

RAÍSSA COUTEIRO MOURA

CULTIVO IN VITRO DE *Physalis angulata* L. (Solanaceae)

BELÉM
2017

RAÍSSA COUTEIRO MOURA

CULTIVO IN VITRO DE *Physalis angulata* L. (Solanaceae)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, modalidade Biologia da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Biologia.

Orientador: Dr. Osmar Alves Lameira, Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia – Embrapa Amazônia Oriental.

Coorientador: Marly Pedroso da Costa, Universidade Federal do Pará.

BELÉM

2017

RAÍSSA COUTEIRO MOURA

CULTIVO *IN VITRO* DE *Physalis angulata* L. (Solanaceae)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas, modalidade Biologia da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Biologia.

Orientador: Dr. Osmar Alves Lameira
Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia – Embrapa
Amazônia Oriental

Coorientador: Marly Pedroso da Costa
Universidade Federal do Pará

Avaliador: Ilmarina Campos de Menezes
Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia – Embrapa
Amazônia Oriental

Avaliador: Simone de Miranda Rodrigues
Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia – Embrapa
Amazônia Oriental

BELÉM

2017

“Em um lugar escuro nos encontramos, e um pouco mais de conhecimento ilumina nosso caminho.”

Mestre Yoda, Star Wars

Dedico a minha mãe.

Agradecimentos

Inicialmente agradeço a minha Mãe, que, mesmo diante de todas as dificuldades que passamos, fez e ainda faz o impossível para que eu possa estudar. Muito obrigada por sempre ter me mostrado a realidade da vida e ter me preparado para o mundo. Obrigada por todos os anos de dedicação e amor, pelos puxões de orelha e conselhos. A senhora é e sempre será o maior orgulho da minha vida.

Aos meus avós, principalmente minhas avós Odete e Renilda, pelo amor e carinho, por todo o apoio e mimos. Vocês são as melhores avós do mundo. Aos meus tios Paulo e Rosana, que sempre me incentivaram a seguir na vida acadêmica e nunca desistiram de mim. A minha tia Giselle por toda ajuda e por sempre me animar com seu jeito único. Aos meus primos Camila e Paulinho pelas brigas, pelas bagunças, pela companhia nos momentos bons e por me ajudarem a passar pelos momentos ruins, vocês são os irmãos que eu não tive. A minha família por todo o apoio, paciência e carinho.

A Dra. Márlia pela oportunidade inicial de realizar o sonho de estudar plantas medicinais. Obrigada pelo aprendizado, pelas viagens, por todo o apoio e ajuda de todos do laboratório de etnobotânica. Sempre serei grata pelo que aprendi com vocês.

Ao meu atual orientador Dr. Osmar pelo voto de confiança, por todo o conhecimento compartilhado comigo. Obrigada pela dedicação e pelo incentivo a continuar estudando e ingressar em um mestrado. Obrigada também pela dedicação e paciência que o senhor sempre teve comigo. A minha coorientadora Dra. Marly pelo apoio, amizade e por toda a ajuda que me deu no laboratório.

A todos do laboratório de biotecnologia por todo o apoio. Aos meus colegas de laboratório Jamille, Diene, Kelly, Dani, Fernanda, Luana, Orlando, Marlon, Lana, Rosana e seu Gil pelas conversas, momentos divertidos e por toda a ajuda que me deram enquanto estive na Embrapa.

Aos meus professores e colegas de turma, que me aguentaram durante quatro anos, muito obrigada pela paciência, festas, coleguismo, ajuda nas horas de desespero, pelo IFT e por Algodual. Vocês foram a melhor turma. Aos meus inseparáveis amigos Yuri, Lorena, Marília e Brenda, obrigada por todos os

momentos incríveis, por toda a ajuda, por todas as loucuras compartilhadas e pelos conselhos. Vocês tornaram a graduação maravilhosa e serão sempre muito amados por mim. A Tayná, que sempre me apoiou em todas as decisões e é a melhor amiga que eu poderia ter.

