, M. A. Differential expression of the two *Arabidopsis* nitrate reductase genes. **Plant Physiology**. v. 96, n. 1, p. 275-279, 1991.

CITADIN, I.; BERTUOL O.; BASSANI, M. H.; SOUSA R. N.; PINOTTI, L. C. A.; SOLETTI, T.. Controle da ferrugem da folha de pessegueiro mediante pulverizações com diferentes fungicidas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. , p.317-319, 2005.

COELHO F. S.; FONTES, P. C. R.; FINGER, F. L.; CECON, P. R. Avaliação do estado nutricional do nitrogênio em batateira por meio de polifenóis e clorofila na folha. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 4, p.584-592, 2012.

COELHO, F. S.; FONTES, P. C. R.; PUIATTI, M.; NEVES, J. C. L.; SILVA, M. C. C.. Dose de nitrogênio associada à produtividade de batata e índices do estado de nitrogênio na folha. **R. Bras. Ci. Solo**, v. 34, p. 1175-1183, abril, 2010.

COSTA, K. A. P.; ARAÚJO, J. L.; FAQUIN, V.; OLIVEIRA, I. P.; FIGUEIREDO, F. C.; GOMES, K. W. Extração de macronutrientes pela fitomassa do capim-xaraés em função de doses de nitrogênio e potássio. **Ciência Rural**, v. 38, n. 4, p.1162-1166, 2008.

CRAWFORD, N. M.; CAMPBELL, W. H.; DAVIS, R. W. Nitrate reductase from squash: cDNA cloning and nitrate regulation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 83, n. 21, p. 8073-8076, 1986.

DAMASCENO, L. A.; GUIMARÃES, M. A.; GUIMARÃES, A. R.. Produtividade de beterraba em função de doses de nitrogênio. **Horticultura Brasileira** v. 29, n.1 , p. 3694-3701. (Suplemento CD-ROM). 2011.

DAMU, A.G.; KUO, P.-C.; SU, C-R; KUO, T-H; CHEN, T-H; BASTOW, KF; L. E. E, K-H; WU, T-S. Isolation, structures, and structure-sytotoxic activity relationships of withanolides and physalins from *Physalis angulata*. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 1 , p. 1146-1152, 2007.

DONATO, V. M. T. S.; ANDRADE, A. G.; SOUZA, E. S.; FRANÇA, J. G. E.; MACIEL, G. A. Atividade enzimática em variedades de cana-de-açúcar cultivadas *in vitro* sob diferentes níveis de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, n. 11, p. 1087-1093, 2004.

EL-SHEIKHA, A. F.; ZAKI, M.; BAKR, A.; EL HABASHY, M.; MONTET, D.. Physico-chemical properties and biochemical composition of *Physalis* (*Physalis pubescens* L.) fruits. **Food**, v. 2, n. 1 , p. 124-130, 2008.

EL-TOHAMY, W. A.; EL-ABAGY, H. M.; ABOU-HUSSEIN, S. D.; GRUDA, N. Response of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) to nitrogen application under sandy soil conditions. **Gesunde Pflanzen**, v. 61, n. 1 , p. 123-127, 2009.

ERASMO, E. A. L.; PINHEIRO, L. L. A.; COSTA, N. V. Levantamento fitossociológico das comunidades de plantas infestantes em áreas de produção de arroz irrigado cultivado sob diferentes sistemas de manejo. **Planta Daninha**, v. 22, n. 1 , p. 195-201, 2004.

FERREIRA, M. M. M; FERREIRA, G. B; FONTES, P. C. R.. Eficiência da adubação nitrogenada do tomateiro em duas épocas de cultivo. **Revista Ceres**, v. 57, n. 1 , p. 263-273, 2010.

FRIEMANN, A.; BRINKMANN, K.; HACHTEL, W. Sequence of a cDNA encoding the bi-specific NAD(P)H-nitrate reductase from the tree *Betula pendula* and identification of conserved protein regions. **Molecular and General Genetics**, v. 227, n. 1, p. 97-105, 1991.

GARBIN, M. L.; DILLENBURG, L. R. Effects of different nitrogen sources on growth, chlorophyll concentration , distribution in *Araucaria angustifolia*. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 20, n.1 4, 2008.

HASSANIEN, M. F. R.. *Physalis peruviana*: a rich source of bioactive phytochemicals for functional foods and pharmaceuticals. **Food Reviews International**, v. 27, n. , p. 259–273, 2011.

HOFFMANN, A. Apresentação. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 1., 2003, Bento Gonçalves. Anais... Bento Gonçalves: [s.n.], 2003. p. 6.

JAWORSKI, E. G. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. Orlando, v.43, n.6, p.1274-1279, 1971.

JONES, R. W.; SHEARD, R. W. Conditions affecting *in vivo* nitrate reductase activity in chlorophyllous tissues. **Canadian Journal of Botany**, v. 55, n. 8, p. 896-901, 1977.

