



Congrega
Urcamp 2016

13ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa

REVISTA DA JORNADA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA ISSN:1982-2960

Metil Jasmonato na multiplicação *in vitro* e no incremento de betacianina em *Alternanthera philoxeroides*

Janieli Cristina Perotti¹, Cristini Milech², Alftcia Moraes Kleinowski³, Simone Ribeiro Lucho⁴, Mariana Muhlenberg Soares⁵, Eugenia Jacira Bolacel Braga⁶

RESUMO

As plantas produzem uma ampla variedade de metabólitos secundários em resposta a estresses bióticos e abióticos e o ácido jasmônico e metil jasmonato (MeJa) estão associados as respostas de defesa frente a estes estresses. Desta forma, tais compostos têm sido amplamente utilizados como elicitores abióticos, através de aplicações exógenas nas plantas, com o intuito de promover o aumento da síntese de compostos de interesse. *Alternanthera philoxeroides*, conhecida popularmente como erva-de-jacaré, possui compostos que são de interesse da indústria farmacêutica, porém a produção na natureza não contempla a demanda, sendo necessário otimizar a produção destes metabólitos e neste sentido o cultivo *in vitro* aliado a aplicação de elicitores se tornam uma importante ferramenta de estudo. Com o intuito de avaliar o efeito de MeJa na multiplicação *in vitro* e no aumento do teor de betacianina de *A. philoxeroides*, diferentes concentrações de MeJa (0; 0,01; 0,1; 1; 10,0 e 100 μM) foram adicionados ao meio de cultura MS padrão. Após 35 dias de cultivo foram avaliados número de gemas e brotos por planta, altura, comprimento médio das raízes, massa fresca e teor de betacianina da parte aérea. Os resultados demonstraram que as concentrações superiores a 10 μM de MeJa, em comparação ao controle, diminuíram significativamente o número de brotos, comprimento de raízes, altura e massa fresca da parte aérea, porém aumentaram os teores de betacianina, sendo possível concluir que o MeJa tem potencial de estimular a biossíntese de betacianina mas prejudica o desenvolvimento desta espécie.

Palavras-chave: erva-de-jacaré; elicitores; betalaínas

Methyl jasmonate on multiplication *in vitro* and increasing of betacyanin production in *Alternanthera philoxeroides*

ABSTRACT

Plants produce a wide variety of secondary metabolites in response to biotic and abiotic stresses and jasmonic acid and Methyl Jasmonate (MeJa) are associated with the front defense responses to these stresses. Thus, such compounds have been widely used as abiotic elicitors, by application of exogenous plants, in order to promote increased synthesis of compounds of interest. *Alternanthera philoxeroides*, popularly known as alligator weed, has compounds that are of pharmaceutical interest, but production in nature does not cover the demand, so it is necessary to optimize the production of these metabolites and in this sense in vitro culture combined with elicitors application become an important study tool. In order to evaluate the effect of MeJa in vitro proliferation and increased betacyanin content of *A. philoxeroides*, different concentrations of MeJa (0; 0.01; 0.1; 1; 10.0 and 100 mM) were added to the standard MS medium culture. After 35 days of culture we evaluated number of buds and shoots per plant, height, average root length, fresh weight of shoot and shoot betacyanin content. The results showed that the concentrations greater than 10 mM of MeJa, compared to the control, significantly decreased the number of shoots, root length, height and fresh weight of shoot, but increased betacyanin. It is concluded that the MeJa has the potential to stimulate betacyanin biosynthesis but affects the development of this species.

Keywords: alligator weed; elicitors; betalains

INTRODUÇÃO

Alternanthera philoxeroides (Mart.) Griseb. (Amaranthaceae), conhecida popularmente como erva-de-jacaré é uma planta nativa da América do Sul, considerada anfíbia por crescer abundantemente em diferentes ecossistemas, tanto aquáticos, semi-aquáticos, terrestres e até mesmo extremamente secos, como dunas (GAO et al., 2007).

Estudos fitoquímicos desta espécie demonstraram a presença de flavonoides glicosilados, saponinas e betacianinas, conferindo-lhe ação antiviral, antitumoral, diurética, antipirética, no tratamento de feridas e úlceras (JIANG et al., 2005; VENDRUSCOLO; MENSTZ, 2006; LIU et al., 2007; FANG et al., 2007; FANG et al., 2009; RATTANATHONGKOM et al., 2009a; RATTANATHONGKOM et al., 2009b).

