



## **Propagação e conservação *in vitro* de *Physalis angulata* Lineu (camapu)**

### ***In vitro* propagation and conservation of *Physalis angulata* Lineu (camapu)**

#### **Tássia Alana Alves Ferreira**

Doutoranda em Biodiversidade e Biotecnologia

Instituição: Universidade Federal do Pará (UFPA)

Endereço: Av. Rua Augusto Correa, 01, Guamá, Belém, Pará

E-mail: tassia.alana@gmail.com

#### **Maria Sintia Monteiro da Costa**

Doutoranda em Biodiversidade e Biotecnologia

Instituição: Universidade Federal do Pará (UFPA)

Endereço: Av. Rua Augusto Correa, 01, Guamá, Belém, Pará

E-mail: sintiamonteiro@hotmail.com

#### **Ana Caroline Batista da Silva**

Graduada em Engenharia Agrônômica

Instituição: Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA)

Endereço: Av. Tancredo Neves, 2501, Terra Firme, Belém, Pará

E-mail: anacarolinebatista79@gmail.com

#### **Alex Santos Guedes**

Graduando em Biotecnologia

Instituição: Universidade Federal do Pará (UFPA)

Endereço: Av. Rua Augusto Correa, 01, Guamá, Belém, Pará

E-mail: alex.guedes@icb.ufpa.br

#### **Ana Paula Ribeiro Medeiros**

Doutora em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares

Instituição: Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Sustentabilidade

Endereço: Tv. Lomas Valentinas, 2717, Marco, Belém, Pará

E-mail: paula.amedeiros@hotmail.com

#### **Emilly de Jesus Franco Silva**

Graduanda em Biotecnologia

Instituição: Universidade Federal do Pará (UFPA)

Endereço: Av. Rua Augusto Correa, 01, Guamá, Belém, Pará

E-mail: emilly.franco.silva@icb.ufpa.br



### **Simone Rodrigues de Miranda**

Doutora Biologia Molecular

Instituição: Embrapa Amazônia Oriental

Endereço: Av. Perimetral, s/n, Marco, Belém, Pará

E-mail: simone.rodrigues@embrapa.br

### **Osmar Alves Lameira**

Doutor em Fitotecnia, Biotecnologia de Plantas

Instituição: Embrapa Amazônia Oriental

Endereço: Av. Perimetral, s/n, Marco, Belém, Pará

E-mail: osmar.lameira@embrapa.br

### **RESUMO**

*Physalis angulata*, popularmente conhecida como camapu ou physalis, é uma espécie herbácea, encontrada em países como Brasil, Colômbia, Peru e Venezuela. Seu uso medicinal é atrelado ao fato de que essa espécie tem propriedades anti-inflamatória e antioxidante. Além do tratamento de doenças neurodegenerativas. A micropropagação e a conservação *in vitro* desempenham um papel importante na proteção de germoplasma, sendo o camapu uma espécie com potencial valor econômico. O objetivo do presente trabalho foi desenvolver um protocolo de conservação *in vitro* para o camapu, visando o crescimento lento. Os explantes foram inoculados em meio MS em duas salas distintas. Sala 1: temperatura de  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ , três diferentes irradiâncias de luz LED branca: 35, 45 e  $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Sala 2: temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , irradiância de luz fluorescente branca fria:  $25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Na sala 1, as taxas de sobrevivência foram de 100% até a nona avaliação. Na sala 2, as taxas de sobrevivência foram de 100% até a sexta avaliação. Em relação à altura, na primeira avaliação, as médias foram de 5,59, 3,43 e 3,40 cm, respectivamente, os tratamentos de 35, 45 e  $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Na segunda avaliação, as médias foram de 6,12, 5,46 e 5,18 cm, respectivamente, os tratamentos de 35, 45 e  $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos nas duas primeiras avaliações. Na terceira avaliação, todas as plantas atingiram a altura máxima do frasco: 9 cm. Em relação ao tratamento de  $25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , na primeira e segunda avaliação, a altura média foi de 6,42 e 7,0 cm, respectivamente. Na terceira avaliação, todas as plantas também atingiram a altura máxima do frasco: 9 cm. Apesar de não haver diferença estatística significativa entre as alturas médias dos tratamentos de 35, 45 e  $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , o tratamento de menor irradiância ( $35 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ), apresentou maior período de conservação *in vitro*, 12 meses, enquanto que o tratamento de maior irradiância,  $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , resultou na conservação *in vitro* por 9 meses (270 dias). Conclui-se que o fator temperatura foi determinante para a redução do crescimento *in vitro* do camapu, sendo uma estratégia eficaz para aumentar o intervalo de subcultivo em pelo menos 270 dias.