Muito obrigada a todos.

SUMÁRIO

RESUMO.....
ABSTRACT
INTRODUÇÃO.....
MATERIAL E MÉTODOS
RESULTADOS E DISCUSSÃO
CONCLUSÕES.....
REFERÊNCIAS

RESUMO

A *Physalis angulata*, conhecida popularmente como camapú, pertence à família Solanaceae. Possui propriedades medicinais dentre elas ações imunomoduladoras, antimicrobianas, antitumorais, moluscicidas, antiparasitárias, antivirais e antineoplásicas. Os meios de cultura se baseiam nas exigências nutricionais das plantas, sendo adequados às necessidades de cada espécie/genótipo e cultivo *in vitro*. Desta forma, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito do meio de cultura MS no cultivo *in vitro* de *P. angulata* proveniente de três acessos diferentes na ausência de regulador de crescimento. O trabalho foi realizado no Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia Vegetal na Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA. Foram utilizadas três concentrações de meios de cultura sólidos: MS, $\frac{1}{2}$ MS e $\frac{1}{4}$ MS, cada concentração de meio possuía sete repetições com dois frascos, e, cada frasco continha três explantes. Havendo um experimento com a mesma quantidade de tratamentos e repetições para cada acesso. As variáveis avaliadas foram número de raízes, número de brotações, comprimento da maior raiz e comprimento do maior broto e os fatores foram Acesso x Concentração. Para análise estatística foi utilizado o programa Assistat. Houve brotação e enraizamento em todas as concentrações de meio MS. Não ocorreu diferença estatisticamente significativa para todas as variáveis brotos e raízes avaliadas sob diferentes concentrações do meio de cultura MS, entretanto, para o fator Acesso a variável número de brotações apresentou diferença significativa. Plântulas foram regeneradas na ausência de regulador de crescimento e posteriormente aclimatizadas.

Palavras chave: camapú; micropropagação; fitoterápicos.

ABSTRACT

Physalis angulata, popularly known as camapú, belongs to the Solanaceae family. It has medicinal properties such as immunomodulatory, antimicrobial, antitumor, molluscicidal, antiparasitic, antiviral and antineoplastic actions. The culture media are based on the nutritional requirements of the plants, being adapted to the needs of each species / genotype on the in vitro culture. Thus, this study aimed to evaluate the effect of MS culture medium on the in vitro culture of *P. angulata* from three different accessions in the absence of growth regulator. The work was carried out at the Laboratory of Genetic Resources and Plant Biotechnology at Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA. Three concentrations of solid culture media were used: MS, $\frac{1}{2}$ MS and $\frac{1}{4}$ MS, each medium concentration had seven replicates with two vials, and, each flask contained three explants. There was an experiment with the same amount of treatments and repetitions for each access. The variables evaluated were number of roots, number of shoots, length of the largest root and length of the largest shoot and the factors were Access x Concentration. For statistical analysis, the Assistat program was used. There was sprouting and rooting at all concentrations of MS medium. There was no statistically significant difference for all the shoots and roots variables evaluated under different concentrations of the MS medium, however, for the factor Access to the variable number of shoots showed a significant difference. Seedlings were regenerated in the absence of growth regulator and subsequently acclimatized.

Keywords: camapú; micropropagation; phytotherapics.

**APRESENTAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO
ARTIGO**

CULTIVO *IN VITRO* DE *Physalis angulata* L. (SOLANACEAE)

O trabalho seguiu as normas da Enciclopédia Biosfera

CULTIVO *IN VITRO* DE *Physalis angulata* L. (SOLANACEAE)

Raissa Couteiro Moura¹, Osmar Alves Lameira², Keila Jamille Alves Costa³,
Rafael Marlon A. de Assis⁴

1Graduanda em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará,
(raissacouteiro@outlook.com) Belém, Pará, Brasil.

