

EFEITO DO COBRE SOBRE O CRESCIMENTO E PRODUÇÃO DE BETACIANINAS EM PLANTAS DE *Alternanthera tenella*

FLORES, M.C.¹; CUCHIARA, C.C.¹; ZANANDREA, I.¹; BRAGA E.J.B.¹;
PETERS, J.A.^{1,2}

¹ Laboratório de Cultura de Tecidos, UFPel, Instituto de Biologia, Depto. Botânica, Campus
Universitário S/N. Capão do Leão, RS. CEP: 96160-000 – pentamau@yahoo.com.br

² Professor orientador – japeters1@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

O cobre (Cu) é um metal de transição, redox ativo e essencial para as plantas. No metabolismo vegetal, ele desempenha papéis na fotossíntese, respiração, atividade antioxidante, metabolismo da parede celular, lignificação, percepção hormonal e produção de metabólitos secundários (MARSCHNER, 1995; PILON et al., 2006; BURKHEAD et al., 2009; LEQUEUX et al., 2010). Os íons Cu também atuam como co-fatores, de numerosas enzimas tais como superóxido dismutase Cu/Zn (Cu/ZnSOD), citocromo oxidase, ascorbato oxidase, amino oxidase, lacase, plastocianina e polifenol oxidase (YRUELA, 2009). Assim, tanto a deficiência quanto o excesso de Cu pode causar distúrbios nutricionais nas plantas afetando importantes processos fisiológicos.

Alternanthera tenella Colla, conhecida popularmente como apaga-fogo, é pertencente a família Amaranthaceae e, assim como outras plantas da mesma família, apresentam betalaínas na sua composição química (FERREIRA et al., 2003). As vias biossintéticas das betalaínas consistem de várias etapas de reações químicas e enzimáticas, nas quais o ponto inicial é a formação de DOPA (dihidroxifenilalanina), catalisado pela enzima cúprica tirosinase (TANAKA et al., 2008). As betalaínas podem ser divididas em betacianinas e betaxantinas, utilizadas na medicina popular e na indústria como corantes e conservantes antioxidantes (CAI et al., 2005; VOLP et al., 2009).

Estudos com espécies vegetais têm evidenciado que o íon divalente Cu²⁺ tem causado efeito na produção de alguns metabólitos secundários e alterações morfofisiológicas em função das condições impostas (PEROTTI et al., 2010). Tendo em vista que a tirosinase atua na rota de biossíntese de betalaínas e que o Cu pode aumentar a síntese deste metabólito secundário, este trabalho teve como objetivo, avaliar as características morfológicas de plantas de *A. tenella* submetidas a diferentes concentrações de Cu em solução nutritiva, e analisar a influência deste nutriente na produção de betacianina.

2. METODOLOGIA

Foram utilizadas plantas de *A. tenella*, estabelecidas e multiplicadas *in vitro* e aclimatizadas durante quinze dias em sala de crescimento, sob densidade de fluxo de fótons de 120 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 16 h. Posteriormente, as plantas foram transferidas para um sistema hidropônico e cultivadas em solução nutritiva completa de HOAGLAND; ARNON (1938) por três dias. No quarto dia, as plantas foram submetidas aos diferentes concentrações de Cu, por meio do uso da solução nutritiva acima citada contendo as seguintes concentrações de Cu: 0,041 (controle); 0,082; 0,164; 0,246 e 0,328 mM, na forma de sulfato de cobre (CuSO₄.5H₂O), permanecendo nas mesmas condições de densidade de fluxo de fótons e fotoperíodo por treze dias. As soluções foram renovadas a cada três dias

e, no décimo terceiro dia, foram realizadas as avaliações dos parâmetros morfológicos e quantificação de betacianina.

