

INDUÇÃO DE ANTOCIANINAS EM ALFACE ROXA MEDIANTE APLICAÇÃO DE ÁCIDO ABCSÍCIO ESTRESSE HÍDRICO OU ESTRESSE SALINO

ULI TRINDADE DE ALMEIDA¹; TATIANE JÉSSICA SIEBENEICHLER²;
VANESSA GALLI³

¹Universidade Federal de Pelotas –ulialmeida94@gmail.com

²Univerisade Federal de Pelotas – tatij1@hotmail.com

³Univerisade Federal de Pelotas– vane.galli@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L.) é um importante vegetal, devido sua múltipla funcionalidade para consumo, em saladas, geleias, sucos, consumo da folha ou somente do caule, tornando essa hortaliça apreciada em todo o mundo (MOU, 2008). No ano de 2017, foram produzidas mais de 27 milhões de toneladas de alface ao redor do mundo. No Brasil, é considerada a folhosa mais consumida e movimentada cerca de 8 bilhões ao ano (FAOSTAT, 2019).

O consumo de produtos naturais e com potencial benéfico para a saúde tem crescido continuamente a uma taxa de 5-10% por ano e, entre vários alimentos, as plantas são consideradas as principais fontes de compostos bioativos (KIM et al., 2007). As alfaces mostraram atividades anti-inflamatórias, de redução do colesterol e antidiabética em estudos *in vitro* e *in vivo*, propriedades atribuídas aos compostos bioativos presentes nessa hortaliça. No entanto, a composição química de plantas sob diferentes condições de cultivo pode apresentar diferenças, uma vez que metabólitos secundários podem apresentar alterações quantitativamente e qualitativamente, como resultado de exposição à luz ultravioleta, estresse hídrico, excesso de sal, além da aplicação de hormônios. Essas condições são amplamente utilizadas na intenção de incrementar compostos alvo.

Em alface roxa, as antocianinas podem ser compostos alvo interessantes, por fornecerem inúmeras propriedades de promoção da saúde, devido as propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e anticarcinogênicas (LI, MENG et al. 2008 ; YU, 2010). Além disso, há evidências que o acúmulo de compostos fenólicos pode produzir hortaliças mais tolerantes a estresses posteriores, como resistir melhor a pós-colheita (PAIM et al., 2020). A síntese de antocianinas é determinada principalmente pelo fator genético (HOLTON E CORNISH, 1995), mas estudos mostram que também pode-se atingir maior acúmulo desses pigmentos através da aplicação de ácido abscísico (ABA) (JIA et al., 2011), condições de estresse hídrico ou excesso de sal (GALLI et al., 2016). Portanto, no presente trabalho, avaliamos o efeito da aplicação de ácido abscísico, estresse hídrico e estresse salino, como elicitores, no acúmulo de antocianinas em alfaces roxas.

2. METODOLOGIA

As mudas de alface (*Lactuca sativa* cv. Piraroxa) foram obtidas com vinte dias de desenvolvimento e cultivadas em casa de vegetação na Universidade Federal de Pelotas, campus Capão do Leão-RS. Para esse estudo, foram utilizadas 20 mudas, distribuídas randomicamente em embalagens plásticas individuais aclimatadas durante vinte dias até o início do experimento. A partir de então, as plantas foram distribuídas em 4 tratamentos, com 5 repetições cada,

sendo eles: C – (controle) água destilada; ABA - solução de 2,64 mg em 200 mL de água destilada + 2 mL de Tween, aplicado com borrifador na área foliar; ES- (estresse salino) - solução contendo 24,2 mg de Cloreto de Sódio (NaCl) em 2,5 L de água destilada, aplicada diretamente na terra; EH - (estresse hídrico severo) - sem qualquer rega até o final do experimento. Procedeu-se a rega com água nos tratamentos ABA e ES a cada dois dias. A parte aérea de todas as amostras foram coletadas quatro dias após a aplicação dos tratamentos, pesadas em balança analítica e depois selecionadas três folhas para armazenamento a -70 °C.

O conteúdo total de antocianinas foi estimado de acordo com LEE e FRANCIS (1972), com modificações. Para isso, pesou-se 10 mg de amostra liofilizada em microtubo, adicionou-se 2 mL de metanol:Hcl 2,5 N (1:1), agitou-se 1 minuto em vórtex e após foi centrifugado por 10 minutos a 4 °C em 10000 rpm. Uma aliquota de 250 µl do sobrenadante foi transferida para microplaca e lido em espectrofotometro com absorbância de 520 nm.

