

Efeitos de diferentes concentrações de nitrato de Amônio e Nitrato de potássio na micropropagação de *Physalis angulata* L.**Effects of Different concentrations of Ammonium nitrate and potassium nitrate on the micropropagation of *Physalis angulata* L.**

DOI:10.34117/bjdv6n11-067

Recebimento dos originais: 03/10/2020

Aceitação para publicação: 04/11/2020

Osmar Alves Lameira

Doutor em Agronomia (Fitotecnia) pela Universidade Federal de Lavras
Instituição: Embrapa Amazônia Oriental
Endereço: Travessa Dr. Enéas Pinheiro, s/n, Marco, Belém - PA, Brasil.
E-mail: osmar.lameira@embrapa.br

Simone de Miranda Rodrigues

Doutora em Biologia pela Universidade Federal de Viçosa
Instituição: Embrapa Amazônia Oriental
Endereço: Travessa Dr. Enéas Pinheiro, s/n, Marco, Belém - PA, Brasil.
E-mail: simone.rodrigues@embrapa.br

Isis Naryelle Goés Souza

Engenheira Florestal pela Universidade Federal Rural da Amazônia
Instituição: Embrapa Amazônia Oriental
Endereço: Travessa Dr. Enéas Pinheiro, s/n, Marco, Belém - PA, Brasil.
E-mail: isisnaryelle@yahoo.com.br

Meiciane Ferreira Campelo

Doutoranda em Biodiversidade e Biotecnologia pela Rede Bionorte-PPGBionorte
Instituição: Universidade Federal do Pará (UFPA)
Endereço: Rua Augusto Corrêa, 01 – Guamá, Belém – PA, Brasil
E-mail: meicianecampelo@gmail.com

Ruanny Karen Vidal Pantoja Portal Moreira

Doutoranda em Biodiversidade e Biotecnologia pela Rede Bionorte-PPGBionorte
Instituição: Universidade Federal do Pará (UFPA)
Endereço: Rua Augusto Corrêa, 01 – Guamá, Belém – PA, Brasil
E-mail: ruanny_vidal@hotmail.com

Ana Caroline Batista da Silva

Graduanda em Agronomia pela Universidade Federal Rural da Amazônia
Instituição: Embrapa Amazônia Oriental
Endereço: Travessa Dr. Enéas Pinheiro, s/n, Marco, Belém - PA, Brasil.
E-mail: anacarolinebatista79@gmail.com

Mila Cristine Almeida dos Santos

Graduanda em Engenharia Florestal pela Universidade Estadual do Pará
Instituição: Embrapa Amazônia Oriental
Endereço: Travessa Dr. Enéas Pinheiro, s/n, Marco, Belém - PA, Brasil.
E-mail: milachris_almeida@yahoo.com

Allan Christiam Santos Ramires

Graduando em Agronomia pela Universidade Federal Rural da Amazônia
Instituição: Embrapa Amazônia Oriental
Endereço: Travessa Dr. Enéas Pinheiro, s/n, Marco, Belém - PA, Brasil.
E-mail: allanramires15@gmail.com

RESUMO

O camapú (*Physalis angulata* L.) pertence à família Solanaceae, encontra-se distribuída em regiões tropicais e temperada do mundo. Tem se destacado no mercado agroindustrial e apresenta grande potencial farmacológico. A propagação *in vitro* é de fundamental importância para a conservação de espécies cujas propriedades medicinais são forte alvo de pesquisa. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito das diferentes concentrações do composto mineral nitrato de amônio e nitrato de potássio na micropropagação de *Physalis angulata* L. visando à redução de custos do meio de cultura MS. O experimento continha cinco tratamentos meio de cultura sólido MS completo, MS + $\frac{1}{2}$ NH₄NO₃, MS + $\frac{1}{2}$ KNO₃, MS + $\frac{1}{4}$ NH₄NO₃ e MS + $\frac{1}{4}$ KNO₃. Cada tratamento era composto por quatro repetições com dois frascos, e cada frasco contendo 30 mL de meios de cultura com três explantes. As avaliações ocorreram após 30 dias da inoculação para as variáveis, número de brotações, número de raízes, comprimento do maior broto e da maior raiz, além do peso médio de massa fresca e massa seca do matéria vegetal. Não ocorreu diferença significativa para número de brotos e de raízes, e para peso de massa seca. Para comprimento do maior broto, comprimento da maior raiz e peso da massa fresca, os meios de cultura MS completo, MS + $\frac{1}{2}$ NH₄NO₃ e $\frac{1}{2}$ KNO₃ foram os mais significativos, respectivamente.

