

Organogênese direta *in vitro* de explantes foliares de *Physalis angulata* L. – uma espécie medicinal¹.

Pereira, Jonny Everson Scherwinski²; Guedes, Rodrigo da Silva³; Fermino-Jr., Paulo César Poeta⁴.

¹Trabalho realizado com o apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq.

²Embrapa Acre, Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular – LABMOL - C.P. 321, 69.908-970 Rio Branco, AC. e-mail: jonny@cpafac.embrapa.br; ³Mestrando em Agronomia - Produção Vegetal, UFAC, Rio Branco, AC. ⁴Professor do Departamento de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Acre – UFAC.

INTRODUÇÃO

A espécie *Physalis angulata* L. pertence à família das Solanaceae e inclui cerca de 120 espécies de características herbáceas e hábito perene (Kissmann & Groth, 1995). 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 (Hunziker, 2001), sendo largamente empregada na medicina popular de vários países, principalmente os da América do Sul. Considerada medicinal em vários países, destaca-se pela presença de vitaesteróides, como nicandrenona, vitanolídeo, fisalinas e neofisalinas (Ray & Gupta, 1994; Tomassini et al., 2000). Alguns estudos indicam que *P. angulata* possui atividade antineoplásica e antitumoral, além de conter alcalóides tropânicos e pirrolidínicos, como higrina e tropinona (Romeike, 1965, 1966; Ribeiro et al., 2002). Extrato de *Physalis angulata* L. tem sido usado na medicina popular em Taiwan para o tratamento de tumores (Juang et al., 1989). O chá de *P. angulata* é usado no tratamento de inflamações no fígado e malária (Di Stasi et al., 1989), além de possuir atividade anti-bacteriana (Pietro et al., 2000).

Neste contexto, devido à importância da espécie, estudos de calogênese e regeneração *in vitro* de *P. angulata* para a obtenção de matéria-prima se fazem necessários, especialmente por tratar-se de uma espécie comumente encontrada em regiões da Amazônia Ocidental brasileira. Este trabalho teve por objetivo avaliar a ação de citocininas na regeneração direta a partir de explantes foliares de *Physalis angulata* L.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletados frutos de plantas sadias de camapu (*Physalis angulata* L.) nas dependências do campo experimental da Embrapa Acre, no mês de novembro de 2005. Logo após, os frutos foram transportados ao laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular, passando por uma desinfestação parcial apenas dos frutos, sendo as sementes colocadas para germinarem em sais e vitaminas do meio de MS.

Após 40 dias de cultivo, segmentos foliares de aproximadamente 1,0cm² foram inoculados em frascos com 30 mL de meio MS, acrescido de 30 g.L⁻¹ e 6 g.L⁻¹ de ágar, suplementados com 0, 5 e 15 µM das citocininas BAP, Cinetina, TDZ e 2iP. Os cultivos foram mantidos em sala de crescimento à temperatura de 25 ± 2 °C, fotoperíodo de 16 horas e radiação luminosa de 30 µmol.m⁻².s⁻¹. As avaliações foram feitas após 30 e 60 dias, observando-se o percentual de explantes com respostas regenerativas; e o número de brotações regeneradas.

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 5 repetições e cinco explantes por parcela, em fatorial 3x4 (concentrações x tipos de reguladores). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan a 5%, utilizando o programa Sanest.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Após 30 dias de cultivo, observaram-se respostas regenerativas nos explantes quando se utilizou as citocininas BAP, TDZ e 2iP, sendo que TDZ foi a que induziu as

melhores respostas, tanto nas concentrações de 5 e 15 μM (Figura 1A). Não se observou nenhum efeito organogênico da cinetina (CIN) sobre os explantes.

Quando se verifica a porcentagem de explantes formando brotações aos 60 dias de cultivo, observa-se que tanto TDZ como 2iP foram eficientes em regenerar brotações (Figura 1B). No entanto, o TDZ foi superior ao 2iP, pois além de promover a regeneração, também proporcionou a formação de maior número de brotações quando comparado ao 2iP.