**Palavras-chave:** biotecnologia vegetal, crescimento lento, irradiância, LEDs, plantas medicinais.



## ABSTRACT

*Physalis angulata*, popularly known as camapu or physalis, is a herbaceous species, found in countries such as Brazil, Colombia, Peru and Venezuela. Its medicinal use is tied to the fact that this species has anti-inflammatory and antioxidant properties. In addition to the treatment of neurodegenerative diseases. Micropropagation and in vitro conservation play an important role in the protection of germplasm, with ground cherry being a species with potential economic value. The objective of the present study was to develop an in vitro conservation protocol for the ground cherry, aiming at slow growth. The explants were inoculated into MS medium in two distinct rooms. Room 1: temperature  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ , three different irradiances of white LED light: 35, 45 and  $75 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Room 2: temperature  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , irradiance of cold white fluorescent light:  $25 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . In room 1, survival rates were 100% up to the ninth assessment. In room 2, survival rates were 100% by the sixth assessment. Relative to height, at the first evaluation, the means were 5.59, 3.43 and 3.40 cm, respectively, the treatments of 35, 45 and  $75 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . At the second assessment, the means were 6.12, 5.46 and 5.18 cm, respectively, the treatments of 35, 45 and  $75 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . There was no significant statistical difference between treatments at the first two assessments. In the third evaluation, all the plants reached the maximum height of the bottle: 9 cm. Relative to the treatment of  $25 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , at the first and second evaluation, the mean height was 6.42 and 7.0 cm, respectively. In the third evaluation, all the plants also reached the maximum height of the flask: 9 cm. Although there was no significant statistical difference between the mean treatment heights of 35, 45, and  $75 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , treatment with lower irradiance ( $35 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) had a longer in vitro storage period of 12 months, while treatment with higher irradiance,  $75 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , resulted in in vitro storage for 9 months (270 days). It is concluded that the temperature factor was determinant for the reduction of the in vitro growth of the ground cherry, being an effective strategy to increase the subcultivation interval by at least 270 days.

**Keywords:** plant biotechnology, slow growth, irradiance, LEDs, medicinal plants.

## 1 INTRODUÇÃO

A *Physalis angulata* Lineu, conhecido como camapu, família Solanaceae, é uma espécie que produz frutos comestíveis com alto valor nutritivo, ricos em carboidratos, vitaminas, minerais, fitoesteróis e antioxidantes (KINDSCHER et al., 2012). Além disso, o extrato aquoso de *P. angulata* estimulou a neurogênese em camundongos adultos (NASCIMENTO, 2013).

A *P. angulata* (Figura 1) é uma espécie com potencial valor econômico, sendo necessário estudos de micropropagação e conservação *in vitro*. A micropropagação pode ser aplicada como estratégia de conservação *in vitro*,



principalmente focada no crescimento lento (SÁNCHEZ-CHIANG; JIMÉNEZ, 2010), envolvendo metodologias de crescimento lento e subcultivos em maiores intervalos de tempo (MANSUR; PACHECO; VIEIRA, 2009). A intensidade de luz (ALMEIDA; MUNDSTOCK, 2001) e a temperatura (SÁNCHEZ-CHIANG; JIMÉNEZ, 2010) são fatores determinantes no sucesso da conservação *in vitro* de espécies vegetais.

Figura 1: Planta de *P. angulata* pertencente à coleção do horto de plantas medicinais da Embrapa Amazônia Oriental.



Fonte: Autores (2023).

A combinação desses fatores (luz e temperatura) podem aumentar o sucesso da conservação *in vitro*, através da redução do metabolismo das plantas (DA SILVA et al., 2016). Assim, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver um protocolo de conservação *in vitro*, para a espécie camapu, baseado no crescimento lento, com maior intervalo de subcultivo através da micropropagação.



A conservação *in vitro* de plantas com valor econômico atual e potencial, é uma abordagem fundamental, pois garante a disponibilidade de recursos genéticos para pesquisas futuras (ALVES; AZEVEDO, 2018).

A conservação *in vitro* compreende a manutenção de material genético utilizando-se a micropropagação (cultura de tecidos vegetais), em condições assépticas e controladas de temperatura, luminosidade e meio de cultura, onde o foco é o crescimento lento *in vitro* (MATSUMOTO; CARDOSO; SANTOS, 2010).

