

MULTIPLICAÇÃO *IN VITRO* E PRODUÇÃO DE BETACIANINA EM *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb EM RESPOSTA AO METIL JASMONATO

EINHARDT, Andersom Milech¹; PEROTTI, Janieli Cristina¹; RIBEIRO, Márcia Vaz¹; KLEINOWSKI, Alírcia Moraes¹; RODRIGUES, Isabel Correa da Silva¹; BRAGA, Eugenia Jacira Bolacel¹

¹Universidade Federal de Pelotas; Instituto de Biologia; Departamento de Botânica; Campus Universitário – Caixa postal 354 CEP 96010-900 andersom.m.e@gmail.com.

1 INTRODUÇÃO

Alternanthera philoxeroides (Mart.) Griseb., pertencente à família Amaranthaceae, é uma planta perene e anfíbia, pois cresce abundantemente em diferentes ecossistemas, tanto aquáticos, semi-aquáticos, terrestres e até mesmo extremamente secos, como dunas (Gao et al., 2008).

Estudos fitoquímicos desta espécie demonstraram a presença de flavonóides glicosilados, saponinas e betalaínas, conferindo-lhe ação antiviral e antitumoral (Fang et al., 2009; Rattanathongkom et al., 2009).

As plantas produzem uma ampla variedade de metabólitos secundários em resposta a estresses bióticos e abióticos. O ácido jasmônico e metil jasmonato (MeJA) são moléculas sinalizadoras que regulam a expressão de genes de defesa em resposta a esses estresses (Kim et al., 2006).

O aumento da síntese de betacianina, que é um pigmento nitrogenado de grande importância medicinal, foi estimulado pela aplicação de MeJA em *Beta vulgaris* L. e *Portulaca* sp. (Bhuiyan; Adachi, 2003; Suresh et al., 2004; Cai et al., 2005).

Com o intuito de aumentar a produção de betacianina em plantas de *A. philoxeroides*, este trabalho teve o objetivo de demonstrar a influência do MeJA na multiplicação *in vitro* e na produção de betacianina desta espécie.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de *A. philoxeroides*, estabelecidas *in vitro* em meio MS (Murashige; Skoog, 1962), foram utilizadas como doadoras de explantes, sendo cada explante um segmento nodal de aproximadamente 1 cm de comprimento com duas gemas.

Seis concentrações de metil jasmonato (0; 0,01; 0,1; 1; 10; 100 μM) filtrado foram adicionadas ao meio MS básico, após autoclavagem por 20 minutos a uma temperatura de 121°C a pressão de 1,05 kg cm^{-2} .

Os explantes foram inoculados em condições assépticas nos meios de cultura em câmara de fluxo laminar. Após, os frascos com os explantes foram colocados em sala de crescimento, sob fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fótons de 48 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$, com temperatura de 25 \pm 2°C.

Aos 35 dias de cultivo foram avaliados número de gemas e brotos por planta, altura, comprimento médio das raízes, massa fresca e teor de betacianina da parte aérea.

Para realizar a análise das betacianinas a parte aérea das plantas de *A. philoxeroides* foi separada do sistema radicular. O material vegetal foi macerado em 5 mL de água destilada e após, centrifugado a 13632 g, a 4°C por 25 minutos. A quantificação de betacianinas foi realizada em espectrofotômetro, de acordo com a

metodologia descrita por Cai et al. (1998) e o resultado expresso em mg amarantina 100g MF⁻¹.

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos (concentrações de metil jasmonato), cada um contendo cinco repetições, representadas por um frasco contendo cinco explantes. Os resultados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro, com auxílio do software estatístico WinStat (Machado; Conceição, 2002). Também foram realizadas análises de correlação entre as variáveis morfológicas e a produção de betacianina.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

As concentrações de metil jasmonato (MeJA) testadas influenciaram nas características morfológicas avaliadas nas plantas de *A. philoxeroides*. Foi observado um efeito negativo das altas concentrações de MeJA no crescimento das plantas, sendo a concentração de 100 µM totalmente tóxica. As maiores médias de número de brotos (1,5), comprimento das raízes (4,6 cm) e altura das plantas (8,3 cm) foram obtidas no tratamento controle, com ausência de MeJA (Figura 1A – D).

