

IMPACTO DA ELICITAÇÃO COM FEEDTA SOBRE O ACÚMULO DE BETALAÍNAS E CRESCIMENTO IN VITRO DE *IRETINE HERBSTII*

LILIANE SILVEIRA VARNES¹; CHRISLAINE YONARA SCHOENHALS RITTER²;
MARCELO NOGUEIRA DO AMARAL²; SIMONE RIBEIRO LUCHO²; JAQUELINE
DA SILVA DOS SANTOS²; EUGENIA JACIRA BOLACEL BRAGA³

¹Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – liliane.varnes@outlook.com

²Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – chrislaineritter@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – jacirabraga@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Apesar da crescente destruição dos recursos naturais e ecossistemas do país, o Brasil segue sendo uma fonte rica de espécies vegetais, muitas delas com propriedade medicinal. Uma dessas espécies nativas é a *Iretine herbstii*, popularmente conhecida como coração-magoado, devido à morfologia e cor de suas folhas, que apresentam “formato de coração” e forte pigmento avermelhado (ARAGÃO, 2017).

Esses pigmentos, chamados de betalainas, ocorrem exclusivamente em plantas da ordem Caryophyllales, apresentando um papel biológico importante para a defesa de estressores bióticos e abióticos, atuando também como fotoprotetores. As betalainas também apresentam um forte apelo comercial na área alimentícia, onde podem ser utilizadas como corante alimentício natural, apresentando estabilidade da cor em amplo espectro de pH e temperatura, assim como maior solubilidade em água e atividade antioxidante superior às antocianinas, por exemplo (POLTURAK; AHARONI, 2018).

Uma forma de levar ao acúmulo de metabólitos especializados é a partir do uso de elicitores, que são fatores, moléculas ou agentes capazes de estimular o sistema de defesa das plantas ao serem incorporados por elas, aumentando a produção de compostos bioativos (NIELSEN et al., 2019).

Diante disso, o objetivo do presente trabalho é avaliar se o uso do elicitor EDTA férrico (FeEDTA) é capaz de incrementar o acúmulo de metabólitos especializados sem afetar os parâmetros de crescimento de *I. herbstii* in vitro.

2. METODOLOGIA

Este trabalho foi desenvolvido durante os anos de 2019/20 no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, do Departamento de Botânica, pertencente ao Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), situado no Campus Capão do Leão (RS). Para o desenvolvimento do mesmo, foram utilizadas plantas de *I. herbstii* já previamente estabelecidas in vitro, como fonte de explantes. Foi preparado o meio de cultivo MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), sem a adição de reguladores de crescimento, acrescido de 30 g L⁻¹ de sacarose, 100 mg de inositol e 7 g L⁻¹ de ágar. A este, foram acrescentadas, separadamente, cinco diferentes concentrações do elicitor FeEDTA, em µM: 0, 25, 75, 150 e 300. Foram vertidos aproximadamente 40 mL dos meios com elicitores em frascos do tipo Erlenmeyer de 250 mL, vedados com algodão, posteriormente autoclavados por 20 min a 1,05 kg cm⁻² e temperatura de 121 °C.

Após a preparação dos meios de cultivo, foi realizada a inoculação de segmentos nodais de aproximadamente 1 cm plantas de *I. herbstii* em fluxo laminar, inoculando três explantes em cada frasco, representando estes as repetições, e três repetições de cada tratamento. Em seguida, o material estabelecido foi mantido em sala de crescimento em condições de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ de temperatura e fotoperíodo de 16h, por aproximadamente 45 dias.

Ao fim deste período, o material foi coletado para avaliação de parâmetros de crescimento, sendo estes: altura, comprimento de raízes, número de brotações, número de folhas, número de segmentos nodais, massa fresca da parte aérea, massa fresca da raiz, massa seca da parte aérea e massa seca da raiz. Para a realização de análises fitoquímicas, o experimento foi repetido mais uma vez, e foi quantificado as betalaínas totais: betanidina, betanina, amarantina e betaxantina. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e três repetições de cada. Os resultados obtidos foram submetidos a análise de regressão.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Parâmetros de crescimento

Através da regressão polinomial, para altura observou-se a tendência de aumento do parâmetro até 75 μM , decrescendo em seguida para aumentar novamente próximo a 300 μM (Figura 1A). Quanto ao comprimento de raízes, foi observada uma tendência linear de decréscimo do parâmetro à medida que a concentração do elicitador aumenta, como mostra a Figura 1B.

