



Congrega
Urcamp 2016

13ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa

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

Capacidade elicitora do Ácido salicílico no cultivo *in vitro* de *Alternanthera tenella*

Elicitor Capacity of Salicylic acid in vitro culture of *Alternanthera tenella*

Isabel Rodrigues Brandão¹, Alitcia Moraes Kleinowski², Marcia Vaz Ribeiro³, Simone Ribeiro Lucho⁴, Cristini Milech⁵, Eugenia Jacira Bolacel Braga⁶

RESUMO

Alternanthera tenella Colla é uma planta herbácea, comumente conhecida como “apaga-fogo” ou “perpétua do mato”, sendo uma planta daninha potencialmente vulnerável a extinção, além disso, é utilizada na medicina popular como anti-inflamatória e antibacteriana. Estudos fitoquímicos de plantas de *Alternanthera* indicaram a presença de betalaínas e compostos fenólicos. Ferramentas biotecnológicas como a cultura *in vitro* de plantas medicinais, vêm sendo utilizada para a produção de compostos de interesse para as indústrias de alimentos, cosméticos e fármacos. Além de outras vantagens, essa técnica permite o uso de elicitores (para alterar as rotas metabólicas afetando qualitativamente e quantitativamente as moléculas bioativas produzidas). Devido à importância medicinal e ecológica da espécie *A. tenella*, este trabalho objetivou investigar as alterações de crescimento e fitoquímicas destas plantas, quando cultivadas na presença do ácido salicílico no meio de cultura. Segmentos nodais foram inoculados em meio MS com diferentes concentrações de ácido salicílico (AS) (0, 100, 200, 300 e 400 μM) onde permaneceram por 35 dias. Decorridos esse tempo, foi avaliado o número médio de gemas e brotos, altura, massa fresca da parte aérea, comprimento da raiz principal, massa fresca das raízes e quantificação de betacianina e fenóis totais da parte aérea das plantas, ambas em espectrofotômetro. Em relação às variáveis de crescimento analisadas, altura, comprimento da raiz, número de gemas, massa fresca da parte aérea e raiz, o elicitor mostrou-se visivelmente prejudicial, tendo causado uma diminuição, dessas médias, já na menor concentração utilizada (100 μM). A produção de betacianina e compostos fenólicos totais foram estimulados pela concentração de 300 μM de AS, chegando a 366% e 180%, respectivamente, em relação ao controle. Portanto o ácido salicílico se mostrou um inibidor do crescimento de plantas de *A. tenella in vitro*, porém estimulou a produção dos compostos de interesse deste estudo.

Palavras-chave: cultivo *in vitro*, metabolismo secundário, apaga-fogo

ABSTRACT

Alternanthera tenella Colla is an herbaceous plant, commonly known as “joy weed” with potentially vulnerable weed extinction. In addition, it is used in folk medicine as anti-inflammatory and antibacterial. Phytochemical studies in *Alternanthera* plants indicated the presence of betalaines and phenolic compounds. Biotechnological tools such as *in vitro*

culture of medicinal plants have been used for the production of compounds of interest in the food, cosmetics and pharmaceuticals. Among other advantages, this technique allows the use of elicitors (to alter the metabolic pathways affecting qualitatively and quantitatively produced bioactive molecules), due to the medicinal and ecological importance of the species *A. tenella*. This study aimed to investigate the growth changes and phytochemical effects in these plants, when grown in the presence of salicylic acid in the culture medium. Nodal segments were inoculated onto MS medium with different concentrations of salicylic acid (SA) (0, 100, 200, 300 and 400 mM) where they remained for 35 days. After this time, we measured the average number of buds and shoots, height, fresh weight of aerial part, main root length, fresh weight of roots and quantification betacyanin and total phenols of the shoot, both in spectrophotometer. Regarding the growth variables, height, root length, number of buds, fresh weight of shoot and root, the elicitor proved noticeably harmful and caused a decrease in these averages, as only the lower concentration was used (100 μ M). The production of betacyanin and total phenolics were stimulated by concentration 300 μ M AS, reaching 366% and 180%, respectively, as compared to control. Therefore salicylic acid proved to be an inhibitor of the growth of *A. tenella* plants in vitro, but it stimulated the production of compounds of interest in this study.