As betacianinas, presentes nesta espécie, são pigmentos nitrogenados solúveis em água, de coloração vermelho-violeta, pertencentes à classe das betalainas. Tais pigmentos são amplamente utilizados como aditivo de alimentos, medicamentos e produtos cosméticos, pois além de apresentarem atividade antioxidante são eficientes

colorantes naturais com ausência de toxicidade (CAI et al., 2005; AZEREDO, 2009; VOLP et al., 2009; GANDÍA-HERRERO; GARCÍA-CARMONA, 2013).

A produção comercial de pigmentos naturais tem ficado aquém devido à escassez de quantidade significativa de matéria fresca altamente pigmentada, falta de métodos simples e eficazes de extração e purificação destes produtos (KHAN; GIRIDHAR, 2015).

O cultivo *in vitro* permite melhorar a produção destes pigmentos através da possibilidade de utilizar elicitores (agentes químicos e estressantes), para alterar as rotas metabólicas afetando qualitativamente e quantitativamente as moléculas bioativas produzidas (JIAO et al., 2016).

A aplicação de elicitores, em concentrações adequadas, induz ou mediam sinais, através da ativação de vários genes nas plantas que resultam na síntese e acúmulo de metabólitos secundários (ALAMINO et al., 2013). Derivado do ácido jasmônico, o composto volátil Metil Jasmonato (MeJa), vem sendo utilizado em vários estudos como elicitador (SANIEWSKI et al., 2003; MANDAL, 2010; GEYTER et al., 2012; DANAEE et al., 2015).

O MeJa exerce diferentes efeitos fisiológicos e bioquímicos nas plantas, incluindo a inibição da germinação de sementes, do crescimento das raízes e de calos, promove a senescência de frutas e folhas, a degradação da clorofila, inibição da fotossíntese, aumento da atividade respiratória e está associado aos processos de defesa (ROSSATO et al., 2002; ANANIEVA et al., 2004; NORASTEHNIA et al., 2007).

A maioria dos trabalhos utilizando elicitores abiótico para estimular o aumento da produção de metabólitos secundários, é realizada em cultura de células ou órgãos em meio líquido, muitas vezes utilizando biorreatores. No entanto, pouco se sabe sobre o efeito de tais elicitores em meio semi-sólido. Também, vale ressaltar que poucos trabalhos foram feitos com a espécie *A. philoxeroides* relacionados à produção de betacianinas. Com o intuito de aumentar a produção de betacianina em plantas de *A. philoxeroides*, este trabalho teve o objetivo de demonstrar a influência do MeJa na produção de betacianina e na multiplicação *in vitro* desta espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de *A. philoxeroides*, estabelecidas *in vitro* em meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), foram utilizadas como doadoras de explantes, sendo cada explante um segmento nodal de aproximadamente 1 cm de comprimento, com duas gemas.

Seis concentrações de metil jasmonato (0; 0,01; 0,1; 1; 10; 100 μM) foram adicionadas ao meio MS básico, previamente autoclavado por 20 minutos, a uma temperatura de 121° C e pressão de 1,05 kg cm^{-2} .

Os explantes foram inoculados em condições assépticas nos meios de cultura em câmara de fluxo laminar e posteriormente 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+2°C.

Aos 35 dias de cultivo foram avaliados: número de gemas e brotos por planta, altura, comprimento médio das raízes, massa fresca e teor de betacianina da parte aérea.

Para a realização da análise das betacianinas, foi utilizada a parte aérea das plantas de *A. philoxeroides*, as quais foram maceradas em 5 mL de água destilada e após, centrifugadas a 10.000 g, a 4°C por 20 minutos. A quantificação de betacianinas foi realizada em espectrofotômetro Ultrospec 2100 Pro da Amersham Biosciences®.