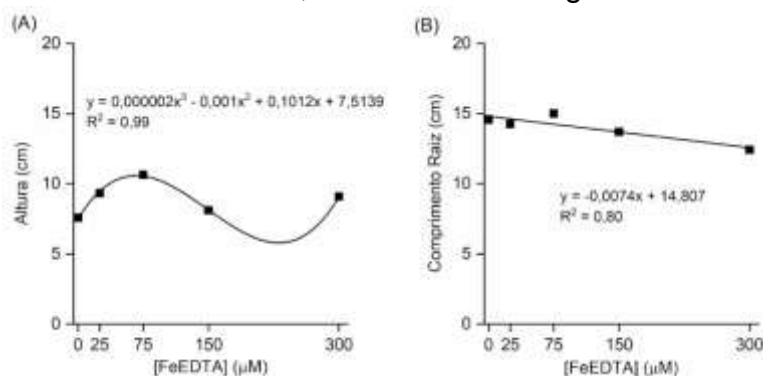


Figura 1. Altura (A) e comprimento de raiz (B) de plantas de *I. herbstii* cultivadas in vitro na presença de FeEDTA.

Para o número de brotações, não foi observada diferença estatística. Já para número de folhas (Figura 2A) e número de segmentos nodais (Figura 2B), ambos apresentaram o mesmo padrão de distribuição de dados, onde se observa um aumento nos parâmetros até determinada concentração, para decrescer em seguida.

Da mesma forma, a massa fresca da parte aérea (Figura 3A) e a massa fresca da raiz (Figura 3B), tenderam ao aumento no valor do parâmetro até 150 μM , decrescendo em concentrações superiores a esta. O mesmo comportamento também ocorreu para massa seca da parte aérea e das raízes, onde ambas apresentaram tendência ao aumento para decrescer em seguida em concentrações superiores a 75 μM , aumentando novamente próximo dos 300 μM .

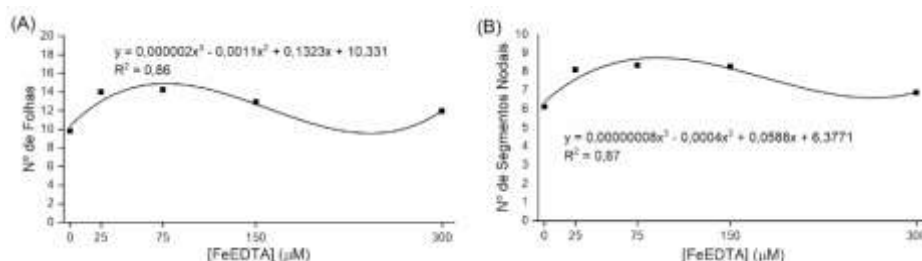


Figura 2. Número de folhas (A) e número de segmentos nodais (B) de plantas de *I. herbstii* elicidadas com FeEDTA.

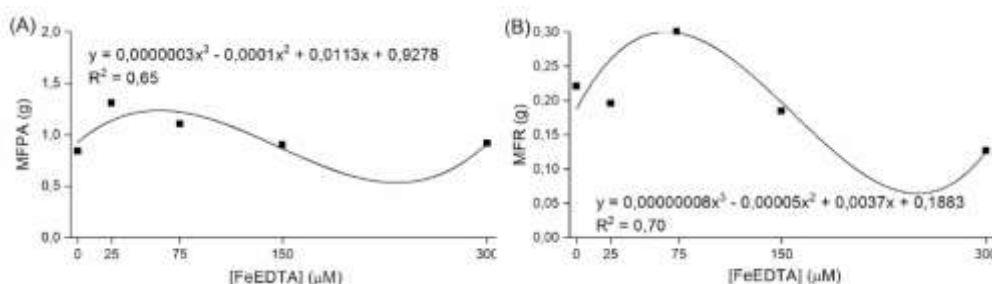


Figura 3. Massa fresca da parte aérea (A) e massa fresca das raízes (B) de plantas de *I. herbstii* cultivadas in vitro com FeEDTA.