Palavras-chave: propagação *in vitro*, cultura de tecido, plantas medicinais.

ABSTRACT

The camapú (*Physalis angulata* L.) belongs to the Solanaceae family, is distributed in tropical and temperate regions of the world. It has stood out in the agro-industrial market and has great pharmacological potential. *In vitro* propagation is of fundamental importance for the conservation of species whose medicinal properties are a strong target for research. The objective of this work was to evaluate the effect of different concentrations of the mineral compound ammonium nitrate and potassium nitrate on the micropropagation of *Physalis angulata* L. aiming to reduce the costs of the MS culture medium. The experiment contains five treatments of solid MS complete culture medium, MS + $\frac{1}{2}$ NH₄NO₃, MS + $\frac{1}{2}$ KNO₃, MS + $\frac{1}{4}$ NH₄NO₃ and MS + $\frac{1}{4}$ KNO₃. Each treatment consisted of four replications with two flasks, and each flask containing 30 mL of culture media with three explants. The evaluations took place 30 days after inoculation for the variables, number of sprouts, number of roots, length of the largest sprout and the largest root, in addition to the average weight of fresh and dry matter of plant matter. There was no significant difference for the number of shoots and roots, and for dry weight. For the length of the largest shoot, length of the largest root and weight of the fresh mass, the complete MS, MS + $\frac{1}{2}$ NH₄NO₃ and $\frac{1}{2}$ KNO₃ culture media were the most significant, respectively.

Keywords: *in vitro* propagation, tissue culture, medicinal plants.

1 INTRODUÇÃO

Plantas da família Solanaceae se destacam na flora brasileira, em meio a grande riqueza de espécies com potencial para uso na agricultura e na indústria, isto por ser considerada uma das maiores com distribuição geográfica, e pela alta diversidade de espécies de importância econômica, alimentícia, ornamentação e por propriedades medicinais (BRITANNICA, 2015). Incluso nesta família, sobressai-se o gênero *Physalis*, com mais de 120 espécies herbáceas de hábito perene que são distribuídas principalmente em regiões tropicais e temperadas da América, embora existam algumas espécies na Europa e na Ásia (AM; NIDAVANI, 2014; ZAMORA-TAVARES et al., 2015). Dentre esta ampla variedade de plantas, destaca-se a espécie como *Physalis angulata* Lineu, (TOMASSINI et al., 2000), No Brasil, é conhecido popularmente como "Camapu", "Bucho de Rã", "Juá de Capote" ou "Mata-Fome" (FREITAS et al., 2006).

Várias espécies desse gênero apresentam grande importância econômica e na fruticultura (AM; NIDAVANI, 2014), por produzirem frutos comestíveis com alto valor nutritivo, ricos em carboidratos, vitaminas, minerais, fitoesteróis e antioxidantes (KINDSCHER et al., 2012), muitas espécies de *Physalis* também são conhecidas por sua grande importância etnofarmacológica, sendo utilizadas na medicina popular há muito tempo para tratar diversas doenças (MEDINA-MEDRANO et al., 2015; FENG et al., 2016), como antimalárico, anticarcinogênico, antiasmático, bactericida, antiparasitário, entre diversas outras moléstias (ZHANG; TONG, 2016). Seu suco é considerado como sedativo depurativo e contra o reumatismo (LORENZI, 1982).

Portanto, perante sua importância medicinal, pesquisas envolvendo espécies do gênero *Physalis* tem sido foco de pesquisas em propagação (JUALANG AZLAN et al., 2005; RAMADAN, 2011), e técnicas de cultura de tecidos vegetais *in vitro* têm se mostrado promissoras na produção em larga escala (DE SOUZA, 2018).

Hartmann et al. (2002) consideram a propagação vegetativa e *in vitro* como sendo de fundamental importância para a conservação de espécies cujas propriedades medicinais são forte alvo de pesquisa, como a *Physalis angulata* L. A cultura de tecidos é o cultivo asséptico *in vitro* de células, tecidos, órgãos ou plantas inteiras sob controle nutricional e condições ambientais, que envolvem pH, temperatura, trocas gasosas entre outros fatores.