Assim, após 60 dias de cultivo, observou-se a quantidade de 5 e 6 brotações regeneradas nas concentrações de 5 e 15 μM , respectivamente (Figura 1C). Segundo Malik & Saxena (1992), entre as várias citocininas ou compostos com atividade tipo citocinina testados, o TDZ foi o mais efetivo na indução de formação de brotos em ervilha (*Pisum sativum* L.). Muitos trabalhos têm sido realizados com diversas dosagens de TDZ em várias espécies de plantas (SUTTER et al., 1997). Já as citocininas como a 6-benzilaminopurina (BAP) promovem a formação de brotos e alta taxa de multiplicação em muitos sistemas de micropropagação, ao passo que a CIN e o 2iP normalmente permitem o crescimento normal, no entanto, sem a formação de múltiplas brotações (HU e WANG, 1983).

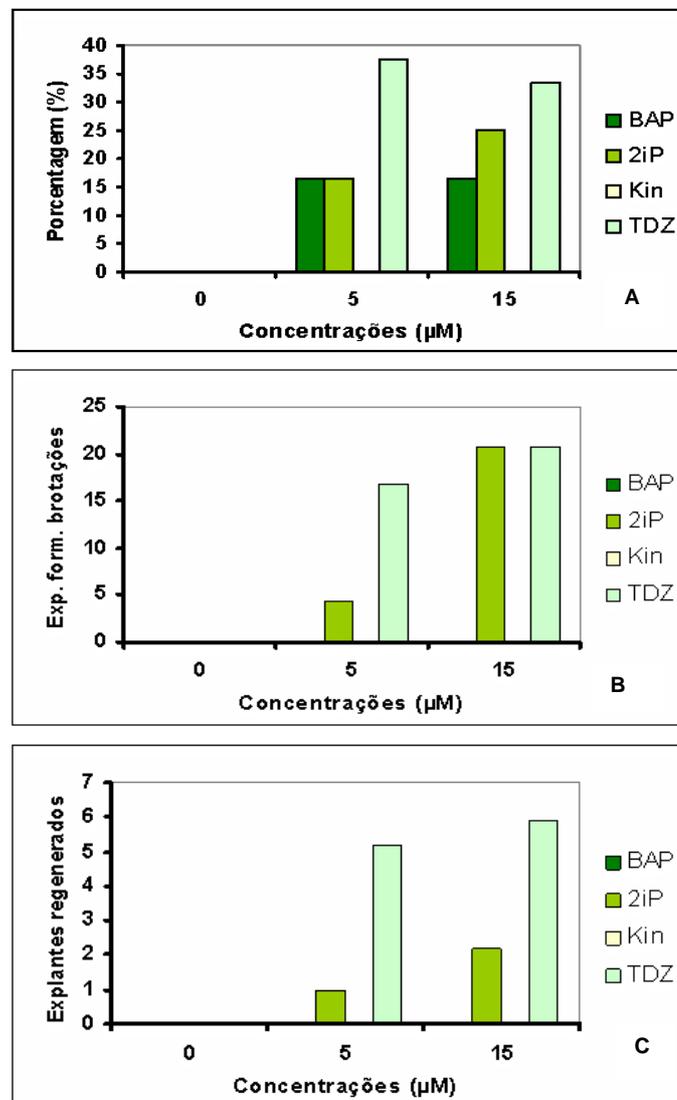


Figura 1: Respostas organogênicas com o uso de diferentes citocininas. Porcentagem de explantes com respostas regenerativas aos 30 dias (A); explantes formando brotações aos 60 dias (B); número de brotos regenerados aos 60 dias (C).