A concentração de betacianina foi calculada e expressada como amarantina, de acordo com a metodologia descrita por Cai et al. (1998) com algumas modificações pela seguinte fórmula: Concentração de amarantina = $(A_{536} - A_{650}) \times \text{P.M.} \times V \times \text{FD} \times 100 / \epsilon \times \text{MF}$; onde ϵ é o coeficiente de absorção de amarantina ($5,66 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L}$), A_{536} representa a absorbância a 536 nm para a amarantina e A_{650} absorbância a 650 para clorofila, P.M. é o peso molecular ($726,6 \text{ g mol}^{-1}$), V é o volume de extração (5 ml), FD é o fator de diluição e MF é a massa fresca das amostras. Os resultados foram expressos em mg de amarantina por 100 g de massa fresca.

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos (concentrações de metil jasmonato), contendo cinco repetições, sendo cada uma representada por um frasco contendo cinco explantes. Os resultados dos tratamentos 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). Também foram realizadas análises de correlação entre as variáveis morfológicas e a produção de betacianina.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações de metil jasmonato (MeJa) testadas afetaram as características morfológicas avaliadas nas plantas de *A. philoxeroides*. Foi observado um efeito negativo das altas concentrações de MeJa no crescimento das plantas, sendo a concentração de 100 μM totalmente tóxica. As maiores médias de número de brotos (1,5), comprimento das raízes (4,6 cm) e altura das plantas (8,3cm) foram obtidas no tratamento controle, com ausência de MeJa (Figura 1A – D).

Em *Nicotiana tabacum*, o MeJa induziu a redução da organogênese. Segundo Capitani et al. (2005), concentrações de 1 e 10 μM causaram a diminuição no número de brotos por explante em comparação ao controle, no entanto, estimulou a atividade mitótica e a expansão celular.

No presente trabalho a concentração de 10 μM diminuiu significativamente o número de brotos (Figura 1A), o comprimento das raízes (Figura 1B), a altura (Figura 1 C) e a massa fresca da parte aérea (Figura 1 D) das plantas em relação ao controle.