Os parâmetros morfológicos avaliados foram: comprimento da parte aérea (cm); número de folhas; massa fresca da parte aérea e do sistema radicular (mg); massa seca de parte aérea e do sistema radicular, obtida pela pesagem do material vegetal após secagem em estufa de ventilação forçada a 70°C até peso constante (mg) e área foliar, estimada utilizando-se de medidor de área foliar Li-Cor, modelo LI-3100 (cm² planta⁻¹). Para a quantificação de betacianinas, foram utilizados aproximadamente 200 mg de folhas e caule, macerados em 5 mL de água destilada seguido de centrifugação a 13.632 g, a 4°C por 25 minutos, segundo metodologia descrita por CAI et al. (1998). A concentração de betacianinas foi expressa em mg de amarantina por 100 g de massa fresca.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado constituído de cinco doses de cobre como níveis do fator tratamento (0,041; 0,082; 0,164; 0,246 e 0,328 mM) e quatro repetições (quatro plantas por repetição). Os resultados foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância por meio do programa Winstat (MACHADO; CONCEIÇÃO, 2007).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Cu, em altas concentrações, reduz o crescimento e interfere com processos celulares importantes, tais como a fotossíntese e respiração (MARSCHNER, 1995; YRUELA, 2009). Os dados obtidos nesse trabalho corroboram com relatados por esses autores. Quando comparados ao controle (0,041 mM), houve redução de 44, 60 e 136% no comprimento dos ramos ($p = 0,02$), massa fresca do sistema radicular (MFSR; $p = 0,0001$) e massa seca da parte aérea (MSPA; $p = 0,04$) das plantas cultivadas com altas concentrações de Cu, respectivamente (Figura 1). A concentração de 0,082 mM de Cu também proporcionou redução de 119 e 121% na área foliar ($p = 0,00002$) e massa fresca da parte aérea (MFPA; $p = 0,00001$), quando comparados ao controle. Já as concentrações superiores causaram de 560 e 543% de redução nesses mesmos parâmetros em relação a menor concentração. Adicional a isso, a massa seca do sistema radicular (MSSR; $p = 0,01$) também diminuiu com o aumento da concentração do micronutriente. Com base nesses resultados, pode-se sugerir que a redução de biomassa está diretamente relacionada a diminuição da fotossíntese, conforme demonstrado anteriormente em estudos da fluorescência transiente da clorofila a (CUCHIARA et al., 2013).

A adição de Cu, em altas concentrações, tem apresentado efeitos positivos na produção de metabólitos secundários (PEROTTI et al., 2010). Desta forma, as folhas de *A. tenella* cultivadas em 0,164, 0,246 e 0,328 mM de Cu apresentaram aumento de 209% no conteúdo de betacianina em relação as concentrações menores ($p = 0,02$) (Figura 1G). Assim como no caule, o conteúdo de betacianina apresentou aumento de 291% quando as plantas foram cultivadas nas concentrações de 0,246 e 0,328 mM de Cu ($p = 0,03$). Os resultados presentes nesse trabalho estão de acordo com PEROTTI et al. (2010), que relatam que o incremento da produção de betacianina pode ter sido influenciada pela maior disponibilidade desse íon.