2 Eng. Agrônomo Dr. Pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária,
Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pará, Brasil.

3 Graduanda da UFRA, bolsista PIBIC Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pará,
Brasil.

4 Graduando da UFRA, bolsista PIBIC Embrapa Amazônia Oriental, Belém, Pará,
Brasil

RESUMO

A *Physalis angulata*, conhecida popularmente como camapú, pertence à família Solanaceae. Possui propriedades medicinais dentre elas ações imunomoduladoras, antimicrobianas, antitumorais, moluscicidas, antiparasitárias, antivirais e antineoplásicas. Os meios de cultura se baseiam nas exigências nutricionais das plantas, sendo adequados às necessidades de cada espécie/genótipo e cultivo *in vitro*. Desta forma, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito do meio de cultura MS no cultivo *in vitro* de *P. angulata* proveniente de três acessos diferentes na ausência de regulador de crescimento. O trabalho foi realizado no Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia Vegetal na Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA. Foram utilizadas três concentrações de meios de cultura sólidos: MS, ½MS e ¼MS, cada concentração de meio possuía sete repetições com dois frascos, e, cada frasco continha três explantes. Havendo um experimento com a mesma quantidade de tratamentos e repetições para cada acesso. As variáveis avaliadas foram número de raízes, número de brotações, comprimento da maior raiz e comprimento do maior broto e os fatores foram Acesso x Concentração. Para análise estatística foi utilizado o programa Assistat. Houve brotação e enraizamento em todas as concentrações de meio MS. Não ocorreu diferença estatisticamente significativa para todas as variáveis brotos e raízes avaliadas sob diferentes concentrações do meio de cultura MS, entretanto, para o fator Acesso a variável número de brotações apresentou diferença significativa. Plântulas foram regeneradas na ausência de regulador de crescimento e posteriormente aclimatizadas.

Palavras chave: camapú; micropropagação; fitoterápicos.

IN VITRO CULTURE OF *Physalis angulata* L. (SOLANACEAE)

ABSTRACT

Physalis angulata, popularly known as camapú, belongs to the Solanaceae family. It has medicinal properties such as immunomodulatory, antimicrobial, antitumor, molluscicidal, antiparasitic, antiviral and antineoplastic actions. The culture media are based on the nutritional requirements of the plants, being adapted to the needs of each species / genotype on the in vitro culture. Thus, this study aimed to evaluate the effect of MS culture medium on the in vitro culture of *P. angulata* from three different accessions in the absence of growth regulator. The work was carried out at the Laboratory of Genetic Resources and Plant Biotechnology at Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA. Three concentrations of solid culture media were used: MS, ½MS and ¼MS, each medium concentration had seven replicates with two vials, and, each flask contained three explants. There was an experiment with the same amount of treatments and repetitions for each access. The variables evaluated were number of roots, number of shoots, length of the largest root and length of the largest shoot and the factors were Access x Concentration. For statistical analysis, the Assistat program was used. There was sprouting and rooting at all concentrations of MS medium. There was no statistically significant difference for all the shoots and roots variables evaluated under different concentrations of the MS medium, however, for the factor Access to the variable number of shoots showed a significant difference. Seedlings were regenerated in the absence of growth regulator and subsequently acclimatized.

Keywords: camapu; micropropagation; phytotherapics.

INTRODUÇÃO

A *Physalis angulata*, conhecida popularmente como camapú, pertence à família Solanaceae. Segundo Vasconcellos (1998), trata-se de uma planta anual, herbácea, ereta, que mede até um metro de altura e se reproduz através de sementes. De acordo Hunziker (2001) o gênero *Physalis* possui distribuição cosmopolita tropical, ocorrendo desde o sul da América do Norte até a América do Sul, com centros de diversidade no México, Estados Unidos e na América Central.