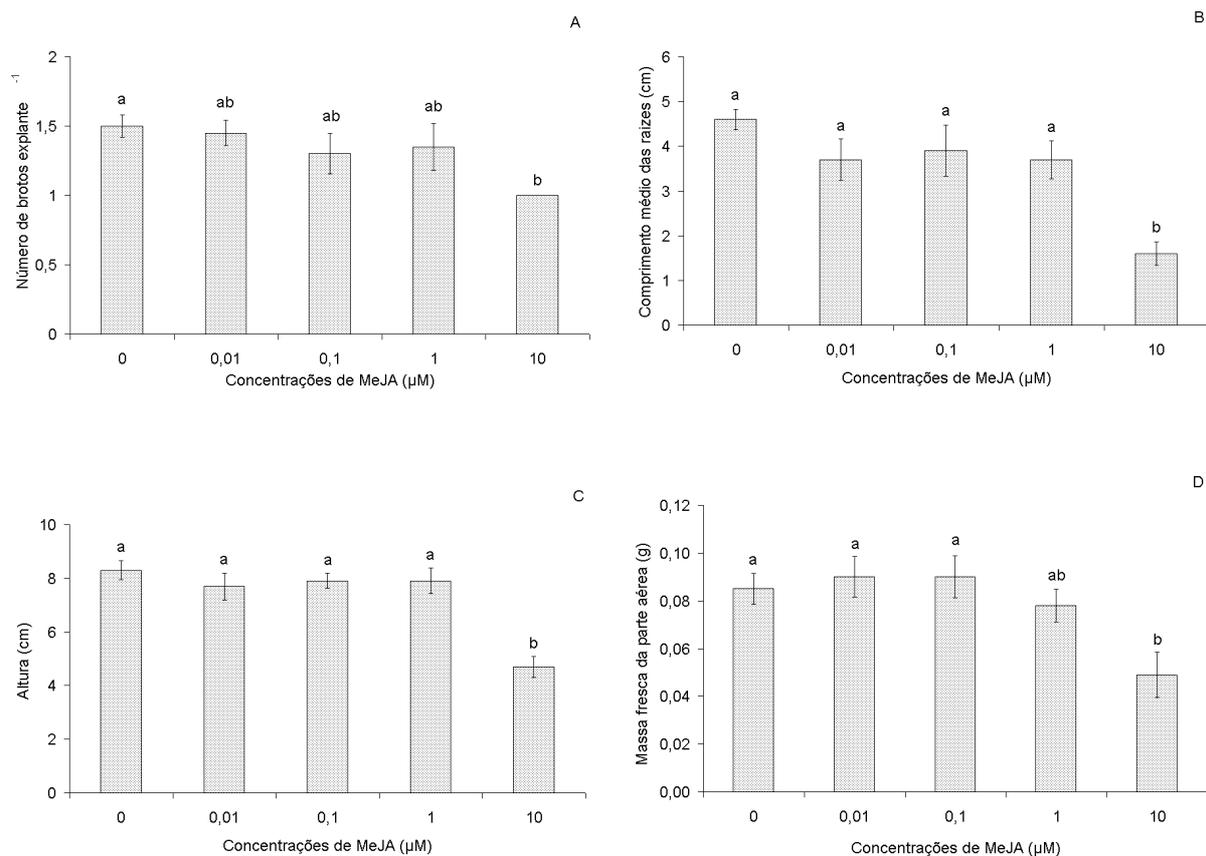


Figura 1. Número de brotos (A), comprimento médio das raízes (B), altura (C) e massa fresca da parte aérea (D) das plantas de *Alternanthera philoxeroides* cultivadas *in vitro* por 35 dias, na presença de diferentes concentrações de MeJA. Barras verticais representam o erro padrão da média de cinco repetições, médias acompanhadas de diferentes letras são significativamente diferentes pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Maksymiec; Krupa (2007) também observaram a ação negativa do MeJa para o crescimento radicular, raízes de *Allium cepa* diminuíram nitidamente (78%) após a exposição de 50 µM deste regulador de crescimento.

Tratamento com 50 µM de MeJa não tiveram efeito significativo no crescimento radicular de *Zea mays*, porém em maiores concentrações, o comprimento das raízes foi significativamente reduzido (NORASTEHNIA et al., 2007).

Aplicações de MeJa afetaram a biomassa de embriões de *Eleutherococcus senticosus* mantidos em suspensão por seis semanas em biorreator. A massa fresca, massa seca e a taxa de crescimento apresentaram uma diminuição inversamente

proporcional a concentração de MeJa, sendo observado respectivamente em 400 μM uma diminuição de 5,6, 3,8 e 4,5 vezes menos que o controle (SHOHAEL et al., 2007).

Células em suspensão de *Portulaca* sp. também tiveram uma diminuição na taxa de crescimento a partir de 1 μM de MeJa (BHUIYAN; ADACHI, 2003).

Aplicações exógenas de jasmonato estimulam a biossíntese de vários metabólitos secundários em suspensão celular e plantas intactas. Tal situação pode ser observada neste trabalho, onde a produção de betacianina foi estimulada pela adição de MeJa na concentração de 100 μM (Figura 2). Concentrações menores (0,01 – 10 μM) não apresentaram diferenças significativas em relação ao controle (Tabela 1).

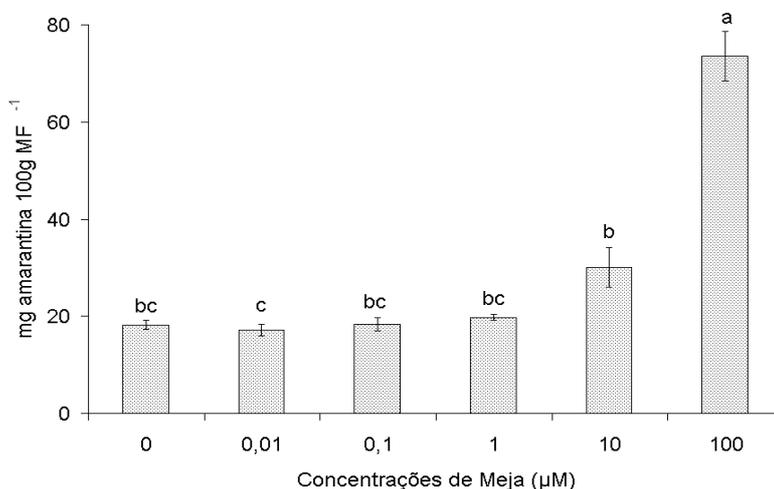


Figura 2. Concentração de betacianina em plantas de *Alternanthera philoxeroides* cultivadas *in vitro* por 35 dias, sob diferentes concentrações de MeJa. Barras verticais representam o erro padrão da média de cinco repetições, médias acompanhadas de diferentes letras são significativamente diferentes pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Tabela 1. Produção de betacianina em plantas de *Alternanthera philoxeroides* cultivadas *in vitro* por 35 dias sob diferentes concentrações de MeJa em relação ao controle (X controle)