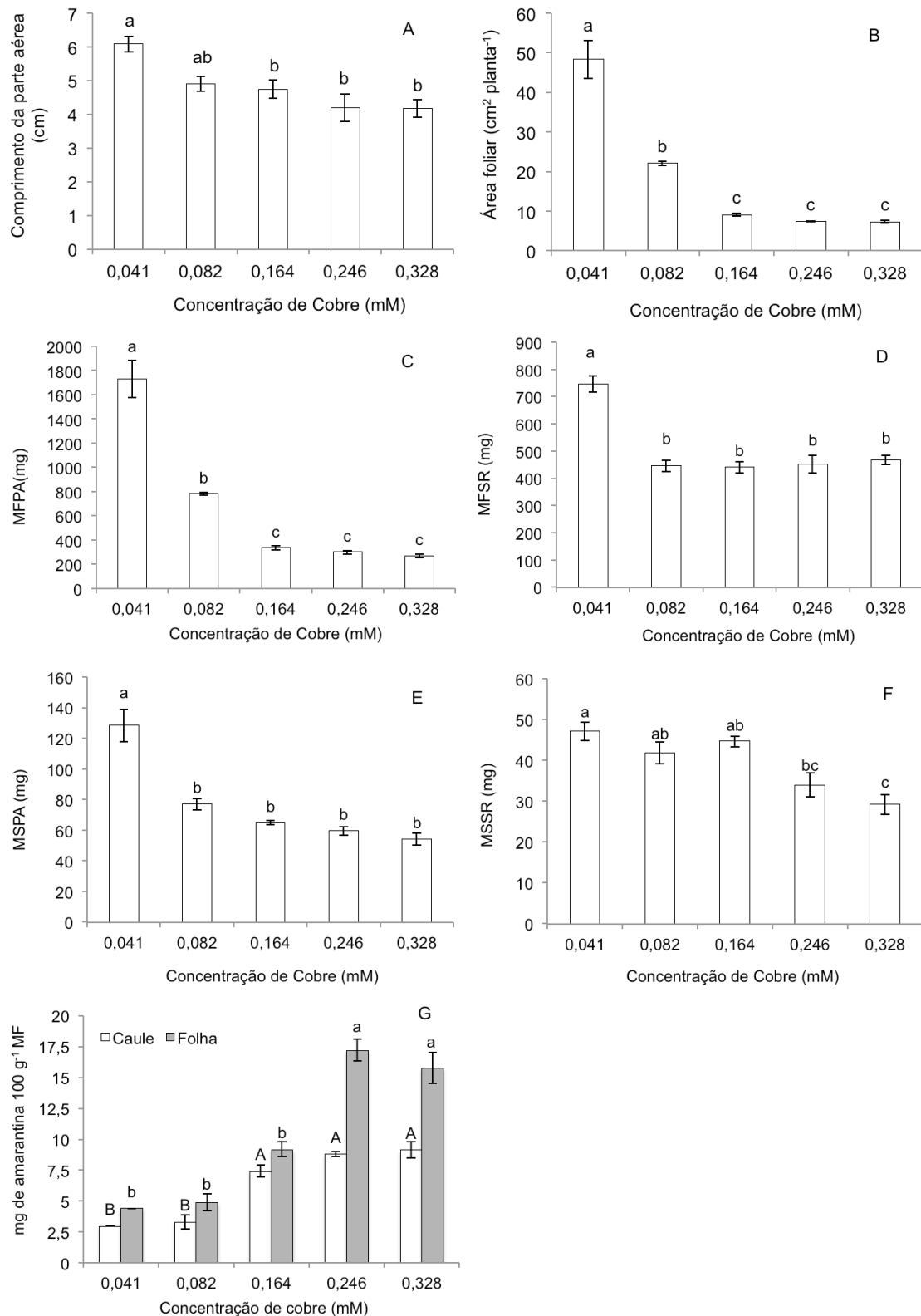


Figura 1. Efeito do cobre sobre os parâmetros morfológicos em plantas de *Alternanthera tenella*: (A) Comprimento da parte aérea; (B) Área foliar; (C) Massa fresca da parte aérea (MFPA); (D) Massa fresca do sistema radicular (MFSR); (E) Massa seca da parte aérea (MSPA); (F) Massa seca do sistema radicular (MSSR); (G) Conteúdo de betacianinas. Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) dentro de cada característica avaliada \pm SE, $n = 20$.

4. CONCLUSÕES

O excesso do micronutriente Cu causa aumento do conteúdo de betacianina e reduz o crescimento em plantas de *A. tenella*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BURKHEAD, J.L.; GOGOLIN REYNOLDS, K.A.; ABDEL-GHANY, S.E.; COHU, C.M.; PILON, M. Copper homeostasis. **New Phytologist**, v.182, p.799-816, 2009.
- 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. 2063-2070, 1998.
- CAI, Y.; SUN, M.; CORKE, H. HPLC Characterization of betalains from plants in the Amaranthaceae. **Journal of Chromatographic Science**, Nilus, v. 43 p. 454-60, 2005.
- CUCHIARA, C.C.; SILVA, I.M.C.; MARTINAZZO, E.G.; BRAGA, E.J.B.; BACARIN, M.A.; PETERS, J.A. Chlorophyll Fluorescence Transient Analysis in *Alternanthera tenella* Colla Plants Grown in Nutrient Solution with Different Concentrations of Copper. **Journal of Agricultural Science**, v. 5, n. 8, 2013.
- FERREIRA, E. A.; PROCÓPIO, S. O.; SILVA, A. A.; SILVA, E. A. M.; RUFINO, R. J. N. Estudos anatômicos de folhas de espécies de plantas daninhas de grande ocorrência no Brasil. IV-*Amaranthus spinosus*, *Alternanthera tenella* e *Euphorbia heterophylla*. **Planta Daninha**, Viçosa, v. 21, n. 2, p. 263-271, 2003.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. **The water-culture method for growing plants without soil**. Berkeley, California, University of California College of Agriculture, Agricultural Experimental Station. Circular 347, 1938. p. 1–39.
- LEQUEUX, H.; HERMANS, C.; LUTTS, S.; VERBRUGGEN, N. Response to copper excess in *Arabidopsis thaliana*: Impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.48, n.8, p.673-82, 2010.
- MACHADO, A. A.; CONCEIÇÃO, A. R. **WinStat – Sistema de Análise Estatística para Windows versão 1.0**. Universidade Federal de Pelotas, 2007.
- MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. London: Academic Press, 1995. 889p.
- PEROTTI, J.C.; RODRIGUES, I.C.S.; KLEINOWSKI, A.M.; RIBEIRO, M.V.; EINHARDT, A.M.; PETERS, J.A.; BACARIN, M.A.; BRAGA, E.J.B. Produção de betacianina em erva-de-jacaré cultivada *in vitro* com diferentes concentrações de sulfato de cobre. **Ciência Rural**, v.40, n.9, p.1874-1880, 2010.
- PILON, M.; ABDEL-GHANY, S.E.; COHU, C.M.; GOGOLIN, K.A.; YE, H. Copper cofactor delivery in plant cells. **Current Opinion in Plant Biology**, v.9, p.256–263, 2006.
- TANAKA, Y.; SASAKI, N.; OHMIYA, A. Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. **The Plant Journal**, Malden, v. 54, p. 733–749, 2008.
- VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGUETA, P. C. Pigmentos naturais bioativos. **Alimentação e Nutrição**, São Paulo, v. 20, n. 1, p. 157-166, 2009.
- YRUELA, I. Copper in plants: acquisition, transport and interactions. **Functional Plant Biology**, v.36, p.409-430, 2009.