A intensidade de luz e a temperatura são fatores determinantes no sucesso da conservação *in vitro*. A combinação desses fatores (luz e temperatura) aumentam o sucesso da conservação *in vitro*, através da redução do desenvolvimento das plantas (SILVA et al., 2016).

O objetivo desse estudo foi avaliar se a temperatura e a luz (irradiância) podem ser usadas como estratégias de conservação *in vitro* para *P. angulata*.

## **2 METODOLOGIA**

### **2.1 ÁREA DE ESTUDO**

O estudo foi realizado no Laboratório de Biotecnologia e Recursos Genéticos (LBRG), da Embrapa Amazônia Oriental, localizada em Belém, Pará, Brasil. Os explantes utilizados neste estudo foram obtidos de plantas micropropagadas em meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), pertencentes ao LBRG.

### **2.2 MATERIAL VEGETAL E CONDIÇÕES DE CULTURA**

No experimento, foram testados dois fatores abióticos: a temperatura e a irradiância. Foram realizados 4 tratamentos, onde os explantes de camapu, medindo aproximadamente 1 cm, foram inoculados em frascos de 250 mL contendo 30 mL de meio de cultura Murashige e Skoog. Os meios foram suplementados com sacarose (30,0 g.L<sup>-1</sup>), o pH foi ajustado a 5,7 ± 0,1 e em seguida gelificados com 'Phytigel' (3,0 g.L<sup>-1</sup>).





Na sala 1 (conservação), temperatura de  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ , os frascos foram mantidos em 3 diferentes irradiâncias de luz LED branca: tratamentos com 35, 45 e  $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , durante um fotoperíodo de 12 horas.

Na sala 2 (multiplicação), temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , irradiância de luz de  $25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 14 horas sob luz fluorescente branca fria. As condições da sala 2 são usadas para a produção de mudas.

### 2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC), com 4 tratamentos e 3 repetições, além de que, cada repetição continha três explantes. Durante 360 dias (12 meses), mensalmente, foram avaliados a alturas das plântulas (medição direta com régua graduada) e o número de brotações. A diferença das amostras (altura e número de brotações) foi calculada com a utilização do software BioEstat versão 5.3. (AYRES et al., 2007). Para verificar a normalidade dos dados, foi usado o teste de Shapiro-Wilk. As médias foram comparadas pelo teste não-paramétrico Kruskal-Wallis (Dunn). O valor do nível de significância foi de 5%.

### 3 RESULTADOS

Na avaliação do número de brotações, devido ao número superior de 10 brotações, foi inviável a contagem de brotos em todos os tratamentos.

Os tratamentos de 35, 45 e  $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , alocados na sala de conservação a  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ , tiveram a porcentagem de sobrevivência de 100% até a nona avaliação. O tratamento de  $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  foi o primeiro tratamento a ser descartado por senescência na décima avaliação, seguido pelo tratamento de  $45 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  na décima segunda avaliação e o tratamento de  $35 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  na décima terceira avaliação. Enquanto que o tratamento  $25 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , alocado na sala de multiplicação, teve porcentagem de sobrevivência de 100% até a sexta avaliação.

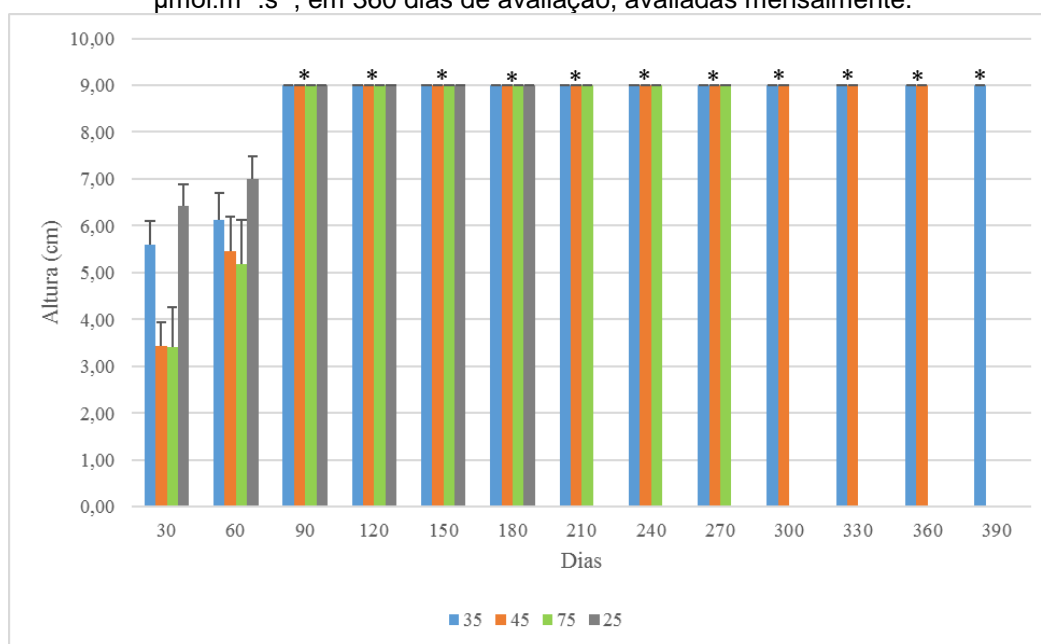
Na avaliação da altura média, na primeira avaliação, a altura média das plantas foi de 5,59, 3,43 e 3,40 cm, respectivamente, os tratamentos de 35, 45 e