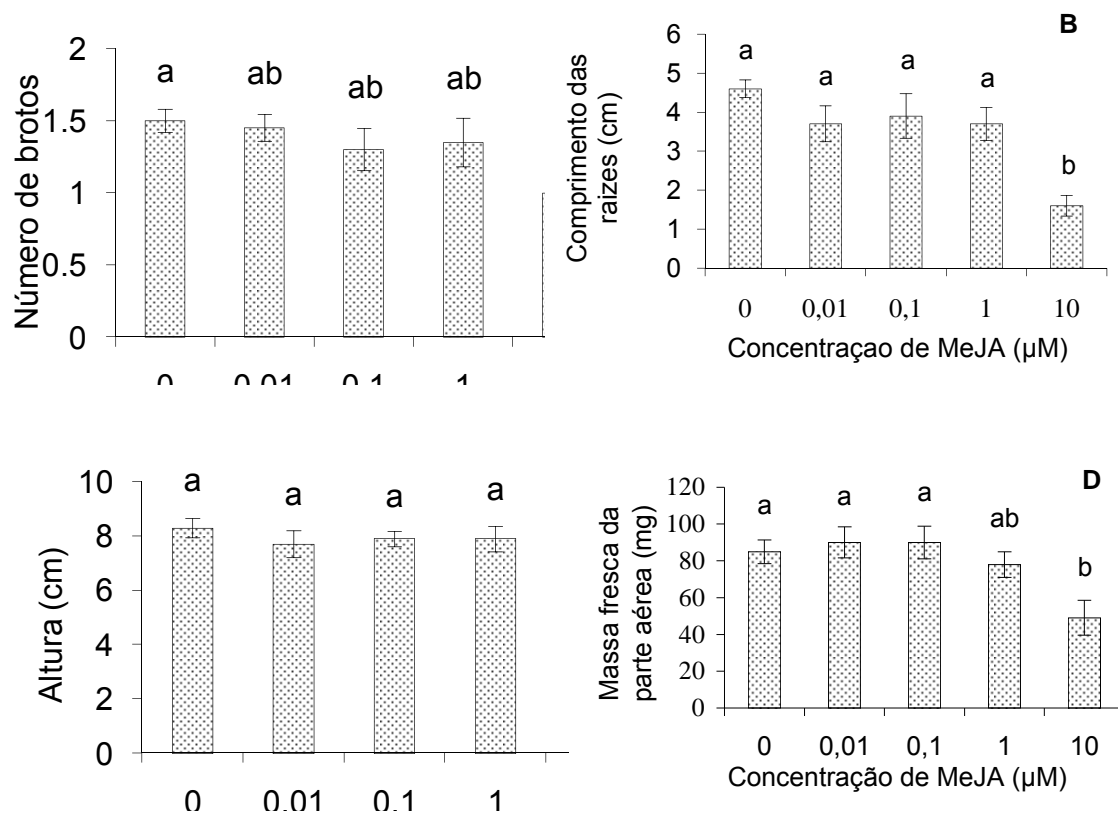


Figura 1. Número de brotos (A), comprimento médio das raízes (B), altura (C) e massa fresca da parte aérea (D) das plantas de *A. philoxeroides* cultivadas *in vitro* por 35 dias na presença de diferentes concentrações de MeJA. Barras verticais representam o erro padrão da média de cinco repetições, médias acompanhadas de diferentes letras são significativamente diferentes pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

No presente trabalho a concentração de 10 µM diminuiu significativamente o número de brotos (Figura 1A), o comprimento das raízes (Figura 1B), a altura (Figura 1 C) e a massa fresca da parte aérea (Figura 1 D) em relação ao controle.

Maksymiec e Krupa (2007) também observaram a ação negativa do MeJA para o crescimento de raízes de *Allium cepa* L. que diminuíram nitidamente (78%) após a exposição de 50 μ M deste regulador de crescimento. A produção de betacianina foi estimulada pela adição de MeJA na concentração de 100 μ M (Figura 2). Concentrações menores (0,01 – 10 μ M) não apresentaram diferenças significativas em relação ao controle (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**).

