

PRODUÇÃO DE BETALAÍNAS EM ESPÉCIES DO GÊNERO *ALTERNANTHERA*

RENATA TREVIZAN TELLES DE SOUZA¹; ANDRESSA REIS²; ALITCIA
 MORAES KLEINOWSKI²; ROSANE KLEIN²; EUGENIA JACIRA BOLACEL
 BRAGA³

¹Universidade Federal de Pelotas – renatattelles@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – dessa_reis@yahoo.com.br

³Universidade Federal de Pelotas – jacirabraga@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Algumas plantas do gênero *Alternanthera* (Amaranthaceae), incluindo *Alternanthera sessilis*, *Alternanthera philoxeroides*, *Alternanthera tenella* e *Alternanthera brasiliana* são utilizadas na medicina popular (BIELLA, 2007), fato que pode ser justificado pela presença de vários princípios ativos dentre eles as betalaínas (WIESE, 2008). Betalaínas são pigmentos vegetais hidrofílicos, armazenados no vacúolo e empregados como corantes alimentícios, exibindo vasta gama de atividades biológicas desejáveis, incluindo antioxidantes, anti-inflamatórios, hepatoprotetores e propriedades anticancerígenas (GEORGIEV et al., 2010). Essas se dividem em betacianinas vermelho-violáceas, com espectro de absorvância em 536nm e betaxantinas que são amarelas, com espectro de absorvância em 480nm (GANDIA-HERRERO et al., 2013).

Os avanços na área de biotecnologia vegetal têm sido bastante eficazes no estudo e produção de metabólitos secundários *in vitro* e no melhoramento de plantas medicinais (RAMAKRISHNA; RAVISHANKA, 2011), sendo a cultura de tecidos de plantas uma fonte alternativa de substâncias bioativas, incluindo os pigmentos, além de oferecer algumas vantagens frente ao *ex vitro*, como a capacidade de manter condições controladas. O emprego de elicitores físicos, como a luz, pode afetar a produção de compostos bioativos de plantas e sabe-se que as luzes, branca, vermelha e azul são capazes de aumentar a transdução de sinais e a biossíntese de betalaínas (KISHIMA et al., 1995).

Com base nos estudos acima citados, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da qualidade de luz na produção de betalaínas em plantas de *A. sessilis*, *A. philoxeroides*, *A. tenella* e *A. brasiliana*, cultivadas *in vitro*.

2. METODOLOGIA

Foram utilizadas plantas de *A. brasiliana*, *A. philoxeroides*, *A. sessilis* e *A. tenella* estabelecidas em meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) por 30 dias, pertencentes ao Banco de Plantas *in vitro* do Laboratório de Cultura de Tecidos da Universidade Federal de Pelotas, Brasil.

Para o estabelecimento do experimento, segmentos nodais de aproximadamente 1cm de comprimento, contendo uma gema, foram utilizados como explantes e inoculados em frascos erlenmeyer, em meio MS, contendo 30 g L⁻¹ de sacarose, 8g L⁻¹ de ágar, 100mg L⁻¹ de inositol e ausência de reguladores de crescimento. O material permaneceu sob fotoperíodo de 16h, com temperatura de 25°C ±2, em diferentes condições de luminosidade, por um período de 45 dias.

As distintas condições de luz foram fornecidas por três tipos de lâmpada: luz branca (Sylvania® - 40W), luz azul (Taschibra® - 14W, com pico de emissão

de 470nm) e luz vermelha (G-light®- 15W, com pico de emissão de 660nm). As densidades de fluxo de fótons para as luzes branca, azul e vermelha, medidas com luxímetro (Hansatech® Quantum Sensor QSRED) foram 25, 12 e 22 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente. O experimento foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 4x3 (quatro espécies de plantas e três fontes de luz). Foram realizadas 10 repetições de um frasco com quatro explantes. A partir deste material vegetal foram quantificados betaxantinas e betacianinas totais. A primeira foi realizada seguindo a metodologia de GANDIA-HERRERO et al. (2005) onde a concentração de betaxantina foi calculada através da leitura da absorbância à 480nm, tendo como coeficiente de extinção molar de $\epsilon=48,000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (SCHLIEMANN et al., 1999). Para quantificação de betacianinas totais foi utilizada a metodologia de GANDIA-HERRERO et al. (2007). O coeficiente de extinção molar utilizado para o cálculo de betanidina foi de $\epsilon= 54000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ e para betanina foi de $\epsilon= 65000\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$, conforme relatado por SCHWARTZ; VON ELBE (1980) à 536nm.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, verificou-se que o teor de betaxantinas (Fig. 1) demonstrado em *A. brasiliiana* apresentou maior síntese desse pigmento quando em luz azul e branca, ao contrário do que aconteceu com *A. philoxeroides* que obteve aumento da biossíntese em luz vermelha, porém mantendo o efeito positivo sob luz branca. As plantas de *A. sessilis* e *A. tenella* não apresentaram diferenças significativas no conteúdo de betaxantinas, nas três qualidades luminosas em que foram cultivadas, diferentemente dos resultados demonstrados por BHUIYAN et al. (2002), nos quais as culturas celulares de *Portulaca* aumentaram significativamente o seu teor de betaxantinas.

