

INFLUÊNCIA DO COBALTO NA PRODUÇÃO DE BETACIANINAS E NO CRESCIMENTO DE PLANTAS DE *Alternanthera tenella* CULTIVADAS *IN VITRO*

EINHARDT, Andersom Milech¹; KLEINOWSKI, Alícia Moraes¹; RODRIGUES-BRANDÃO, Isabel¹; AULER, Priscila Ariane¹; BRAGA, Eugenia Jacira Bolacel¹

¹Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, andersom.m.e@gmail.com

1 INTRODUÇÃO

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

Alternanthera tenella Colla é usada na medicina popular para tratamento contra febre, infecções e inflamações genitais (GUERRA et al., 2003). Estudos de sua composição química indicam a presença de betalaínas e cromoalcaloides (BROCHADO et al., 2003; SALVADOR; DIAS, 2004).

Betalaínas são pigmentos naturais de importância quimiotaxonômica significativa, tipicamente associados com plantas da ordem Caryophyllales, e incluem duas classes de pigmentos: as betacianinas, vermelhas e as betaxantinas, amarelas (DRUNKLER et al., 2004).

A manipulação da concentração de micronutrientes nos meios de cultura representa uma estratégia para aumentar a produção de metabólitos secundários em plantas (JIMENEZ; GUTIERREZ, 1999).

Diversos estudos evidenciaram efeitos positivos sobre a produção de metabólitos secundários em diferentes plantas na presença de Co^{2+} , Cu^{2+} , entre outros (TAPIA et al., 2001), entretanto seu mecanismo de ação ainda não está bem compreendido.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes concentrações de cobalto, no meio de cultivo, sobre a produção de betacianinas e o crescimento de plantas de *Alternanthera tenella* cultivadas *in vitro*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de *A. tenella*, cultivadas *in vitro* em meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), semi-sólido e suplementado de 30g.L^{-1} de sacarose, 100mg.L^{-1} de inositol e 8g.L^{-1} de ágar, foram utilizadas como doadoras de explantes sendo cada explante composto por um segmento nodal, de aproximadamente 1 cm de comprimento, com duas gemas.

Cinco concentrações de cobalto (0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10 μM) foram adicionadas ao meio MS básico, sendo 40mL vertidos em cada frasco de vidro de 200 mL e autoclavado por 20 minutos a uma temperatura de 121°C e pressão de 1,05 kg cm^{-2} . A fonte de cobalto utilizada foi o cloreto de cobalto.

Os explantes foram inoculados nos meios de cultura, em câmara de fluxo laminar e em condições totalmente assépticas. Após, os frascos com os explantes

foram mantidos 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 $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Aos 35 dias de cultivo foi avaliado o número de gemas e de brotos, altura (cm), comprimento (cm) e massa seca (g) das raízes e teor de betacianina (mg amarantina.100g MF⁻¹) do caule e folhas.

Para realizar a análise das betacianinas, a parte aérea das plantas de *A. tenella* foi separada em folhas e caule. 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 de amarantina.100g MF⁻¹.

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (concentrações de cobalto), cada um contendo três repetições, representadas por um frasco contendo quatro 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).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações de cobalto testadas não diferiram do tratamento controle nas características morfológicas avaliadas nas plantas de *A. tenella*, sendo obtido como média dos tratamentos, altura de 2,53 cm, comprimento das raízes de 9,16 cm, número de gemas de 12,3 e massa seca das raízes igual a 0,026g.

O tratamento com a maior concentração de cobalto (10 μM) induziu a maior produção de betacianina nas folhas das plantas em relação ao tratamento sem a presença do mesmo, não diferindo estatisticamente das demais concentrações (Figura 1).