De acordo com Tomassini et al. 2000 e Lopes et al. 2006, os principais metabólitos produzidos no gênero são conhecidos como fisalinas, esteroides com diversas atividades comprovadas, como imunomoduladora, antimicrobiana, antitumoral, moluscicida, antiparasitária, antiviral e antineoplásica, mostrando a veracidade do potencial medicinal da *P. angulata*. O camapú também tem sido

amplamente utilizado como iguaria na culinária, sendo produto de interesse seus frutos que, segundo Freitas e Osuña (2006) são pequenos e redondos, com coloração alaranjada quando maduros envolvidos por sépalas em forma de balão. Desta forma, o camapú tem se mostrado uma espécie de grande importância econômica dentre as plantas medicinais tanto por seu potencial fitoterápico, quanto pelo aumento de sua utilização na culinária.

Na cultura de tecidos vegetais *in vitro* os meios de cultura juntamente com a luminosidade, a temperatura e as condições fitossanitária do explante, determinam a qualidade das plântulas que surgirão. Por tais condições Santos-Serejo et al., (2006) afirmam que os meios de cultura se baseiam nas exigências nutricionais das plantas, sendo adequados às necessidades de cada espécie/genótipo e cultivo *in vitro*. Nesse sentido, o trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da concentração do meio de cultura MS (Murashige e Skoog, 1962) no desenvolvimento de acessos de *Physalis angulata* L.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia Vegetal na Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA. Para o experimento foram utilizados meios de cultura MS em três concentrações: MS, ½ MS e ¼ MS, respectivamente, com a concentração completa, metade e um quarto da concentração de sais e três acessos, Benevides, Manaus e Distrito Federal, respectivamente, procedentes dos estados do Pará e Amazonas e Brasília. Não foi utilizado nenhum regulador de crescimento. Para cada tratamento foi utilizado sete repetições, e, para cada repetição, foram usados dois frascos contendo três explantes (segmento caulinar nodal) e 20 mL de meio de cultura solidificados com 0,2% de phytigel.

Os explantes foram provenientes de plântulas de cultivo *in vitro* dos respectivos acessos (Figura 1). O material foi mantido em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 3 °C e fotoperíodo de 16h luz branca fria e radiação fotossintética ativa de $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

A avaliação ocorreu 20 dias após a inoculação dos explantes, e para a avaliação do número de raízes, número de brotações, comprimento da maior raiz e comprimento do maior broto foi utilizado uma régua de 30 cm de comprimento. As medições foram realizadas diretamente nas plântulas, que após a triagem foram encaminhadas para o Horto de Plantas Medicinais da Embrapa Amazônia Oriental para aclimatização.

O delineamento experimental utilizado foi o fatorial, envolvendo três acessos e três concentrações do meio de cultura MS. Para análise estatística das variáveis em relação aos fatores utilizou-se o programa Assistat.

Figura 1. *Physalis angulata* cultivada in vitro



Foto: Raissa Moura, 2016

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve brotação e enraizamento de plântulas em todos os tratamentos (Tabela 1), embora não tenha ocorrido diferença estatisticamente significativa entre as médias das variáveis, número de raízes, comprimento de brotos e de raízes. Entretanto, ocorreu diferença significativa para número de brotos entre os acessos, onde a maior média (1,64) foi obtida no tratamento envolvendo o acesso Benevides e a menor média (0,80) o acesso Distrito Federal, ambos na presença de $\frac{1}{4}$ MS. Essa diferença pode ser atribuída às procedências dos genótipos.

Pode-se observar que alguns tratamentos que obtiveram maiores médias foram com as concentrações de $\frac{1}{4}$ MS, corroborando com o trabalho realizado por Oliveira et al. (2016), no qual as plântulas inoculadas em meios de cultura com menor concentração salina obtiveram melhor desenvolvimento.

Tabela 1: Valores médios de número de brotos (NB), número de raízes (NR), comprimento de broto (CB) e comprimento da raiz (CR) em diferentes concentrações do meio MS aos 20 dias de cultivo.

