

CULTIVO *IN VITRO* DE *Alternanthera tenella* Colla E PRODUÇÃO DE BETACIANINA

RODRIGUES, Isabel Corrêa da Silva¹; KLEINOWSKI, Alírcia Moraes¹; RIBEIRO, Márcia Vaz¹; EINHART, Andersom Milech¹; BRAGA, Eugenia Jacira Bolacel¹

¹Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, PPGFV, Departamento de Botânica, UFPel, Campus Universitário S/N. Capão do Leão, RS. CEP:96160. bel_biologia@hotmail.com

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, um grande número de pesquisas tem sido realizada com o intuito de estudar estratégias para a propagação de plantas medicinais, tendo em vista a viabilização de plantios comerciais e também otimização da produção de metabólitos secundários (OKSMAN-CALDENTY; INZÉ, 2004).

O gênero *Alternanthera* (Amaranthaceae), tem sido reconhecido pelas suas propriedades farmacológicas, pois foram identificados compostos biologicamente ativos, entre eles os triterpenóides, compostos fenólicos e pigmentos da classe betalaínas - betacianinas e betaxantinas (SALVADOR; DIAS, 2004).

Os pigmentos da classe betalaína, são pigmentos naturais de importância quimiotaxonômica significativa, tipicamente associados com plantas da ordem Cariofilales. O interesse por esses pigmentos cresceu desde que sua atividade anti-radical foi caracterizada, e passou a ser amplamente utilizado como aditivo para produtos alimentícios, fármacos e cosméticos devido as suas propriedades colorantes naturais e ausência de toxicidade (STRACK et al., 2003).

A espécie *Alternanthera tenella* é popularmente conhecida como apaga-fogo, sendo utilizada na medicina popular como diurético, anti-inflamatório, antibiótico, no tratamento de febres, infecções e inflamações genitais (FERREIRA et al., 2003).

O objetivo deste trabalho foi estabelecer o meio de cultura mais adequado para o cultivo *in vitro* de *Alternanthera tenella* e verificar o efeito desses sobre a síntese de betacianina.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Segmentos nodais de plantas de *A. tenella*, pré-estabelecidas *in vitro*, foram inoculados em quatro meios de cultivo diferentes: MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), MS com redução de 50% dos macronutrientes (MS ½), MS com redução de 25% dos macronutrientes (MS ¾) e MS com 1 g L⁻¹ de carvão ativado, permanecendo por 35 dias em sala de crescimento, com fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fótons de 48 μmoles m⁻² s⁻¹.

Após esse período foram avaliados comprimento das brotações, número de brotos, gemas, comprimento da raiz principal e massa seca e fresca da raiz. A parte aérea dessas plantas foi dividida em folhas e caules e utilizadas para a análise de betacianina, sendo o material vegetal macerado em 5 mL de água destilada e centrifugado a 13632 g a 4 °C por 15 minutos. A quantificação de betacianina foi realizada pela metodologia de Cai et al. (1998), a partir da leitura da absorbância do extrato obtido da parte aérea das plantas, constituída de folhas e caule. A leitura foi feita em espectrofotômetro, e a concentração obtida representada em mg de Amaranquina por 100g de massa fresca.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, composto de quatro tratamentos e cinco repetições, sendo cada uma representada por um frasco contendo quatro explantes. A análise de betacianina foi realizada em esquema fatorial 4x2, sendo quatro tipos de meio e dois órgãos diferentes. Os dados foram submetidos à análise da variância e as médias comparadas pelo Teste de Tukey (5%), com auxílio do software WINSTAT (MACHADO; CONCEIÇÃO, 2002).

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

O número de brotos e gemas não diferiu estatisticamente em relação aos meios testados, sendo a média de 2,0 brotos por planta em todos os tratamentos e 16,4 a maior média para número de gemas obtido em meio MS com carvão ativado. Este mesmo meio proporcionou a maior média para a variável comprimento das brotações (4,03 cm), não diferindo estatisticamente do meio MS (3,69 cm), conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Comprimento das brotações de plantas de *Alternanthera tenella* cultivadas *in vitro* em diferentes meios de cultivo, por 35 dias

Meios	Comprimento das brotações (cm)
MS	3,69 ab
MS 1/2	3,19 bc
MS ¾	2,75 c
MS CARVÃO ATIVADO	4,03 a

*Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

Vários autores relatam o efeito do carvão ativado no alongamento das brotações em diversas espécies. Kowalski; Staden (2001) citam que a utilização de 2,0 g L⁻¹ de carvão ativado no meio de cultura proporcionou melhor crescimento das brotações de *Podocarpus henkelii*. De forma semelhante, Mohamed-Yasseen (2001) verificou aumento no comprimento de plântulas de milho com a adição de carvão ativado ao meio.