A extração, identificação e quantificação de cianidina 3-malonil-glicosídeo foi realizado por HPLC MS/MS, de acordo com SIEBENEICHLER et al. (2020). A quantificação foi realizada através de curva de calibração com padrão externo de cianidina.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O peso fresco das alfaces que foram submetidas aos tratamentos com ABA e ES não diferiu significativamente quando comparado ao das plantas controle (Figura 1). Sendo o peso médio de C, 79,5 g; ABA, 78 g; e ES, 77 g. Entretanto, as plantas do tratamento EH apresentaram redução significativa no peso (63 g). Esse resultado era esperado, uma vez que a alface possui 91 % de água em sua composição, sendo uma cultura sensível à restrição hídrica (MOU et al., 2009) .

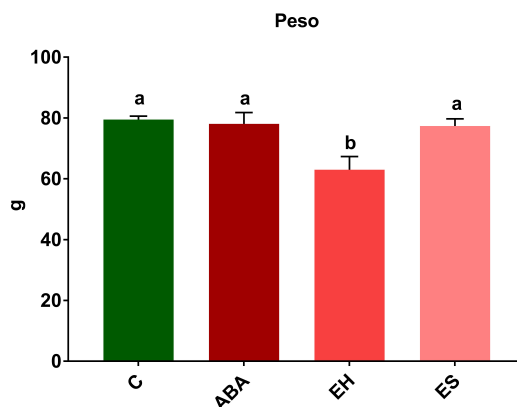


Figura 1 – Peso médio das plantas no dia da colheita. Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão. Letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Conforme os resultados mostrados na Figura 2, o tratamento com aplicação de ABA via foliar promoveu o acúmulo significativamente maior de antocianinas totais em comparação com o controle. Esses resultados corroboram os de outros estudos realizados (JIA et al., 2011; KOYAMA et al., 2018) que indicam que o fitormônio ABA é um importante indutor da biossíntese de

antocianinas e que sua aplicação exógena pode aumentar a expressão de uma ampla gama de genes envolvidos na biossíntese desses pigmentos.

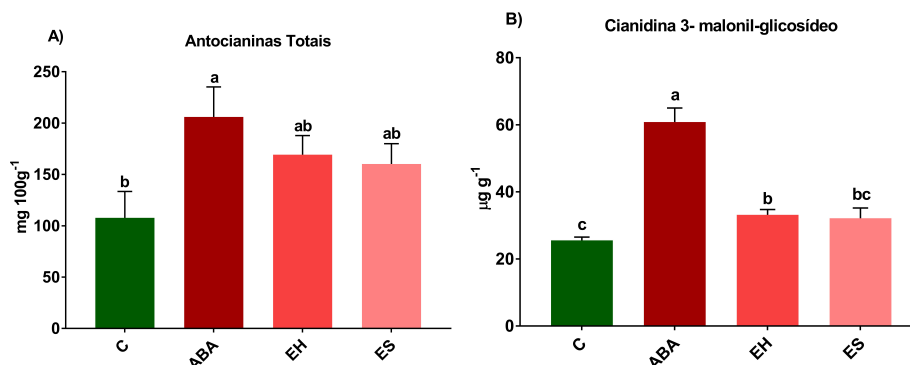


Figura 2 - Conteúdo de antocianinas totais (A) e de cianidina 3-malonil-glicosídeo (B). Resultados expressos em média $\pm$ desvio padrão. Letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

Através da avaliação por HPLC-MS/MS, foi observado um pico cromatográfico único correspondendo à cianidina 3-malonil-glicosídeo (Figura 3). A análise quantitativa demonstrou que o tratamento com ABA resultou em maior acúmulo deste composto, diferindo significativamente dos demais tratamentos (Figura 2). Embora os tratamentos EH ou ES não tenham diferido significativamente de nenhum dos tratamentos em relação ao conteúdo de antocianinas totais, ao avaliar especificamente a cianidina 3-malonil-glicosídeo, observou-se que o tratamento EH resultou em maior teor comparado com o controle. Embora o EH impacte no crescimento e peso das alfaces (Figura 1), vários estudos demonstram que o estresse hídrico pode induzir a produção de metabólitos secundários, compostos benéficos para a saúde, além de importantes para a defesa da planta, podendo propiciar maior resistência no pós-colheita (PAIM et al., 2020; HINOJOSA-GÓMEZ et al. 2020).