Keywords: *in vitro* culture, secondary metabolism, joy weed

INTRODUÇÃO

Alternanthera tenella Colla é uma planta herbácea, comumente conhecida como “apaga-fogo” ou “perpétua do mato”, sendo uma planta daninha potencialmente vulnerável a extinção (DECRETO nº 42.099), é utilizada na medicina popular como anti-inflamatória e antibacteriana (BIELLA et al., 2008, SILVEIRA; OLEA, 2009). A infusão de suas folhas é utilizada em casos de infecções, febres, machucados, coceiras e também como diurética (SOUZA et al., 1998).

Estudos fitoquímicos de plantas de *Alternanthera* indicaram a presença de compostos fenólicos e betalaínas (SALVADOR et al., 2006, KLEINOWSKI et al., 2014).

As betacianinas são pigmentos vacuolares naturais N-heterocíclicos solúveis em água, que substituem as antocianinas nas famílias da ordem Caryophyllales (STRACK; VOGT; SCHLIEMANN, 2003). Possuem coloração arroxeada, sendo classificadas quimicamente em quatro tipos: betanina, amarantina, gonferina e bougainvilina (VOLP; VOGT; SCHLIEMANN, 2009). O interesse por esses pigmentos cresceu desde que sua atividade anti-radical foi caracterizada e passou a ser amplamente utilizada como aditivo para produtos alimentícios, fármacos e cosméticos devido as suas propriedades colorantes naturais e ausência de toxicidade (KHAN; GIRIDHAR, 2015)

Os compostos fenólicos, também conhecidos como polifenóis ou fenilpropanoides, é um grupo estruturalmente diverso de metabólitos secundários que inclui os metabólitos originados da condensação de unidades acetato, flavonoides, isoflavonoides e taninos (ANDRÉS-LACUEVA et al., 2008). Muitas pesquisas têm demonstrado que compostos

fenólicos oriundos de plantas, possuem grande potencial antioxidante (SOUSA et al., 2007), por capturarem diretamente espécies reativas ou os intermediários reativos de uma série de reações junto com as enzimas antioxidantes (ANDRADE et al., 2007).

A cultura *in vitro* vem sendo utilizada para a produção de compostos de interesse para as indústrias de alimentos, cosméticos e fármacos (SHIM et al., 2010). Mesmo apresentando resultados satisfatórios, a produção desses compostos, como compostos fenólicos e nitrogenados, muitas vezes é menor em cultura de células se comparada a tecidos sintetizadores nas plantas e isso ocorre devido à falta de diferenciação das células em suspensão e em cultura de calo, de tecidos e órgãos (VERPOORTE; VAN DER HEIJDEN; MEMELINK 2000, BOURGAUD et al., 2001). Esta técnica permite o uso de elicitores (agentes químicos e estressantes), para alterar as rotas metabólicas afetando qualitativamente e quantitativamente as moléculas bioativas produzidas (DJILIANOV et al., 2005).

Elicitores abióticos como o ácido salicílico, quando aplicados exogenamente, podem desencadear sistemicamente a expressão de um conjunto de genes de defesa que naturalmente são ativadas quando ocorre infecção por patógeno estimulando a síntese de vários metabólitos vegetais como os polifenóis e compostos nitrogenados (OKADA et al., 2007),

Devido à importância medicinal e ecológica da espécie *A. tenella*, este trabalho foi realizado com o objetivo de investigar as alterações no crescimento e na síntese de compostos bioativos destas plantas quando cultivadas na presença do ácido salicílico no meio de cultura.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização do experimento, foi utilizado meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962), acrescido de 0, 100, 200, 300 e 400 μM de ácido salicílico (AS). Os meios tiveram seu pH ajustado para 5,8 e após foi acrescido 7 g L^{-1} de agar. Aproximadamente 40 mL dos meios foram colocados em frascos e autoclavados por 20 minutos a uma temperatura de 121 °C, a pressão de 1,05 kg cm^{-2} .

Segmentos nodais, contendo duas gemas axilares de plantas de *A. tenella*, pré-estabelecidas *in vitro*, foram utilizadas como fonte de explantes e inoculados nos meios de cultura em câmara de fluxo laminar em condições assépticas. Após, os frascos contendo quatro explantes foram colocados em sala de crescimento, onde permaneceram por 35 dias

sob fotoperíodo de 16 horas e densidade de fluxo de fótons de $48 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, com temperatura de $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

Decorridos 35 dias foi avaliado o número médio de gemas e brotos, altura (cm), massa fresca da parte aérea (g), comprimento da raiz principal, massa fresca das raízes (g) e quantificação de betacianina e fenóis totais da parte aérea das plantas.