A cultura de tecidos é o cultivo asséptico *in vitro* de células, tecidos, órgãos ou plantas inteiras sob controle nutricional e condições ambientais, que envolvem pH, temperatura, e trocas gasosas, entre outros fatores. Dentre a importância que os nutrientes minerais exercem, a grande maioria está relacionada ao nitrogênio, visto que é o constituinte de diversos componentes celulares (aminoácidos, ácidos nucleicos e proteínas) e são limitantes no crescimento dos vegetais, sendo o nitrato (NO_3^-) e o amônio (NH_4^+) as principais formas nitrogenadas absorvidas pelas plantas (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Dentre a importância que os nutrientes minerais exercem, a grande maioria está relacionada ao nitrogênio, visto que é o constituinte de diversos componentes celulares (aminoácidos, ácidos nucleicos e proteínas) e são limitantes no crescimento dos vegetais, sendo o nitrato (NO_3^-) e o amônio (NH_4^+) as principais formas nitrogenadas absorvidas pelas plantas (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os meios de cultura usados para o cultivo vegetal são compostos de substâncias orgânicas e inorgânicas que possuem carboidratos, vitaminas, macro e micronutrientes, Dentre os meios de cultura utilizados, o meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) tem sido o mais utilizado.

2 OBJETIVO

O trabalho teve como objetivo avaliar o efeito das diferentes concentrações do composto mineral nitrato de amônio (NH_4NO_3) e nitrato de potássio (KNO_3) na micropropagação de *Physalis angulata* L. visando à redução de custos do meio de cultura MS.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia Vegetal da Embrapa Amazônia Oriental, localizada no município de Belém-PA. O material vegetal utilizado foram plântulas de camapú (acesso de Benevides-PA), previamente cultivadas *in vitro* em meio de cultura MS usadas como fonte de explantes para a condução deste trabalho.

As plântulas foram repicadas e inoculadas em frascos do tipo maionese com capacidade para 250 mL, contendo 30 ml de meio de cultura com as proporções de sais pré-estabelecidas, em condições assépticas. Após a inoculação, os frascos foram acondicionados em sala de crescimento sob fotoperíodo de 16 h de luz branca fria dia^{-1} com intensidade luminosa de $25\mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$ de irradiância e temperatura de $25\pm 3^\circ\text{C}$ e umidade relativa do ar média em torno de 70% durante 30 dias. Os tratamentos utilizados foram: MS completo, MS + $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3 , MS + $\frac{1}{2}$ KNO_3 , MS + $\frac{1}{4}$ NH_4NO_3 e MS + $\frac{1}{4}$ KNO_3 . Não houve uso de regulador de crescimento e os meios de cultura foram suplementados com 3% de sacarose e solidificado com 0,3% de phytigel e pH ajustado para 5.8 e em seguida foram autoclavados por 20 minutos em temperatura de 120°C

O delineamento experimental utilizado neste trabalho foi inteiramente casualizado composto por 5 tratamentos com 4 repetições sendo 2 frascos por repetição contendo 3 explantes cada, totalizando 20 unidades experimentais. A avaliação foi realizada após o período de cultivo de 30 dias.

Para análise dos dados foram aferidas as variáveis de crescimento: número de brotações, número de raízes, comprimento do maior broto e da maior raiz; além do peso fresco e seco da matéria vegetal, após três dias de secagem em estufa a 36°C . Os dados numéricos foram avaliados

estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o software estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a Tabela 1 o número de brotos e número de raízes não foi afetado pelas concentrações de sais, após 30 dias de tratamentos. Porém, o maior número médio de brotos foi observado no tratamento contendo o meio de cultura MS completo com 2,79 brotos e o menor valor médio foi registrado no meio de cultura contendo $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3 com 1,79 brotos. Para o número de raízes o maior valor médio (1,54) foi registrado no meio de cultura contendo $\frac{1}{2}$ KNO_3 e o menor valor médio (0,67) foi obtido no meio de cultura MS completo. O KNO_3 é um importante componente do meio de cultura por ter N e K controlando o desenvolvimento das raízes (RIBEIRO & TEIXEIRA, 2008).