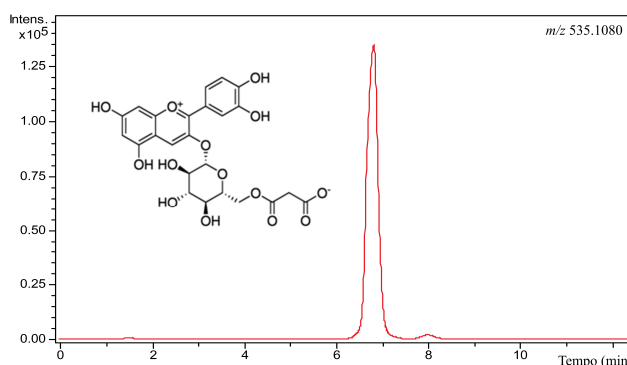


Figura 3-Cromatograma de cianidina3-malonil-glicosídeo obtida por HPLC-MS/MS

4. CONCLUSÕES

Os resultados experimentais indicam que o uso de elicitores representa uma estratégia eficaz para modular a produção de metabólitos secundários em alface roxa. Sendo que o tratamento EH mostrou-se um maior indutor de cianidina 3-malonil-glicosídeo e o ABA resultou em plantas com maior conteúdo de antocianinas totais e cianidina 3-malonil-glicosídeo, sem afetar a produtividade,

representando uma estratégia interessante de biofortificação de compostos de interesse.

5. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior – Brasil (CAPES), através de bolsa de mestrado e recursos do Programa de Apoio à Pós-Graduação (PROAP).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Becker, C., Klaering, H.-P., Kroh, L. W., & Krumbein, A. (2014). Cool-cultivated red leaf lettuce accumulates cyanidin-3-O-(6"-O-malonyl)-glucoside and caffeoylmalic acid. **Food Chemistry**, 146, 404–411.
- FAOSTAT, **Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura**. Dados de cultivos. Disponível em <http://www.fao.org/faostat/#data/qc>. Acesso em: 06/04/2020
- GALLI, Vanessa et al. Mild salt stress improves strawberry fruit quality. **LWT**, v. 73, p. 693-699, 2016.
- Hinojosa-Gómez, J., San Martín-Hernández, C., Heredia, J. B., León-Félix, J., Osuna-Enciso, T., & Muy-Rangel, M. D. (2020). Anthocyanin Induction by Drought Stress in the Calyx of Roselle Cultivars. **Molecules**, 25(7), 1555. doi:10.3390/molecules25071555
- HOLTON, Timothy A.; CORNISH, Edwina C. Genetics and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. **The Plant Cell**, v. 7, n. 7, p. 1071, 1995.
- JIA, Hai-Feng et al. Absciscic acid plays an important role in the regulation of strawberry fruit ripening. **Plant physiology**, v. 157, n. 1, p. 188-199, 2011.
- KOYAMA, Renata et al. Exogenous absciscic acid promotes anthocyanin biosynthesis and increased expression of flavonoid synthesis genes in Vitis vinifera× Vitis labrusca table grapes in a subtropical region. **Frontiers in plant science**, v. 9, p. 323, 2018.
- Kim, H.-J., Fonseca, J. M., Choi, J.-H., & Kubota, C. (2007). Effect of Methyl Jasmonate on Phenolic Compounds and Carotenoids of Romaine Lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 55(25), 10366–10372
- LEE, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analyses in wanberries. **Hotscience**, v.7, n.1, p. 83-84, 1972.
- Li, X. Meng, J. Sun, N.J.F. Yu, F. (2008) Effects of Anthocyanins From Blueberry on Lowering the Cholesterol and Antioxidation. **Food & Fermentation Industries**
- MOU B. (2008) Lettuce. In: Prohens J., Nuez F. (eds) Vegetables I. **Handbook of Plant Breeding**, Springer, New York, NY, 2008. 1v.
- MOU, Beiquan. Nutrient content of lettuce and its improvement. **Current Nutrition & Food Science**, v. 5, n. 4, p. 242-248, 2009.
- SIEBENEICHLER, Tatiane Jéssica et al. The postharvest ripening of strawberry fruits induced by absciscic acid and sucrose differs from their in vivo ripening. **Food Chemistry**, v. 317, p. 126407, 2020.
- Yu B. (2010) Anticancer activities of an anthocyanin-rich extract from black rice against breast cancer cells in vitro and in vivo **Nutrition and Cancer**, 62 (8) (2010), pp. 1128-1136