Em relação ao sistema radicular (Tabela 2) o meio MS 3/4 apresentou as maiores médias para massa fresca (0,33 g) e seca das raízes (0,032 g) e comprimento radicular (9,53 cm), sendo que este não diferiu estatisticamente do meio MS 1/2 (8,00cm) e do meio MS (7,52 cm).

Tabela 2. Massa fresca, massa seca e comprimento de raiz de plantas de *Alternanthera tenella* cultivadas *in vitro* em diferentes meios de cultivo, por 35 dias

Meios	Massa fresca da raiz (g)	Massa seca da raiz (g)	Comprimento da raiz (cm)
MS	0,090 bc	0,0097 c	7,52 ab
MS 1/2	0,170 b	0,0200 b	8,00 a
MS ¾	0,330 a	0,0314 a	9,53 a
MS CARVÃO ATIVADO	0,005 c	0,0045 c	5,85 b

*Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

Pereira et al. (1999) em estudos realizados com duas cultivares de morangueiro, obtiveram a maior média para comprimento de raiz da cultivar Hofla, em plantas cultivadas em MS com 50% dos macronutrientes, já para a cultivar Tangi

a maior média foi observada nas plantas cultivadas em meio MS com 75% dos macronutrientes, porém não diferiu estatisticamente do meio MS com 50%.

Em relação à quantificação de betacianina ocorreu diferença estatística tanto em relação aos órgãos, como para os meios testados, sendo as maiores concentrações de betacianina encontradas nas folhas de plantas cultivadas em meio MS com 75% dos macronutrientes do meio MS básico (Tabela 3).

Tabela 3. Quantificação de betacianina em folhas e caules de *Alternanthera tenella* cultivadas *in vitro* em diferentes meios de cultivo por 35 dias.

Meios	Folha (mg Amarantina 100g MF ⁻¹)	Caule (mg Amarantina 100g MF ⁻¹)
MS	16,76 cA	8,24 aB
MS 1/2	43,90 aA	8,83 aB
MS ¾	27,73 bA	8,92 aB
MS CARVÃO ATIVADO	6,40 dA	6,16 aA

*Médias seguidas pela mesma letra, minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

4 CONCLUSÕES

- A redução das concentrações dos macronutrientes do meio MS não influencia no cultivo *in vitro* de *A. tenella*.

- A adição de carvão ativado no meio MS favorece o crescimento de plantas de *A. tenella in vitro*.

- A redução de macronutrientes do meio proporciona maior síntese de betacianina, ativando o metabolismo secundário possivelmente para minimizar o estresse causado pela diminuição destes nutrientes.

5 REFERÊNCIAS

CAI, Y.; SUN, M.; WU, H.; HUANG, R.; CORKE, H. Characterization and Quantification of Betacyanin Pigments from Diverse Amaranthus Species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, p.2063 - 2079, 1998.

FERREIRA, E.A.; PROCÓPIO, S.A.; SILVA, E.A.E.; SILVA, A.A.; RUFINO, R.J.N. Estudos anatômicos de folhas de plantas daninhas de grande ocorrência no Brasil. IV- *Amaranthus deflexus*, *Amaranthus spinosus*, *Alternanthera tenella* e *Euphorbia heterophylla*. **Planta Daninha**, Viçosa, v.21, n.2, p.263 - 271, 2003.

KOWALSKI, B.; STADEN, J. Micropropagation of *Podocarpus henkelii* and *P. elongates*. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 67, p.362 – 326, 2001.

MACHADO, A., CONCEIÇÃO, A.R. **Programa estatístico WinStat – Sistema de Análise Estatístico para Windows**, versão 2.0. Pelotas, RS, 2002.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473 - 497, 1962.

MOHAMED-YASSEEN, Y. Influence of agar and activated charcoal on uptake of gibberellin and plant morphogenesis *in vitro*. **Cellular and Developmental Biology Plant**, v.37, p.204 – 215, 2001.

OKSMAN-CALDENTEY, K.; INZÉ, D. Plant cell factories in the post-genomic era: new ways to produce designer secondary metabolites. **Trends in Plant Science**, Lisboa, v.9, n.9, p.433 - 440, 2004.

PEREIRA, J. E. S.; BIANCHI, V. J.; DUTRA, L. F.; FORTES, G. R. L. Enraizamento in vitro de morangueiro (*Fragaria x ananassa* Duchesne) em diferentes concentrações do meio MS. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 1, p.17 – 20, 1999.

SALVADOR, M.J., DIAS, D.A. Flavone C-glycosides from *Alternanthera maritima* (Mart.) St. Hil. (Amaranthaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.32, p.107 - 110, 2004.

STRACK, D.; VOGT, T.; SCHLIEMANN, W. Recent advances in betalain research. **Phytochemistry**, v.62, p.247 - 269, 2003.