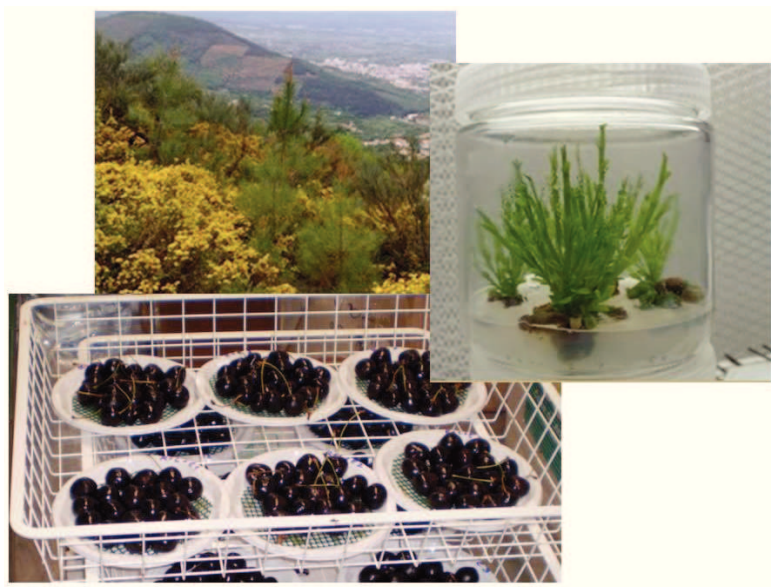


Estudos de propagação *in vitro*, caracterização e valorização de carqueja (*Pterospartum tridentatum* (L.) Willk)

Maria Teresa Coelho

Instituto Politécnico de Castelo Branco, Escola Superior Agrária, Castelo Branco, Portugal
Centro de Estudos de Recursos Naturais, Ambiente e Sociedade, Castelo Branco, Portugal
mteresacoelho@ipcb.pt



Abstrat

The *Pterospartum tridentatum* (L.) Willk is widely used as medicinal plant for the treatment of digestive tract diseases and diabetes and for culinary purposes, however, characterization studies on this plant extracts are scarce.

This work aimed to develop methodologies for micropropagation of this species and carry out characterization and application of the aqueous extracts. This study represents the first comparison analysis of extracts obtained from wild plants and aerial parts of plants *in vitro* multiplication.

Micropropagation was very effective on large scale propagation with high multiplication rates.

Aqueous extracts showed a good performance, high levels of phenolic compounds and antioxidant activity both in wild plants and in micropropagation. Phenolic profiles in in vitro shoots are very similar to extracts of wild plants during vegetative rest.

The extracts revealed no antifungal activity, but nevertheless evidenced inhibition for some microorganisms.

Within the monosaccharides, glucose is the predominant sugar in wild plants, since in the in vitro shoots uronic acids are the main components. An interesting result was the higher molar percentages of rhamnose and uronic acids detected on in vitro shoots compared to wild plants, which can make the in vitro plant material very useful to obtain these compounds.

The application of chitosan bioactive coatings incorporating extracts has improved post-harvest storage capacity in cherry. The results allow propose these methodologies for obtaining extracts with bioactive properties from micropropagated material without depleting natural resources.

Resumo

A carqueja (*Pterospartum tridentatum* (L.) Willk.) é uma espécie bastante utilizada como planta medicinal, no tratamento de doenças do aparelho digestivo e diabetes bem como para fins culinários, no entanto, os estudos sobre caracterização de extratos desta planta são escassos.

O presente trabalho teve como objetivo principal a caracterização e valorização desta espécie muito disseminada na região da Beira Interior.

O estudo iniciou-se com a recolha de informação etnobotânica sobre a carqueja de modo a perceber qual o seu interesse no meio envolvente e o porquê da sua tradicional utilização.

Pretendeu-se desenvolver metodologias para a propagação em condições ex situ desta espécie, sendo estudada pela primeira vez a sua micropropagação (ou propagação *in vitro*), a partir de material vegetal recolhido na serra da Malcata, na serra da Gardunha e no Orvalho.

A micropropagação revelou-se eficaz para propagação em larga escala, tendo sido possível o estabelecimento do material vegetal em condições in vitro e os resultados obtidos mostram que esta metodologia de propagação foi otimizada, quer em fase de multiplicação quer em fase de enraizamento, com a vantagem de manter o material vegetal saudável, utilizando um espaço relativamente pequeno e preservando o património natural. A metodologia de micropropagação por segmentos nodais permitiu uma elevada pro-

liferação, podendo este protocolo ser aplicado para a sua propagação clonal em larga escala já que os gomos axilares são tidos como os mais seguros na manutenção da integridade genética. A metodologia de enraizamento *ex vitro* utilizada mostrou ser altamente eficaz na indução de rizogênese. Para os tempos de exposição e concentrações utilizadas do regulador de crescimento, as percentagens de enraizamento garantiram sempre valores de enraizamento superiores a 96%, apresentando raízes alongadas, morfologicamente finas e com abundantes ramificações secundárias, determinantes para a formação de raízes funcionais. As plantas enraizadas obtiveram uma percentagem de sobrevivência de 80%.