Figura 1: Sementes com 20 dias de cultivo (a); plantas de camapu com 40 dias de cultivo (b); explantes utilizados no experimento 1,0 x 1,0 cm (c); tratamento TO com intenso enraizamento (d); seqüência de desenvolvimento dos explantes com 2iP (e); setas indicam pontos de regeneração em explantes com 2iP (f); explantes em 2iP em estágio mais avançado de regeneração (g); aspecto de explantes enraizados na presença de cinetina (h); regeneração direta dos explantes cultivados com TDZ (i); explantes cultivados com TDZ em estágio mais avançado de regeneração (j); repicagem de plantas regeneradas, com 1 dia de cultivo (l); aspecto das brotações repicadas, aos 15 dias (m).

CONCLUSÃO

Dentre todas as citocininas testadas, o TDZ, BAP e 2iP apresentaram os resultados mais significativos. No entanto, o TDZ foi superior ao 2iP, pois além de promover a regeneração, também proporcionou a formação de maior número de brotações quando comparado ao 2iP.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DI STASI, L. C.; SANTOS, E. M. G.; DOS SANTOS, C. M.; HIMURA, C. A. Plantas medicinais da Amazônia. **Editora Unesp**, São Paulo, 45-46, 1989.

HU, C. Y.; WANG, P. J. Meristem, shoot tip, and bud cultures. In: EVANS, D. A.; SHARP, W. R.; AMMIRATO, P. V.; YAMADA, Y. (Eds.). **Handbook of Plant Cell Culture**. New York: MacMillan, 1983. v. 1, p. 177-227.

HUNZIKER, A. T. The genera of Solanaceae. *Ruggell*: A. R. G. **Gantner Verlag** K. G. 2001.

JUANG, J. K.; HUANG, H. W.; CHEN, C. M.; LIU, H. J. A new compound, withangulatin A, promotes type II DNA topoisomerase-mediated DNA damage. **Biochem Biophys Res Commun**. 159: 1128-1134, 1989.

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. 1995. Plantas Infestantes e Nocivas, Tomo III, BASFSA, p. 485-487. **Annals of Botany**, London, v. 62, p. 271-276, 1988.

MALIK, K. A.; SAXENA, P. K. Thidiazuron induces high frequency shoot regeneration in intact seedlings of pea (*Pisum sativum*) chickpea (*Cicer arietinum*) and lentil (*Lens culinaris*). **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v.19, n.6, p.731-740, 1992.

PIETRO, R. C. L. R.; KASHIMA, S.; SATO, D. N.; JANUÁRIO, A. H.; FRANÇA, S. C.; *In vitro* antimycobacterial activities of *Physalis angulata* L. **Phytomedicine** 7: 335-338. 2000.

RAY, A. B.; GUPTA, M. Withasteroids, a growing group of naturally occurring steroidal lactones. In W HERZ, G. W.; KIRBY, R. E.; MOORE, W Steglich, CH Tamm (eds), **Progress in the Chemistry of Organic Natural Products**, Springer Verlag, Austria, p. 2-13 and 56-58. 1994.

RIBEIRO, I. M.; SILVA, M. T. G.; SCARES, R. D. A.; STUTZ, C. M.; BOZZA, M.; TOMASSINI, T. C. B. *Physalis angulata* L. antineoplastic activity, *in vitro*, evaluation from its stems and fruit capsules. **Rev Bras Farmacogn** 12(Supl): 21-22. 2002.

ROMEIKE, A. Occurrence of hygrine in the roots of *Nicandra physalodes*. **Pharmazie** 20: 738-739. 1965.

ROMEIKE, A. 1966. Presence of tropinone in *Nicandra* roots. **Naturwissenschaften** 53: 82-.

SUTTER, E. G.; AHMADI, H.; LABAVITCH, J. M.; ALTMAN, A.; ZIV, M. Direct regeneration of disks. **Acta Horticulturae**. 1997.

TOMASSINI, T. C. B.; BARBI, N. S.; RIBEIRO, I. M.; XAVIER, D. C. D. Genus *Physalis* - A revision of withasteroids. **Quím. Nova** 23: 47-57. 2000.

PALAVRAS-CHAVE: *Physalis angulata*; citocininas; regeneração; plantas medicinais, Amazônia.