O excesso de ferro em plantas costuma concentrar seus efeitos nas folhas, entretanto, em *I. herbstii*, somente o comprimento de raízes mostrou decréscimo linear frente ao aumento da concentração de FeEDTA, mostrando uma possível tendência da espécie em acumular o metal nas raízes.

Análises fitoquímicas

Quanto à betanidina (Figura 4A), ocorreu uma tendência de decréscimo da concentração do pigmento em relação ao aumento da oferta de FeEDTA. Já para betanina, ocorreu um aumento dos valores da variável até determinada concentração, decrescendo em seguida, como mostra a Figura 4B. Em relação à amarantina (Figura 5), o comportamento foi similar ao de betanina, aumentando a concentração do pigmento em relação ao aumento do elicitor, decrescendo nas maiores concentrações. Assim como betanina e amarantina, a betaxantina também tendeu ao aumento com a concentração do elicitor, decrescendo em altas concentrações.

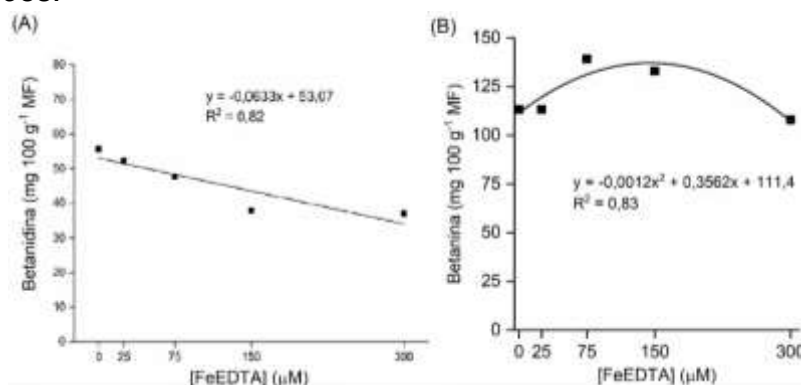


Figura 4. Concentração de betanidina (A) e betanina (B) por massa fresca de *I. herbstii* sob elicitação por FeEDTA.

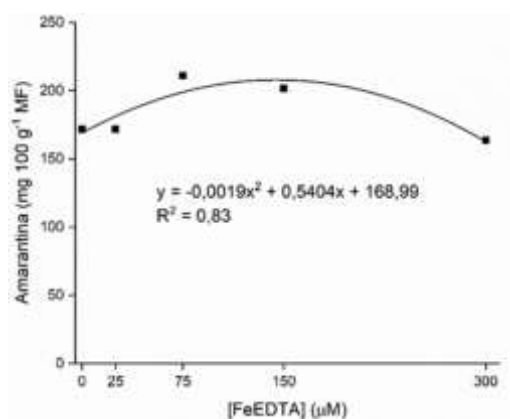


Figura 5. Concentração de amaranantina em *I. herbstii* cultivada in vitro na presença de FeEDTA.

4. CONCLUSÕES

A utilização de FeEDTA como elicitor em *I. herbstii* é possível por não demonstrar efeitos deletérios acentuados aos parâmetros de crescimento, visto que as plantas foram capazes de desenvolverem-se mesmo em altas concentrações do elicitor. Entretanto, o acúmulo de pigmentos betalâmicos não foi tão significativo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAGÃO, S. C. V. **Triagem fitoquímica e avaliação da toxicidade do extrato bruto das folhas de *Iresine herbstii***. 2017.

MURASHIGE, Toshio; SKOOG, Folke. A revised medium for rapid growth and bio assays with Tobacco tissue cultures. **Physiol. plant**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

NIELSEN, Erik; TEMPORITI, Marta Elisabetta Eleonora; CELLA, Rino. Improvement of phytochemical production by plant cells and organ culture and by genetic engineering. **Plant cell reports**, v. 38, n. 10, p. 1199-1215, 2019.

POLTURAK, G.; AHARONI, A. “La Vie En Rose”: biosynthesis, sources, and applications of betalain pigments. **Molecular plant**, v. 11, n. 1, p. 7-22, 2018.