Após a obtenção dos rebentos micropropagados e recolhido o material vegetal silvestre das mesmas origens (serra da Malcata, serra da Gardunha e Orvalho), procedeu-se à obtenção e caracterização dos respetivos extratos aquosos, sendo possível concluir que os extratos aquosos apresentaram um bom rendimento, elevados teores de fenóis totais e atividade antioxidante quer nas plantas silvestres quer no material vegetal *in vitro*.

Como é do conhecimento geral, todas as plantas sintetizam inúmeros metabolitos secundários que não estão diretamente envolvidos no metabolismo da planta, mas que têm funções associadas à sobrevivência da mesma (Joseph *et al.*, 2009). Estes compostos bioativos naturais são denominados “fitoquímicos” e são estes compostos orgânicos biologicamente ativos que conferem a cor, o sabor, o aroma e a proteção contra danos nas plantas, tendo um papel importante no organismo humano na proteção contra o stress oxidativo (Brody *et al.*, 2008). A utilização das plantas aromáticas e medicinais está muitas vezes relacionada com a presença destes componentes fitoquímicos, metabolitos secundários, em especial compostos fenólicos (Mohammedi & Atik, 2011) que apresentam propriedades antioxidantes (Oboh *et al.*, 2008; Bahramikia *et al.*, 2009), propriedades anti-mutagénica e anti-cancerígena (Kampa *et al.*, 2004), cardioprotetora (Caccetta *et al.*, 2000), anti-inflamatória (Canadanovic-Brunet *et al.*, 2006) e antimicrobiana (Hayouni *et al.*, 2008, Stanojević *et al.*, 2010), sendo utilizadas principalmente pela indústria farmacêutica, cosmética ou alimentar. Pelo seu interesse, procedeu-se à identificação dos compostos fenólicos dos extratos aquosos do material vegetal micropropagado e das plantas silvestres, concluindo que o perfil fenólico dos rebentos *in vitro* é muito semelhante aos das plantas silvestres na época de repouso vegetativo.

Aos extratos foi ainda estudada a sua atividade antimicrobiana e, embora não tendo revelado atividade antifúngica, foi evidenciada inibição para alguns microorganismos.

Após análise glucídica aos extratos, verificou-se que a glucose é o açúcar predominante nas plantas silvestres, enquanto nas micropropagadas os ácidos urónicos são os principais componentes, independentemente do local e época de colheita. Um resultado interessante foi a elevada percentagem molar de ramnose e ácidos urónicos do material vegetal micropropagado relativamente às plantas silvestres, já que estes açúcares são considerados raros e de difícil síntese química. Nestes compostos já foram estudadas algumas propriedades interessantes, tais como, atividade antioxidante e anti-inflamatória, entre outras. A presença destes compostos no material vegetal *in vitro* pode vir a ser útil como fonte na obtenção destes compostos e consiste num fator adicional para justificar o investimento na sua produção.

Este estudo representa uma primeira análise comparativa de extratos aquosos obtidos a partir de plantas silvestres e partes aéreas de plantas em multiplicação *in vitro*.

Os revestimentos comestíveis consistem em barreiras adicionais que são aplicadas à superfície do produto alimentar, com vista à sua proteção e consequente prolongamento da vida útil do alimento, podendo ser ingerido em conjunto com este. Em resumo, na tecnologia pós-colheita, as grandes vantagens da utilização de revestimentos comestíveis são a diminuição da taxa respiratória, o aumento do período de armazenamento e a manutenção da firmeza (Fan *et al.*, 2009; Garcia *et al.*, 2010; Vu *et al.*, 2011). Uma outra função do revestimento comestível é a sua capacidade de incorporação de princípios ativos na matriz, podendo incorporar antioxidantes, antimicrobianos ou outros ingredientes funcionais (Dhall, 2013). Assim sendo, após caracterização dos extratos aquosos foi estudado o impacto da incorporação dos mesmos em revestimentos comestíveis na conservação pós-colheita de cereja, um fruto muito perecível e com grande interesse a nível regional. A aplicação de revestimentos bioativos de base quitosano e com incorporação de extratos de carqueja permitiu melhorar a capacidade de conservação pós-colheita em cereja, não afetando a qualidade sensorial dos frutos comprovada por um painel de provadores.