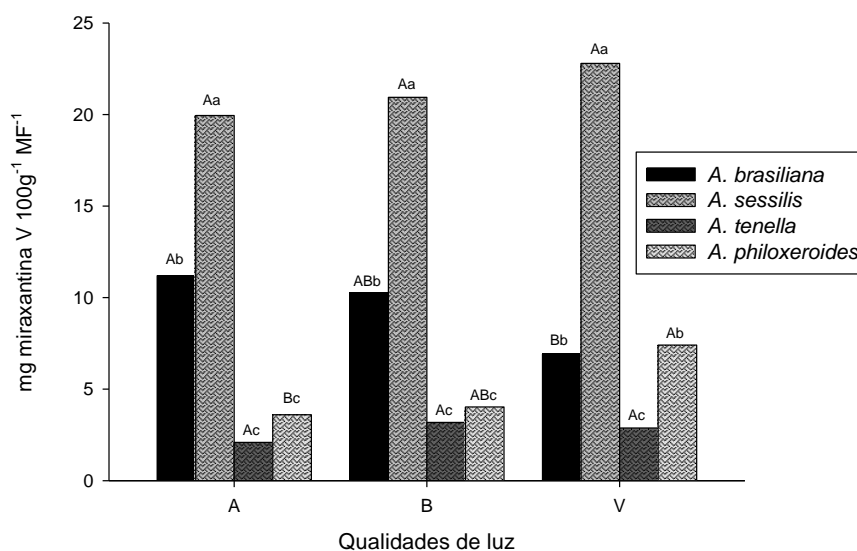


Figura 1 - Teor de betaxantinas totais da parte aérea de plantas de quatro espécies do gênero *Alternanthera*, cultivadas *in vitro*, sob diferentes qualidades de luz, durante 35 dias. Médias seguidas de letras maiúsculas distintas diferem entre si para qualidade de luz e médias seguidas de letras minúsculas distintas diferem entre si para espécie, de acordo com o teste de Tukey ($p<0.05$).

Para quantificação das betacianinas (Fig. 2-A), extraídas com tampão fosfato, foi verificado que em *A. sessilis* e *A. tenella* não houve diferenças

significativas nas luzes testadas, porém, *A. brasiliiana* obteve melhor produtividade deste pigmento quando cultivada em luz branca e luz azul. Quando os pigmentos foram extraídos com tampão acetato/metanol (Fig. 2-B), a luz vermelha foi a que induziu maior produção, na maioria das espécies. Em *A. sessilis*, esta qualidade de luz foi igual à luz azul, porém, em *A. philoxeroides*, as luzes que obtiveram maior indução de betacianinas foram azul e branca. Esses resultados diferem em parte, dos apresentados por BHUIYAN et al. (2002), nos quais houve um aumento drástico na produção de betacianinas em culturas celulares de *Portulaca* sp., quando irradiadas com luz azul.