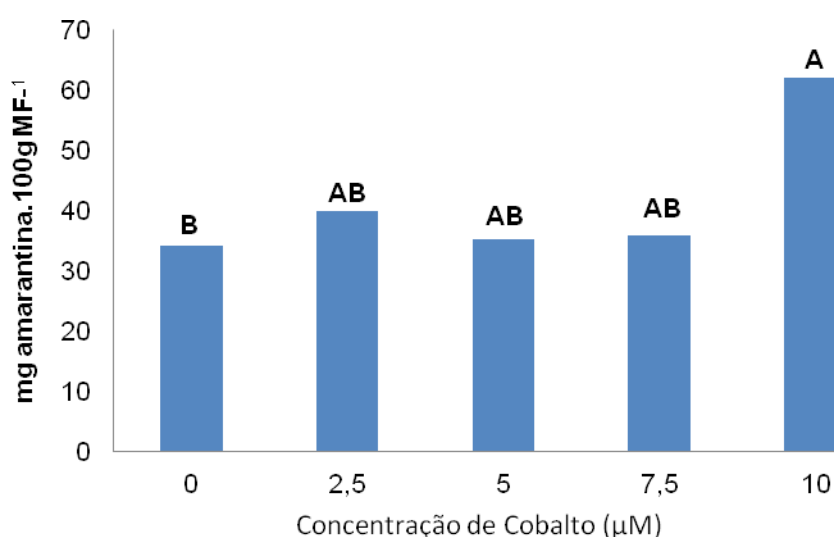


Figura 1- Concentração de amarantina em folhas de plantas de *A. tenella* cultivadas *in vitro* por 35 dias, sob diferentes concentrações de cobalto. Colunas seguidas pelas mesmas letras não são significativamente diferentes a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Para a variável teor de betacianina no caule, não ocorreu diferença significativa entre as concentrações de cobalto testadas (Figura 2).

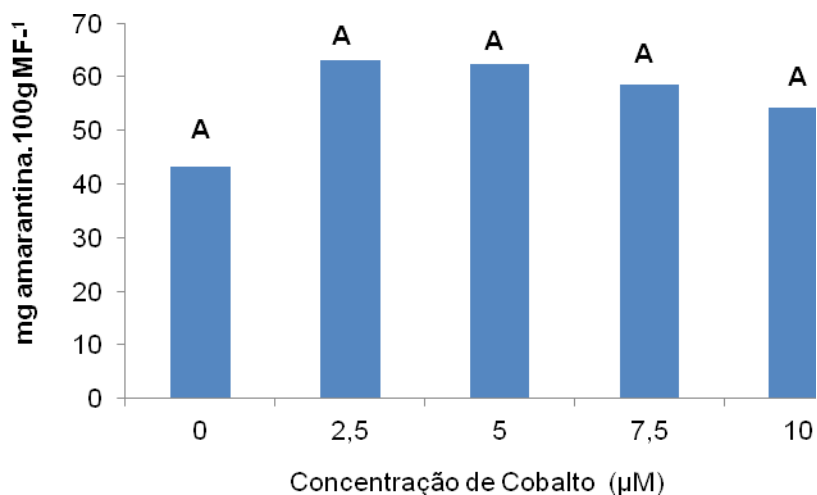


Figura 2- Concentração de amaranantina em caules de plantas de *A. tenella* cultivadas *in vitro* por 35 dias, sob diferentes concentrações de cobalto. Colunas seguidas pelas mesmas letras não são significativamente diferentes a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tapia et al. (2001) constatou aumento de produção de betalaínas no cultivo de células de *Beta vulgaris*, atingindo valor máximo de 17,5 mg betalaínas.g MF⁻¹ na concentração de 5µM de cobalto, ao vigésimo dia de cultivo, quando comparado ao meio contendo 0,026µM de cobalto (12,7 mg betalaínas. g MF⁻¹).

4 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que o cobalto induz o aumento da biossíntese de betacianinas nas folhas de *A. tenella* cultivadas *in vitro*.

5 REFERÊNCIAS

BROCHADO, C. O. et al. Flavonol robinobiosides and rutinosides from *Alternanthera brasiliana* (Amaranthaceae) and their effects on lymphocyte proliferation *in vitro*. **Jornal Brazilian Chemistry**, v. 14, p. 449-451, 2003.

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.

DRUNKLER, A. D.; FALCÃO, D. L.; BORDIGNON-LUIZ, T. M. Influência dos ácidos tânico e gálico na estabilidade de betacianinas do extrato bruto de beterraba vermelha (*Beta vulgaris* L.). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 15, n. 1, p. 35-41, 2004.

GUERRA, R.N.M.; PEREIRA, H.-A.W.; SILVEIRA, L.M.S.; OLEA, R.S.G. Immunomodulatory properties of *Alternanthera tenella* Colla aqueous extracts in mice. [Brazilian Journal of Medical and Biological Research](#), v.36, n.8, p. 1215-1219, 2003.

JIMENEZ, A.; GUTIERREZ, L. Production of food related colorants by culture of lant cells. The case of betalains. **Chemicals via Higher Plant Bioengineering**, v. 464, p 195-210, 1999.

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

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-97, 1962.

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.

TAPIA, G. T.; APARICIO, A. J.; MONROY, M. R.; SANCHEZ, A. D. J.; LOPEZ. G. G. Influence of cobalt and other microelements on the production of betalains and the growth of suspension cultures of *Beta vulgaris*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 67, p. 19-23, 2001.