Concentração de MeJa (μM)	Teor de betacianina	Produção de betacianina em
--	---------------------	----------------------------

	(mg amarantina 100g MF ⁻¹)	relação ao controle (x controle)
0	18,26	1,0
0,01	17,14	0,9
0,1	18,30	1,0
1	19,75	1,0
10	30,07	1,6
100	73,56	4,0

No entanto, é importante salientar que a concentração de 100 µM de MeJa foi totalmente tóxica para o crescimento das plantas, portanto, a quantificação de betacianina neste tratamento foi feita apenas com os explantes iniciais, mantidos por 35 dias nesta concentração.

A análise de correlação também demonstrou que a maior produção de betacianina ocorreu quando o crescimento das plantas foi reduzido, o que pode ser visto pela associação linear negativa entre a produção de betacianina e as variáveis morfológicas analisadas ().



Tabela 2. Correlação entre a produção de betacianina e as variáveis morfológicas analisadas em *Alternanthera philoxeroides* após 35 dias de cultivo em diferentes concentrações de MeJa

	NB	CB	MFPA	CR	PB
NG	0,8079	0,3297	0,5328	0,4104	- 0,4421
NB	-	0,4410	0,5925	0,4527	-0,4785
CB	-	-	0,6380	0,5072	-0,7002
MFPA	-	-	-	0,7596	-0,8302
CR	-	-	-	-	-0,6985

NG = número de gemas, NB = número de brotos, CB comprimento dos brotos, MFPA = massa fresca da parte aérea, CR = comprimento radicular, PB = produção de betacianina.

Bhuiyan; Adachi (2003) obtiveram aumento na produção de betacianina em *Portulaca* sp. com a adição de MeJa na concentração de 0,1 μM , sendo que 100 μM de MeJa prejudicou a biossíntese de betacianina, tendo resultados inferiores ao tratamento controle.

Altos níveis de MeJa (70-100 μM) resultaram no maior conteúdo de betacianina produzido nas raízes de *Beta vulgaris* após 15 dias de cultivo; aos 20 dias de cultivo a maior produção do pigmento foi obtida na concentração de 40 μM com biossíntese de 1,35 maior que o controle (SURESH et al., 2004).

O MeJa também apresentou resultados satisfatórios na produção de outros metabólitos secundários. A concentração de 0,5 μM aumentou em três vezes o acúmulo de antocianina em relação ao controle em células de *Vaccinium pahalae* cultivados em suspensão (FANG et al., 1999). Saniewiski et al. (2003) também aumentaram a síntese de antocianina em caules de *Crassula multicava* com a adição de MeJa.

Embriões somáticos de *Eleutherococcus senticosus* cultivados em biorreator com 200 μM de MeJa apresentaram um aumento de sete vezes a produção de euterossídes totais e quatro vezes de ácido clorogênico em relação ao controle (SHOHAEL et al., 2007).

A biossíntese do ácido rosmárico também foi estimulada por MeJa em raízes de *Coleus blumei* (BAUER et al., 2009) e plantas de *Ocimum basilicum* aumentaram a atividade antioxidante de 2-3 vezes após o aumento da concentração de ácido rosmário, ácido cafeico, eugenol e linolol estimulados pelo MeJa (KIM et al., 2006).



A partir dos dados apresentados neste trabalho pode-se perceber visivelmente o efeito de aplicações exógenas de MeJa nas características morfológicas e na produção de betacianina em plantas de *A. philoxeroides*.

CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo demonstram que o metil jasmonato aumenta a biossíntese de betacianina em *Alternanthera philoxeroides*, mas apresenta efeito tóxico para o crescimento das plantas. Desta forma, novos experimentos devem ser conduzidos visando otimizar a taxa de multiplicação e crescimento das plantas com a maximização da produção de betacianina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANANIEVA, K. I., MALBECK, J.; KAMINEK M.; VAN STANDEN, J. Methyl Jasmonate down-regulates endogenous cytokinin levels in cotyledons of *Cucurbita pepo* (zucchini) seedlings. **Physiologia Plantarum**, n. 122, p. 496-503, 2004.
- AZEREDO, H.M.C. Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. **International journal of food science & technology**, n.44, p. 2365-2376, 2009.
- BAUER, N.; KISELJAK, D.; JELASKA, S. The effect of yeast extract and methyl jasmonate on rosmarinic acid accumulation in *Coleus blumei* hairy roots. **Biologia Plantarum**, v. 53, p. 650-656, 2009.
- BHUIYAN, N. H.; ADACHI, T. Stimulation of betacyanin synthesis through exogenous methyl jasmonate and other elicitors in suspension-cultured cells of *Portulaca*. **Journal plant physiology**, v. 160, p.1117-1124, 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. Z.; SUN, M.; CORKE, H. Characterization and application of betalain pigments from plants of the Amaranthaceae. **Trends in Food Science & Technology**, p. 370-376, 2005.
- CAPITANI, F.; BIODI, S.; FALASCA, G.; ZIOSI, V.; BALESTRAZZI, A.; CARBONERA, D.; TORRIGIANI, P.; ALTAMURA, M.M. Methyl jasmonate disrupts shoot formation in tobacco thin cell layers by over-inducing mitotic activity and cell expansion. **Planta**, v. 220, p. 507-519, 2005.



Congrega

Urcamp 2016

DANAEE, M.; FARZINEBRAHIMI, R.; KADIR, M. A.; SINNIHAH, U. R.; MOHAMAD, R.; TAHA, R. M. Effects of MeJa and SA elicitation on secondary metabolic activity, antioxidant content and callogenesis in *Phyllanthus pulcher*. **Brazilian Journal Botany**, DOI 10.1007/s40415-015-0140-3, 2015.

FANG, J. B.; JIA, W.; GAO, W.Y.; YAO, Z.; TENG, J.; ZHAO, A.H.; DUAN, H.Q. Anti-tumor constituents from *Alternanthera philoxeroides*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 9, p. 511-515, 2007.

FANG, J. B.; YAO, Z.; CHEN, J.C.; LIU, Y.W.; TAKAISHI, Y.; DUAN, H.Q. Cytotoxic triterpene saponins from *Alternanthera philoxeroides*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v.11, p. 261-266, 2009.

FANG, Y.; SMITH, M. A. I.; PEPIN, M. F. Effects of exogenous methyl jasmonate in elicited anthocyanin-producing cell cultures of ohelo (*Vaccinium phalae*). **In vitro cellular & developmental biology plant**, v. 35, p. 106-113, 1999.

GANDÍA-HERRERO, F.; GARCÍA-CARMONA, F. Biosynthesis of betalains: yellow and violet plant pigments. **Trends in plant science**, v. 18, n. 6, p. 334-341, 2013.

GAO, J.; QUANG, X.; YIN, L.; HE, G. Isolation of cDNA clones for genes up-regulated in drought-treated *Alternanthera philoxeroides* root. **Journal Molecular Biology Reports**, v. 35, p. 485-488, 2007.

GEYTER, N.; GHOLAMI, A.; GOORMACHTIG, S.; GOOSSENS, A. Transcriptional machineries in jasmonate-elicited plant secondary metabolism. **Trends in Plant Science**, v. 17, n. 6. P. 349-359, 2012.

JIANG, W.; LUO, X.; KUANG, S. Effects of *Alternanthera philoxeroides* Griseb against dengue virus in vitro. **Journal of first military medical university**, n. 25, p. 454-456, 2005.

[JIAO, J.](#); [GAI, Q .Y.](#); [WANG, W.](#); MI, Y. G.; [FU, Y.J.](#); W. Enhanced astragaloside production and transcriptional responses of biosynthetic genes in *Astragalus membranaceus* hairy root cultures by elicitation with methyl jasmonate. **Biochemical Engineering Journal**, v. 105, p. 339-346, 2016.