75  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Na segunda avaliação, a altura média das plantas foi de 6,12, 5,46 e 5,18 cm, respectivamente, os tratamentos de 35, 45 e 75  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos nas duas primeiras avaliações. Na terceira avaliação, todas as plantas atingiram a altura máxima do frasco: 9 cm.

Em relação ao tratamento de 25  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , na primeira e segunda avaliação, a altura média foi de 6,42 e 7,0 cm, respectivamente. Na terceira avaliação, todas as plantas também atingiram a altura máxima do frasco: 9 cm (Figura 2).

Figura 2: Altura média das plântulas de *P. angulata*, nos tratamentos de 25, 35, 45 e 75  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , em 360 dias de avaliação, avaliadas mensalmente.



Fonte: Autores (2023). \*Limite de altura de 9 cm.

Os tratamentos de 35, 45 e 75  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , alocados na sala de conservação a  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ , atingiram a altura máxima do frasco no 3º mês (90 dias), logo, a altura média não apresentou diferença estatística, entretanto, o tratamento de menor irradiância (35  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), em temperatura de  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ , apresentou maior período de conservação *in vitro*, 12 meses (360 dias).

Além disso, após 9 meses (270 dias), o tratamento de 35  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , foi o tratamento que apresentou maior viabilidade para subcultivo, apresentando

maior quantidade de folhas verdes (Figura 3). Enquanto que, o tratamento de maior irradiância,  $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , em temperatura de  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ , resultou na conservação *in vitro* por 9 meses (270 dias).

Figura 3: *P. angulata in vitro*. A) Irradiância de  $35 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  em  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ . B) Irradiância de  $45 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  em  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ . C) Irradiância de  $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  em  $18 \pm 1^\circ\text{C}$ . Conservação *in vitro* após 270 dias.



Fonte: Autores (2023).

#### 4 DISCUSSÃO

A conservação *in vitro* de plântulas de interesse é alcançada com o aumento do intervalo entre subcultivos. O aumento entre subcultivos é realizado através de manipulações de fatores inerentes ao cultivo *in vitro* como a temperatura, a luz, o uso de reguladores de crescimento, a redução de nutrientes no meio de cultura, entre outros fatores (MANSUR et al., 2009; COSTA; SPEHAR; SERENO, 2012).

A frequência e necessidade de subcultivo varia de espécie para espécie, mas em uma cultura *in vitro*, o intervalo regular de subcultivo, geralmente ocorre no intervalo entre 3 a 5 semanas (BENELLI et al., 2022).

Alterações em fatores como a temperatura e a luz, alteram o desenvolvimento de plântulas *in vitro*, resultando em alterações no crescimento (COSTA; SPEHAR; SERENO, 2012).





Da Silva e colaboradores (2023) relataram que o padrão de desenvolvimento *in vitro* de *Aeollanthus suaveolens* (catinga de mulata), em diferentes irradiâncias de fótons (luz), resultaram em diferenças significativas no crescimento apical, no número de brotos e na produção dos pigmentos fotossintéticos.

Tyagi e colaboradores (2009) avaliaram a conservação *in vitro* através do crescimento lento de *Elettaria cardamomum* (cardamomo). O sucesso na conservação *in vitro* foi alcançado com a redução dos nutrientes no meio de cultura em ½ MS, além do uso do regulador de crescimento benzilaminopurina (BAP) em 5 µM. Cerca de 70% das culturas sobreviveram até 18 meses a 25 ± 2°C.