Concentração	Acessos											
	Distrito Federal				Amazonas				Benevides			
	NB	NR	CB	CR	NB	NR	CB	CR	NB	NR	CB	NR
MS	0,92Aa	3,78Aa	1,82Aa	2,26Aa	1,16Aa	1,46Aa	0,94Aa	1,48Aa	1,36Aa	2,46Aa	1,80Aa	1,04Aa
$\frac{1}{2}$ MS	1,28Aa	2,44Aa	1,98Aa	2,38Aa	1,58Aa	0,96Aa	1,72Aa	0,74Aa	1,40Aa	1,72Aa	1,68Aa	1,32Aa
$\frac{1}{4}$ MS	0,80Ab	1,68Aa	1,58Aa	2,38Aa	1,54Aa	2,42Aa	1,82Aa	1,54Aa	1,64Aa	2,58Aa	1,56Aa	1,76Aa

Médias seguidas com a mesma letra minúscula na horizontal e maiúscula na vertical não diferem significativamente entre si pelo teste de Tuckey.

Rodrigues et al., (2013), avaliando diferentes concentrações de sais do meio MS (0, 25, 50, 75 e 100%) no cultivo in vitro de *Physalis 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⁻¹ 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.

A composição do meio de cultura, formada por macro e micronutrientes, além de compostos orgânicos, apresenta grande influência no crescimento das plantas in vitro. Nesse sentido, na cultura de células vegetais, deve-se, em primeira instância, estabelecer o meio adequado para o seu cultivo (Drapeu et al., 1986).

CONCLUSÃO

Houve efeito do meio de cultura MS no desenvolvimento dos acessos de *Physalis angulata* com destaque para a concentração ¼ MS no número de brotos.

REFERÊNCIAS

Drapeau, D.; Blanch, H.W.; Wilke, C.R. Growth kinetics of *Dioscorea deltoidea* and *Catharanthus roseus* in batch culture. **Bioengineering and Biotechnology**, v.28, p.1555–1563, 1986.

FREITAS, T. A.; OSUÑA, J. T. A. Efeito do substrato e da luminosidade na germinação de sementes de *Physalis angulata* L. (Solanaceae) **Sitientibus: Série Ciências Biológicas** v. 6, n. 2, p. 101-104. 2006.

HUNZIKER, A.T. The genera of Solanaceae. A.R.G. GantnerVerlag K.-G National Research Council (1989). Culturas Perdida dos Incas. Washington DC: **National Academy Press**, p. 307-316. 2001.

LOPES, D.C.D.X.P.; FREITAS, Z.M.F.; SANTOS, E.P.; TOMASSINI, T.C.B. Atividade antimicrobiana e fototóxica de extratos de frutos e raízes de *Physalis angulata* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.2, p.206–210, 2006.

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

OLIVEIRA L. M.; SILVA C. S; PEREIRA D. M. S.; LUCCHESI A. M.; SANTANA J. R. F. Estabelecimento in vitro e crescimento inicial de *Physalis angulata* (Solanaceae). **Sitientibus: Série Ciências Biológicas**, v.13, p.1-5, 2016.

Rodrigues, F.A.; Penoni, E.S.; Soares, J.D.R.; Pasqual, M. Diferentes concentrações de sais do meio MS e BAP na multiplicação in vitro de *Physalis peruviana* L. **Bioscience Journal**, v.29, n.1, p.77–82. 2013.

SANTOS-SEREJO, J.A.; JUNGHANS, T.G.; SOARES, T.L.; SILVA, K.M. **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. 2006.

Silva, K.N.; Agra, M.F. **Estudo farmacobotânico comparativo entre *Nicandra physalodes* e *Physalis angulata* (Solanaceae)**. **Revista Brasileira Farmacognesia**, v.15, p.344-351, 2005.

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.

VASCONCELLOS, A. G. **Potencial biotecnológico de *Physalis angulata* L.: uma planta medicinal**. 122 f. Dissertação (Mestrado em ciências biológicas) Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 1998.