KHAN, M. I.; GIRIDHAR, P. Plants betalains: chemistry and biochemistry. **Phytochemistry**, v. 117, p. 267-295, 2015.

KIM, H. J.; CHEN, F.; WANG, X.; RAJAPAKSE, S.C. Effect of methyl jasmonate on secondary metabolites of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, p.2327-2332, 2006.

LIU, Y.; YANG, Z.; DENG, H.; XIAO, H.; QU, C. Separation and anti-hantaan virus activity of extracts from *Alternanthera philoxeroides* in vitro and in vivo. **Wuhan university journal of natural sciences**, v. 12, p. 1143-1147, 2007.



Congrega

Urcamp 2016

MACHADO, A.; CONCEIÇÃO, A. R. Programa estatístico WinStat - Sistema de Análise Estatístico para Windows. Versão 1.0. **Universidade Federal de Pelotas**, 2007.

MAKSYMIEC, W.; KRUPA, Z. Effects of methyl jasmonate and excess copper on root and leaf growth. **Biologia Plantarum**, v. 51, p. 322-326, 2007.

MANDAL, S. Induction of phenolics, lignin and key defense enzymes in eggplant (*Solanum melongena* L.) roots in response to elicitors. **African Journal of Biotechnology**, v. 47, p. 8038-8047, 2010.

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

NORASTEHNIA, A.; SAJEDI, R. H.; NOJAVAN-ASGHRI, M. Inhibitory effects of methyl jasmonate on seed germination in maize (*Zea mays*): effect on α – amylase activity and ethylene production. **General and applied plant physiology**, v. 33, p.13-23, 2007.

RATTANATHONGKOM, A.; LEE, J.B.; HAYASHI, K.; SRIPANIDKULCHAL, B.O.; KANCHANAPOOM, T.; HAYASHI, T. Evaluation of chikusetsusaponin IV a isolated from *Alternanthera philoxeroides* for its potency against viral replication. **Planta medica**, v. 75, p. 829-835, 2009 a.

RATTANATHONGKOM, A.; KANCHANAPOOM, T.; LEE, J.; HAYASHI, T. SRIPANIDKULCHAL, B. Inhibitory effect on nitric oxide production of RAW 264.7 macrophage cell of na active compound from *Alternanthera philoxeroides*. **Khon Kaen University reserch journal**, v. 9, p. 9-16, 2009 b.

ROSSATO, L.; LAINÉ, P.; OURRY, A. Nitrogen storage and remobilization in *Brassica napus* L. during the growth cycle: effects of methyl jasmonate on nitrate uptake, senescence, growth and VSP accumulation. **Journal of experimental botany**, v. 53, p. 1131-1141, 2002.

SANIEWSKI, M.; HORBOWICZ, M.; PUCHALSKI, J.; UEDA J. Methyl jasmonate stimulates the formation and the accumulation of anthocyanin in *Kalanchoe blossfeldiana*. **Acta physiology plant**. v. 25, p. 143-149, 2003.

SHOHAEL, A. M. Methyl jasmonate induced overproduction of eleutheresides in somatic embryos of *Eleutherococcus senticosus* cultured in bioreactors. **Electronic journal of biotechnology**, v. 10, p. 633-637, 2007.

STRACK, D.; VOGT, T.; SCHLIEMANN, W. Recent advances in betalain research. **Phytochemistry**, v. 62, p. 247-269, 2003.

SURESH, B.; THIMMARAJU, R.; BHAGYALAKSHMI, N.; RAVISHANKAR, G.A. Polyamine and methyl jasmonate-influenced enhancement of betalaine production in hairy root cultures of *Beta vulgaris* grown in bubble column reactor and studies on efflux of pigments. **Process biochemistry**, v. 39, p. 2091-2096, 2004.



Congrega

Urcamp 2016

VENDRUSCULO, G. S.; MENTZ L. A. Levantamento etnobotânico das plantas utilizadas como medicinais por moradores do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia, Série Botânica**, v. 61, p. 83-103, 2006.

VOLP, A.C.P.; RENHE, I.R.T.; STRINGUETA, P.C. Pigmentos naturais bioativos. **Alimentos e Nutrição**, v. 20, p. 157-166, 2009.