KANO, C; SALATA, A. C.; HIGUTI, A. R. O; GODOY, A. R.; CARDOSO, A. I. I.; EVANGELISTA, R. M. Produção e qualidade de couve-flor cultivar Teresópolis gigante em função de doses de nitrogênio. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n.2 , p. 453-457, 2010.

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. 2.ed. São Paulo: BASF Brasileira, 2000. v. 3. p. 159-162.

LAVRES Jr., J.; SANTOS Jr., J. D. G.; MONTEIRO, F. A. Nitrate reductase activity and SPAD readings in leaf tissues of guinea grass submitted to nitrogen and potassium rates. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 3, p. 801-809, 2010.

LI, Y. Z.; PAN, Y. M.; HUANG, X. Y.; WANG, H. S. Withanolides from *Physalis alkekengi* var. francheti. **Helvetica Chimica Acta**, v. 91, n.12, p. 2284-2291, 2008.

LIMA FILHO, S. A.; NEPTUNE, A. M. L. Efeitos da adubação com N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e NH<sub>4</sub><sup>+</sup> na produção de massa, nas concentrações de nitrogênio e na atividade da redutase no nitrato em *Vigna unguiculata* (L.) Walp. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 39, n. 2, 1982.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**, Nova Odessa: Plantarum, 2008.

MAGALHÃES, H. I. F. **Atividade antitumoral (*in vitro* e *in vivo*) das fisalinas isoladas de *Physalis angulata* Lin.** Fortaleza: UFC. 101p (Dissertação de mestrado), 2005.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas.** São Paulo: Agronômica Ceres, 2006.

MELZER, J. M.; KLEINHOF, A.; WARNER, R. L. Nitrate reductase regulation: effects of nitrate and light on nitrate reductase mRNA accumulation. **Molecular and General Genetics**, v. 217, n. 2-3, p. 341-346, 1989.

MENDONÇA, V.; FERREIRA, E. A.; PAULA, Y. C. M.; BATISTA, T. M. V.; RAMOS, J. D.. Crescimento de mudas de maracujazeiro amarelo influenciado por doses de nitrogênio e de superfosfato simples. **Caatinga**, v. 20, n. , p. 137-143, 2007.

MENDONÇA, V.; PEDROSA, C.; FELDBERG, N. P.; ABREU, N. A. A.; BRITO, A. P. F.; RAMOS, J. D.. Doses de nitrogênio e superfosfato simples no crescimento de mudas de mamoeiro “formosa”. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. , p.1065-1070, 2006.

MORALES, R. G. F.; FARIA, M. V.; RESENDE, J. T. V.; RISSINI, A. L. L.; CARMINATTI, R.; FARIA, C. M. D. R. Produtividade do morangueiro em função da adubação orgânica complementar em cultivo protegido. **Ambiência**, v. 8, n. , p. 23-33, 2012.

MUNIZ, J.; KRETZSCHMAR, A. A.; RUFATO, L.; SILVEIRA, F. N.; BRIGHENTI, L. M.; SABATINO, R. S.. Plantas de fisalis (*Physalis peruviana* L.) submetidas à adubação química e orgânica. **Cadernos de Agroecologia**, v. 6, n. , p. 1-5, 2011.

PAGOT, E.; HOFFMANN, A. Produção de pequenas frutas. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 1., 2003, Vacaria. Anais ... Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2003. p. 9-17. (Embrapa Uva e Vinho. Documentos, 37).

PEIXOTO, N; PEIXOTO, F. C.; VAZ, U. L.; NERI, S. C. M.; MONTEIRO, J. G. Adubação orgânica e cobertura do solo no crescimento e produção de camapu. **Horticultura Brasileira**, v. 28, n. , p. 370-372, 2010.

PESSOA, A. C. S.; RIBEIRO, A. C.; CHAGAS, J. M. CASSINI, S. T. A. Atividade de nitrogenase e redutase de nitrato e produtividade do feijoeiro “ouro negro” em

resposta à adubação foliar com molibdênio. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, n. 1, p. 217-224, 2001.

QUADROS, B. R.; SILVA, E. S.; BORGES, L. S.; MOREIRA, C. A. MORO, A. L.; BÔAS, R. L. V.. Doses de nitrogênio na produção de rabanete fertirrigado e determinação de clorofila por medidor portátil nas folhas. **Irriga**. Botucatu, v. 15, n. 4, p. 353-360, dezembro 2010.

REIS, A. R.; FURLANI Jr., E.; HAGA, K. I. Atividade da redutase do nitrato em folhas de cafeeiro em função da adubação nitrogenada. **Acta Scientiarum Agronômica**, v. 29, n. 2, p. 269-276, 2007.