Pelos resultados obtidos, os extratos apresentam um elevado potencial de utilização como fonte de antioxidantes naturais para a indústria alimentar, farmacêutica e/ou cosmética, com consequentes benefícios para a saúde dos consumidores. Este estudo contribuiu ainda para a compilação de conhecimento sobre a espécie, para a preservação da biodiversidade e manutenção da identidade local e do património cultural.

Agradecimentos

Este trabalho foi parcialmente financiado pelo programa PROTEC 2 (Programa especial de apoio à formação avançada de docentes do ensino superior politécnico).

Agradeço aos meus orientadores de doutoramento, Professora Doutora Margarida Moldão-Martins, Professor Doutor José Carlos Gonçalves e Professor Doutor Vítor Alves.

À Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, ao Instituto Superior de Agronomia e aos Centros de investigação LEAF (Centro de Investigação em Agronomia, Alimentos, Ambiente e Paisagem) e CERNAS (Centro de Estudos de Recursos Naturais, Ambiente e Sociedade) bem como ao CATAA (Centro de Apoio Tecnológico Agroalimentar de Castelo Branco).

Quero também agradecer a todos os meus colegas e técnicos da IPCB/ESA que me auxiliaram em parte do desenvolvimento laboratorial (um agradecimento especial à Técnica Superior Graça Diogo) e aos ex-alunos que me ajudaram na colheita de campo.

Bibliografia

- Bahramikia, S., Ardestani, A. & Yazdanparast, R. (2009). Protective effects of four Iranian medicinal plants against free radical-mediated protein oxidation. *Food Chemistry*, 115, 37-42.
- Brody, A.L., Bugusu, B., Han, J.H., Sand, C.K. & Mchugh, T. H. (2008). Innovative food packaging solutions. *Journal of Food Science*, 73, 107-116.
- Caccetta, R.A.A., Croft, K.D., Beilin, L.J. & Puddey, I.B. (2000). Ingestion of red wine significantly increases plasma phenolic acid concentrations but does not acutely affect ex vivo lipoprotein oxidizability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 67-74.
- Canadanovic-Brunet, J.M., Djilas, S.M., Cetkovic, G.S., Tumbas, V.T., Mandic, A.I. & Canadanovic, V.M. (2006). Antioxidant activities of different Teucrium montanum L. extracts. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 667-673.
- Dhall, R.K. (2013). Advances in edible coatings for fresh fruits and vegetables: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53, 435-450.
- Fan, Y., Xu, Y., Wang, D., Zhang, L., Sun, J., Sun, L. & Zhang, B. (2009). Effect of alginate coating combined with yeast antagonist on strawberry (*Fragaria×ananassa*) preservation quality. *Postharvest Biology and Technology*, 53, 84-90.
- Garcia, L.C., Pereira, L.M., Luca Sarantópoulos, C.I. & Hubinger, M.D. (2010). Selection of an edible starch coating for minimally processed strawberry. *Food and Bioprocess Technology*, 3, 834-842.
- Hayouni, E.A., Bouix, M., Abedrabba, M., Leveau, J.Y. & Hamdi, M. (2008). Mechanism of action of *Melaleuca armillaris* (Sol. Ex Gaertu) Sm. essential oil on six LAB strains as assessed by multiparametric flow cytometry and automated microtiterbased assay. *Food Chemistry*, 111, 707-718.
- Joseph, J., Cole, G., Head, E. & Ingram, D. (2009). Nutrition, brain aging and neurodegeneration. *Journal of Neuroscience*, 29, 12795-12801.

- Kampa, M., Alexaki, V.I., Notas, G., Niffi, A.P., Nistikaki, A. & Hetzoglou, A. (2004). Antiproliferative and apoptotic effects of selective phenolic acids on T47D human breast cancer cells: potential mechanisms of action. *Breast Cancer Research*, 6, 63-74.
- Mohammedi, Z. & Atik, F. (2011). Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from *Tamarix aphylla* L. Karst. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2, 609–615.
- Oboh, G., Raddatz, H. & Henle, T. (2008). Antioxidant properties of polar and non-polar extracts of some tropical green leafy vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 2486-2492.
- Stanojević, D., Comić, L.J., Stefanović, O. & Solujić-Sukdolak, S. (2010). In vitro synergistic antibacterial activity of *Melissa officinalis* L. and some preservatives. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 8, 109–115.
- Vu, K.D., Hollingsworth, R.G., Leroux, E., Salmieri, S. & Lacroix, M. (2011). Development of edible bioactive coating based on modified chitosan for increasing the shelf life of strawberries. *Food Research International*, 44, 198-203.