Tyagi, Agrawal e Yusuf (2006) avaliaram a viabilidade da conservação *in vitro* de variedades genéticas de *Zingiber officinale* (gengibre). O cultivo *in vitro* de rizomas envolveu o uso do regulador de crescimento hidrazida maleica com três diferentes fotoperíodos. Todos os genótipos foram conservados *in vitro* por pelo menos 12 meses.

Na conservação *in vitro* de *P. angulata*, não foi necessário o uso de reguladores de crescimento, sendo uma metodologia eficaz para a conservação *in vitro* dessa espécie.

A perda de biodiversidade, especialmente, plantas com valor medicinal potencial, tem demonstrado a necessidade de desenvolver estratégias de conservação desses recursos genéticos (HOWES et al., 2020).

## 5 CONCLUSÕES

- Para a conservação *in vitro*, o fator temperatura é determinante no sucesso da diminuição do crescimento das plântulas de *P. angulata*, sendo desnecessário o uso de reguladores de crescimento.
- Para a conservação *in vitro*, o fator irradiância não retarda o desenvolvimento das plântulas de *P. angulata*.
- Na conservação *in vitro* de *P. angulata*, o prolongamento entre os subcultivos é de pelo menos 270 dias (38 semanas).



## **AGRADECIMENTOS**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisas (FAPESPA), da Embrapa Amazônia Oriental e da Universidade Federal do Pará (UFPA).



## REFERÊNCIAS

ALVES, A. A. C.; AZEVEDO, V. C. R. Embrapa network for brazilian plant genetic resources conservation. **Biopreservation and Biobanking**, v. 16, n. 5, p. 350–360, 2018.

AYRES, M. et al. BioEstat: **aplicações estatísticas nas áreas das ciências Biomédicas. 5ª edição**. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, 2007, p. 364

BENELLI, C. et al. In Vitro Conservation through Slow Growth Storage Technique of Fruit Species: An Overview of the Last 10 Years. **Plants**, v. 11, n. 23, p. 1–18, 2022.

COSTA, A. M.; SPEHAR, C. R.; SERENO, J. R. B. **Conservação de recursos genéticos no Brasil**. 1ª edição ed. Brasília, DF: Embrapa, 2012.

DA SILVA, A. C. B. et al. Efeito da intensidade de luz no desenvolvimento de espécies medicinais e aromáticas em condições in vitro. **Contribuciones a Las Ciencias Sociales**, v. 16, n. 5, p. 2632–2649, 2023.

DA SILVA, R. L. et al. Viability and genetic stability of pineapple germplasm after 10 years of in vitro conservation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 127, n. 1, p. 123–133, 2016.

HOWES, M. J. R. et al. Molecules from nature: Reconciling biodiversity conservation and global healthcare imperatives for sustainable use of medicinal plants and fungi. **Plants People Planet**, v. 2, n. 5, p. 463–481, 2020.

KINDSCHER, K. et al. 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, 2012.

MANSUR, E.; PACHECO, G.; VIEIRA, M. L. C. **Conservação in vitro de germoplasma**. In: BORÉM, A.; LOPES, M. T. G.; CLEMENT, C. R. (editores). Domesticação e melhoramento: espécies amazônicas. Editor Suprema. Viçosa, p. 171-191, 2009.

MATSUMOTO, K.; CARDOSO, L. D.; SANTOS, I. R. I. Manual de Curadores de Germoplasma – Vegetal: Avaliação de Germoplasma. **Documentos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 318, n. 7, p. 1–11, 2010.

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

NASCIMENTO, Marcus Vinicius Lebrege. ***Physalis angulata* ESTIMULA PROLIFERAÇÃO DE CÉLULASTRONCO NEURAI DO GIRO DENTEADO HIPOCAMPAL DE CAMUNDONGOS ADULTOS**. 2013. Dissertação (Mestrado em Neurociências) - Programa de Pós-Graduação em Neurociências e Biologia Celular, Universidade Federal do Pará, Belém, 2013.



SÁNCHEZ-CHIANG, N.; JIMÉNEZ, V. M. Técnicas de conservación *in vitro* para el establecimiento de bancos de germoplasma en cultivos tropicales. **Agronomía Mesoamericana**, v. 21, n. 1, p. 193-205, 2010.

TYAGI, R. K. et al. Micropropagation and slow growth conservation of cardamom (*Elettaria cardamomum* Maton). **In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant**, v. 45, n. 6, p. 721–729, 2009.

TYAGI, R. K.; AGRAWAL, A.; YUSUF, A. Conservation of Zingiber germplasm through in vitro rhizome formation. **Scientia Horticulturae**, v. 108, n. 2, p. 210–219, 2006.