REIS, A. R.; FURLANI, E. J.; BUZETTI, S.; ANDREOTTI, M.. Diagnóstico da exigência do cafeeiro em nitrogênio pela utilização do medidor portátil de clorofila. **Bragantia**. Campinas v. 65, n. 1, p. 163-171, 2006.

REYES-REYES, E. M.; JIN, Z.; VAISBERG, A. J.; HAMMOND, G. B.; BATES, P. J.. Physangulidine A, a withanolide from *Physalis angulata*, perturbs the cell cycle and induces cell death by apoptosis in prostate cancer cells. **Journal of Natural Products**, v. 76, n. 1, p. 2-7, 2013.

RODRIGUES, E.; ROCKENBACH, I. I.; CATANEO, C.; GONZAGA, L. V.; CHAVES, E. S.; FETT, R.. Minerals and essential fatty acids of the exotic fruit *Physalis peruviana* L. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n.1, p. 642-645, 2009.

ROUZÉ, P.; CABOCHE, M. Nitrate reduction in higher plants: molecular approaches to function and regulation. In: WRAY, J. L. **Inducible plant proteins**. Cambridge: Cambridge University Press, p. 45-77, 1992.

ROY, S. S.; KHAN, M.S.I.; PALL, K. K. Nitrogen and phosphorus efficiency on the fruit size and yield of Capsicum. **Journal of Experimental Sciences**, v. 2, n.1, p. 32-37, 2011.

RUFATO, L.; RUFATO, A. R.; SCHLEMPER, C.; LIMA, C. S. M.; KRETZSCHMAR, A. A. **Aspectos técnicos da cultura da *physalis***. Pelotas: UDESC, 2008.

SANT'ANA, E. V. P.; SILVEIRA, P. M. Crescimento do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) influenciado por doses de nitrogênio em cobertura. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 38, n.1, p. 134-140, 2008.

SHI, Jin-lin; JIANG, Yue-li; ZHANG, Hui. Effects of different nitrogen application rate on agronomic traits, yield and chlorophyll content in flue-cured tobacco. **Yuxi Agriculture Vocation**. Yuxi, v. 12, n.40, p. 1582 – 1585, 2009.

SILVA, F. A. S; AZEVEDO, C. A. V. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 4, n.1 , p. 71-78, 2002.

SILVA, S. M.; OLIVEIRA, L. J.; FARIA, F. P.; REIS, E. F.; CARNEIRO, M. A. C.; SILVA, S. M. Atividade da enzima nitrato redutase em milho cultivado sob diferentes níveis de adubação nitrogenada e potássica. **Ciência Rural**, v. 41, n. 11, p. 1931-1937, 2011.

SOARES, M. B. P.; BRUSTOLIM, D.; SANTOS, L. A.; BELLINTANI, M. C.; PAIVA, F. P.; RIBEIRO, Y. M.; TOMASSINI, T. C. B.; SANTOS, R. R. Physalins B, F and G, seco-steroids purified from *Physalis angulata* L., inhibit lymphocyte function and allogeneic transplant rejection. **International Immunopharmacology**, v. 6, n.1 , p. 408-414, 2006.

SOUZA, H. A.; PIO, R.; CHAGAS, E. A.; REIS, J. M. R.; RODRIGUES, H. C. A.; RAMOS, J. D.; MENDONÇA, V. Doses de nitrogênio e fósforo na formação de mudas de tamarindo. **Bioscience Journal**, v. 23, n. , p. 59-64, 2007.

SOUZA, V. F.. **Influencia de fatores na expressao da atividade da redutase do nitrato em tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.)**. Viçosa: UFV, 1994.

TEIXEIRA, I.R.; KIKUTI, H.; BORÉM, A. Crescimento e produtividade de algodoeiro submetido a cloreto de mepiquat e doses de nitrogênio. **Bragantia**, v. 67, n. , p. 891-897, 2008.

TOMASSINI, T. C. B.; BARBI, N. S.; RIBEIRO, I. M.; XAVIER, D. C. D. Gênero *Physalis* – uma revisão sobre vitaesteróides. **Química Nova**, v. 23, n.1 , p. 47-57, 2000.

VEASEY, E.A.; PIOTTO, F. A.; NASCIMENTO, W. F.; RODRIGUES, J. F.; MEZETTE, T. F.; BORGES, A.; BIGUZZI, F. A.; SANTOS, F. R. C.; SOBIERAJSKI, G. R.; RECCHIA, G. H.; MISTRO, J. C. Processos evolutivos e a origem das plantas cultivadas. **Ciência Rural**, v. 41, n.1 , p. 1218-1228, 2011.

WHITSON, M.. *Calliphysalis* (Solanaceae): a new genus from Southeastern USA. **Rhodora**, v. , n.114, p. 133-147, 2012.

WILLOWS, R. D. Chlorophylls. In: DAVIES, K. M. (ed.). **Plant Pigments and their Manipulation**. Oxford: Blackwell Publishing, p. 23-56 2004.