Para o comprimento de brotos constatou-se diferença estatística entre os tratamentos sendo o mais significativo o meio de cultura MS completo com 5,03 cm e o menos significativo o meio de cultura contendo $\frac{1}{4}$ KNO_3 com 1,66 cm em média, não diferindo dos demais tratamentos. Foi observado ainda que na medida em que as concentrações dos sais de nitratos diminuam o comprimento dos brotos também diminuam. Para o comprimento médio da maior raiz verificou-se que as plântulas cultivadas em meio de cultura $\frac{1}{2}$ NH_4NO_3 apresentaram o maior valor significativo (6,90 cm), seguida do $\frac{1}{4}$ NH_4NO_3 (3,80cm) e MS completo (3,21 cm). Scheible et al., (1997), afirmam que a deficiência moderada de N inibe o crescimento da parte aérea e até estimula o da raiz, fato este ocorrido neste trabalho, o que poderia justificar o crescimento radicular mesmo sob baixas concentrações de $\text{NH}_4 \text{NO}_3$.

Tabela 1. Valores médios do nº de brotos, comprimento do maior broto, nº de raízes, comprimento da maior raiz de *Physalis angulata* L. utilizando-se diferentes concentrações dos sais NH_4NO_3 e KNO_3 .

Tratamento	Nº de brotos	Comprimento maior broto (cm)	Nº de raízes	Comprimento maior raiz (cm)
MS completo	2,79 a	5,03 a	0,67 a	3,21 ab
$\frac{1}{2}\text{NH}_4\text{NO}_3$	1,79 a	2,66 b	1,46 a	6,90 a
$\frac{1}{2}\text{KNO}_3$	1,92 a	2,61 b	1,54 a	2,02 b
$\frac{1}{4}\text{NH}_4\text{NO}_3$	1,96 a	2,42 b	1,25 a	3,80 ab
$\frac{1}{4}\text{KNO}_3$	2,16 a	1,66 b	0,84 a	1,78 b
Média geral	2,12	2,87	1,15	3,54

Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si, segundo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Na Tabela 2, estão listadas as médias referentes aos pesos médios de massa fresca e seca. Observa-se que houve diferença estatística entre os tratamentos quanto ao peso da massa fresca. O

mais significativo foi registrado no tratamento contendo $\frac{1}{2}$ KNO₃ com 5,06 g e o menos significativo no meio de cultura com $\frac{1}{4}$ KNO₃ apresentando 2,66 g não diferindo dos demais tratamentos. Não houve diferença significativa no peso da massa seca entre os tratamentos. Sendo observado que, na medida em que as concentrações dos respectivos nitratos diminuam também diminuam os valores dos pesos das matérias fresca e seca.

Tabela 2. Médias dos pesos da massa fresca e da massa seca de *Physalis angulata* L. utilizando-se diferentes concentrações dos sais NH₄NO₃ e KNO₃.

Tratamento	Peso da massa fresca (g)	Peso da massa seca (g)
MS completo	2,72 ab	0,40 a
$\frac{1}{2}$ NH ₄ NO ₃	4,33 ab	0,35 a
$\frac{1}{2}$ KNO ₃	5,06 a	0,43 a
$\frac{1}{4}$ NH ₄ NO ₃	3,40 ab	0,32 a
$\frac{1}{4}$ KNO ₃	2,66 b	0,27 a
Média geral	4,03	2,87

Médias seguidas com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si, segundo teste de Tukey (p<0,05).

Para Capaldi (2002), a forma específica e as concentrações de nitrogênio presente no meio de cultura podem afetar o desenvolvimento vegetal *in vitro* estimulando ou inibindo o desenvolvimento das plântulas. Segundo Silva et al., (2001), ao estudarem as fontes de nitrogênio no desenvolvimento *in vitro* em meio de cultura MS, concluíram que os resultados mais promissores foram obtidos em composição dos sais da fonte KNO₃ associada a altas concentrações de NH₄NO₃ no meio de cultura.

5 CONCLUSÃO

Na micropropagação de *Physalis angulata* houve efeito das diferentes concentrações de NH₄NO₃ e KNO₃ nas variáveis, comprimentos do maior broto e maior raiz e no peso da massa fresca inferindo que possivelmente ocorra redução, nos custos de manutenção da planta no meio de cultura MS, com o uso dos nitratos de amônia e potássio em menores concentrações.

REFERÊNCIAS

- AM, M.; NIDAVANI, R. B. *Physalis Angulata* L.: An Ethanopharmacological Review. **IndoAmerican J Pharm Res**, v. 4, n. 03, p. 1479–1486, 2014.
- BRITANNICA, E. Solanaceae: plant family. The Editors of Encyclopaedia Britannica, , 2015. (**Nota técnica**).