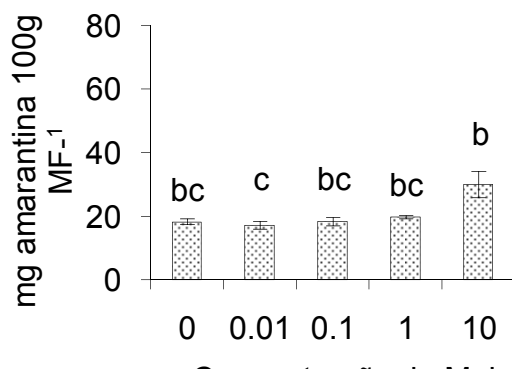


Figura 2. Concentração de amarantina em plantas de *A. philoxeroides* cultivadas *in vitro* por 35 dias sob diferentes concentrações de MeJA. Barras verticais representam o erro padrão da média de cinco repetições, médias acompanhadas de diferentes letras são significativamente diferentes pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

A análise de correlação também demonstrou que a maior produção de betacianina ocorreu quando o crescimento das plantas foi reduzido, o que pode ser visto pela associação linear negativa entre a produção de betacianina e as variáveis morfológicas analisadas (Tabela).

Tabela 1. Correlação entre a produção de betacianina e as variáveis morfológicas analisadas em *A. philoxeroides* após 35 dias de cultivo em diferentes concentrações de MeJA

	NB	CB	MFPA	CR	PB
NG	0,8079	0,3297	0,5328	0,4104	-0,4421
NB	-	0,4410	0,5925	0,4527	-0,4785
CB	-	-	0,6380	0,5072	-0,7002
MFPA	-	-	-	0,7596	-0,8302
CR	-	-	-	-	-0,6985

NG = número de gemas, NB = número de brotos, CB comprimento dos brotos, MFPA = massa fresca da parte aérea, CR = comprimento radicular, PB = produção de betacianina.

4 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo demonstram que o metil jasmonato apresenta efeito tóxico para o crescimento de *Alternanthera philoxeroides*, induzindo o aumento na biossíntese de betacianina das plantas.

5 REFERÊNCIAS

BHUIYAN, N.H.; ADACHI, T. Stimulation of betacyanin synthesis through exogenous methyl jasmonate and other elicitors in suspension-cultured cells of *Portulaca*. **Journal Plant Physiology**, v. 160, p.1117-1124, 2003.

CAI Y. Z.; SUN M. CORKE H. Characterization and application of betalain pigments from plants of the Amaranthaceae, **Trends in food science & technology**, v. 16, p. 370-376, 2005.

CAI, Y. et al. Characterization and quantification of betacyanin pigments from diverse *Amaranthus* species, **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 46, n. 6, p. 2063-2070, 1998.

FANG, J.B. et al. Cytotoxic triterpene saponins from *Alternanthera philoxeroides*, **Journal of Asian natural products research**, v.11, n.3, p.261-266, 2009.

GAO, J.; XIAO, Q.; YIN, L.; HE, G. Isolation of cDNA clones for genes up-regulated in drought-treated *Alternanthera philoxeroides* root, **Journal Molecular Biology Reports**. v.35, n.3, p.485-488, 2008.

KIM, H.J. et al. Effect of methyl jasmonate on secondary metabolites of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.), **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2327-2332, 2006.

MACHADO, A.; CONCEIÇÃO, A. R. **Programa estatístico WinStat Sistema de Análise Estatístico para Windows**. Versão 2.0. Pelotas: UFPel, 2002.

MAKSYMIEC, W.; KRUPA, Z. Effects of methyl jasmonate and excess copper on root and leaf growth, **Biologia plantarum**, v. 51, n. 2, p. 322-326, 2007.

RATTANATHONGKOM, A. et al. Evaluation of chikusetsusaponin IVa isolated from *Alternanthera philoxeroides* for its potency against viral replication, **Planta medica**, v.75, n.8, p. 829-835, 2009.

SURESH, B. et al. Polyamine and methyl jasmonate-influenced enhancement of betalaine production in hairy root cultures of *Beta vulgaris* grown in bubble column reactor and studies on efflux of pigments, **Process Biochemistry**, v. 39, p. 2091-2096, 2004.