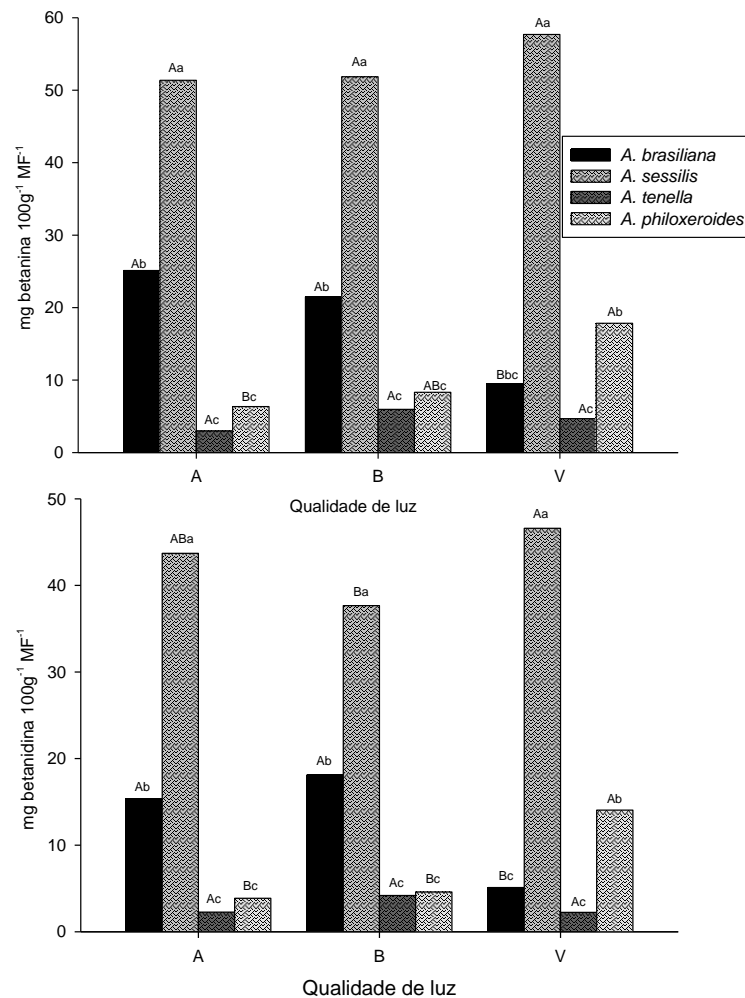


Figura 2- Teor de betacianinas totais da parte aérea de plantas de quatro espécies do gênero *Alternanthera*, cultivadas *in vitro*, sob diferentes qualidades de luz, durante 35 dias. Foi utilizado como solvente o tampão fosfato, pH 6,0, (A) e tampão acetato/metanol (70/30%), pH 5,0 (B). Médias seguidas de letras maiúsculas distintas diferem entre si para qualidade de luz e médias seguidas de letras minúsculas distintas diferem entre si para espécie, de acordo com o teste de Tukey ($p < 0.05$).

4. CONCLUSÕES

O controle da qualidade de luz com taxas apropriadas de branco, azul ou vermelho pode melhorar o conteúdo fitoquímico das espécies em estudo. A espécie *A. sessilis* apresenta os maiores níveis de miraxantina, betanina e betanidina em todas as qualidades de luz quando comparadas as demais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BHUIYAN, N.H.; MURAKAMI, K.; ADACHI, T. Variation in betalain content and factors affecting the biosynthesis in *Portulaca* sp. 'Jewel' cell cultures. **Plant Biotechnology**, v. 19, p. 369- 376, 2002.

BIELLA, C. de. A. **Avaliação da atividade imunomoduladora de *Alternanthera tenella* Colla e investigação de ações do extrato aquoso em modelo de artrite experimental.** 2007. 106 pp. Tese de doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil.

GANDIA-HERRERO, F.; GARCIA-CARMONA, F. Biosynthesis of betalains: yellow and violet plant pigments. **Trends in Plant Science**, v. 18, p. 334-343, 2013.

GANDIA-HERRERO, F.; ESCRIBANO, J.; GARCIA-CARMONA, F. Characterization of the activity of tyrosinase on betanidin. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 55, p.1546-1551, 2007.

GANDIA-HERRERO, F.; ESCRIBANO, J.; GARCIA-CARMONA, F. Betaxanthins as substrates for tyrosinase. An approach to the role of tyrosinase in the biosynthetic pathway of betalains. **Plant Physiology**, v. 138, p. 421-432, 2005.

GEORGIEV, V.G.; WEBER, J.; KNESCHKE, E.; DENEV, P.N.; BLEY, T.; A.I. PAVLOV. Antioxidant activity and phenolic content of betalain extracts from intact plants and hairy root cultures of the red beet root *Beta vulgaris* cv. Detroit dark red. **Plant Foods Humam Nutrition**, v. 65, 105–111, 2010.

KISHIMA, Y.; SHIMAYA, A.; ADACHI, T. Evidence that blue light induces betalain pigmentation in *Portulaca* callus. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 43, p. 67-70, 1995.

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

RAMAKRISHNA, A.; RAVISHANKA, G.A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signaling & Behavior**, v.6, 1720-1731. 2011.

SCHLIEMANN, W.; KOBAYASHI, N.; STRACK, D. The decisive step in betaxanthin biosynthesis is a spontaneous reaction. **Plant Physiology**, v. 119, p. 1217–1232, 1999.

SCHWARTZ, S.J.; VON ELBE, J.H. Quantitative determination of individual betacyanin pigments by high-performance liquid chromatography. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 28, p. 540–543, 1980.

WIESE, L. P. De L. **Avaliação de atividade antioxidante e anti-inflamatória de extrato e frações de *Alternanthera tenella* Colla.** 2008. 123 pp. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Florianópolis, SC, Brasil.