CAPALDI, F. R. Avaliação de diferentes fontes de nitrogênio em explantes de *Cryptomeria japonica* D. DON. “Elegans” cultivados in vitro: análises bioquímicas e relações entre reguladores vegetais. 2002. 65 f. **Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais)** – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

DE SOUZA, H. C.. Estudo Biotecnológico de plântulas de *Physalis angulata* Linn. cultivadas in vitro numa abordagem de investigação química e biológica. 2018. 111 f. **Tese (Doutorado em Biotecnologia e Biodiversidade)**- Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

FERREIRA, D.F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, nov./dez. 2011.

FENG, S., JIANG, M., SHI, Y., JIAO, K., SHEN, C., LU, J., & WANG, H. Application of the Ribosomal DNA ITS2 Region of *Physalis* (*Solanaceae*): DNA Barcoding and Phylogenetic Study. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. July, p. 1–11, 2016.

FREITAS, T. A.; OSUNA, J. T. A.; RODRIGUES, A. C. Cultivation of *Physalis angulata* L. and *Anadenanthera colubrina* [(Vell.) Brenan] species of the Brazilian semi-arid. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. esp, p. 201-204, 2006.

KINDSCHER, K., LONG, Q., CORBETT, S., BOSNAK, K., LORING, H., COHEN, M., & TIMMERMANN, B. N. The Ethnobotany and Ethnopharmacology of Wild Tomatillos, *Physalis longifolia* Nutt., and Related *Physalis* Species: A Review. **Economic Botany**, v. 66, n. 3, p. 298–310, 5 set. 2012.

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIS JUNIOR, F. T.; GENEVE, R. L. Plant propagation: principles and practices. 7. ed. New York: **Englewood Clippis**, 2002. 880 p.

JUALANG AZLAN, G., MARZIAH, M., RADZALI, M., & JOHARI, R. Accumulation of Physalin in Cells and Tissues of *Physalis minima* L. **Acta Horti**, v. 2, n. 676, p. 53–59, 2005.

MEDINA-MEDRANO, J. R., ALMARAZ-ABARCA, N., GONZÁLEZ-ELIZONDO, M. S., URIBE-SOTO, J. N., GONZÁLEZ-VALDEZ, L. S., & HERRERA-ARRIETA, Y. Phenolic constituents and antioxidant properties of five wild species of *Physalis* (*Solanaceae*). **Botanical Studies**, v. 56, n. 1, p. 24–37, 18 dez. 2015.

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

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**. Nova Odessa, São Paulo, Brasil, 1982. 372p.

- RAMADAN, M. F. Bioactive phytochemicals, nutritional value, and functional properties of cape gooseberry (*Physalis peruviana*): An overview. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 1830–1836, 2011.
- RIBEIRO, J.M.; TEIXEIRA, S. Substituição de nitrato de potássio (PA) por salitre potássico no preparo de meio de cultura de tecidos vegetais esterilizado com hipoclorito de sódio. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.4, p.1209-1213, 2008.
- SILVA, A. B.; PIO, R.; RAMOS, J. D.; MENDONÇA, V.; PASQUAL, M.; CALEGARI, M. Influência das fontes de nitrogênio NH_4NO_3 e KNO_3 no desenvolvimento in vitro do porta-enxerto ‘Trifoliata’. **Revista Científica Rural**, v. 6, n. 2, p. 147-152, 2001.
- SCHEIBLE, W.R. et al. Accumulation of nitrate in the shoot acts as signal to regulate shoot-root allocation in tobacco. **Plant Journal**, v.11, p.671-691, 1997.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918 p.
- TOMASSINI, T. C. B. et al. Gênero *Physalis*: uma revisão sobre vitaesteróides. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 1, p. 47-57, 2000.
- ZAMORA-TAVARES, P. VARGAS-PONCE, O., SÁNCHEZ-MARTÍNEZ, J., & CABRERA-TOLEDO, D. Diversity and genetic structure of the husk tomato (*Physalis philadelphica* Lam.) in Western Mexico. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 62, n. 1, p. 141– 153, 28 jan. 2015.
- ZHANG, W.-N.; TONG, W.-Y. Chemical Constituents and Biological Activities of Plants from the Genus *Physalis*. **Chem. Biodiversity**, v. 13, n. 48, p. 4–65, 2016.