Para quantificação de betacianina, foi utilizado 100 mg de massa fresca (folha e caule) a qual foi macerada em 5 mL de água milli-Q e centrifugada a $13632g$, a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ por 25 minutos. A leitura da absorbância foi realizada no sobrenadante, nos comprimentos de onda de 536 nm e 650 nm, em espectrofotômetro, Ultrospec 2100 Pro da Amersham Biosciences®. A concentração de betacianina foi determinada levando em consideração o coeficiente de extração molar para amarantina ($5,66 \times 10^4$) e o resultado foi expresso em mg amarantina 100 g^{-1} MF (CAI et al., 1998).

O teor de compostos fenólicos foi quantificado pelo ensaio de Folin-Ciocalteu, pela metodologia de Jennings (1981), com adaptações. Foi macerada 100 mg de massa fresca da parte aérea e adicionado 4 mL de M:C:W (metanol, clorofórmio e água milli-Q), na proporção de 12:5:3, e colocados em frascos de centrifuga, onde permaneceram no escuro por 24 h. Posteriormente as amostras foram centrifugadas por 10 min em temperatura ambiente a 7000 g , coletado o sobrenadante e o precipitado recentrifugado com mais 4 mL de M:C:W nas mesmas condições anteriores e o sobrenadante novamente coletado. Os sobrenadantes foram misturados, adicionado de 1 mL de clorofórmio e 1,5 mL de água milli-Q e centrifugados novamente. Deste sobrenadante foi retirados $500 \mu\text{L}$ e adicionado a ele $500 \mu\text{L}$ de água milli-Q, $500 \mu\text{L}$ do reagente Folin-Ciocalteu 1N e após 15 min de repouso foi adicionado 5 mL do reagente alcalino permanecendo em repouso por 60 min. Após esse período foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 760 nm, utilizando água milli-Q como branco. Foi utilizado ácido fênico como padrão para construção da curva analítica. Os resultados foram expressos em mg de ácido fênico g^{-1} MF.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos (concentrações de ácido salicílico), sendo cada um composto de três repetições, onde a unidade experimental foi representada por três frascos contendo quatro explantes, totalizando 45 frascos. Os resultados foram submetidos à análise de variância e regressão polinomial, com auxílio do software estatístico WinStat (MACHADO; CONCEIÇÃO, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aos 35 dias de cultivo *in vitro* observou-se que o aumento da concentração de ácido salicílico diminuiu os valores médios encontrados para as variáveis de crescimento em estudo, com exceção do número de brotos (Figura 1 e 2).



FIGURA 1. Plantas de *Alternanthera tenella* cultivadas *in vitro* em meio MS, suplementado com diferentes concentrações de ácido salicílico por 35 dias. A barra indica 1cm

O ácido salicílico é um hormônio vegetal que, quando aplicado exogenamente, pode inibir o crescimento da planta (KERBAUY, 2008), como foi observado nesse experimento, devido ao seu efeito antagônico às auxinas, o que reduz a concentração interna destas e consequentemente o alongamento celular.

A altura média teve um decréscimo de 81% nas plantas tratadas com a maior concentração de ácido salicílico, em relação ao controle (Figura 2A), gerando como consequência uma diminuição de 98% na massa fresca da parte aérea (Figura 2B).

O comprimento da raiz apresentou uma redução de 53% já na menor concentração de ácido salicílico em relação ao controle, chegando a 91% na concentração de 400 µM (Figura 2C), com isso a massa fresca da raiz das plantas tratadas com o elicitador também obtiveram uma redução significativa, chegando a 97% (Figura 2D).

A presença de elicitor no meio de cultura também influenciou negativamente o número de gemas (Figura 2E), ocorrendo uma diminuição de 67% na maior concentração em relação ao controle.

O número de brotos não foi influenciado pela presença do ácido salicílico não havendo diferença significativa nos valores obtidos entre os tratamentos (Figura 2F), tendo sido observado uma média geral de 1,86 brotos/explante.

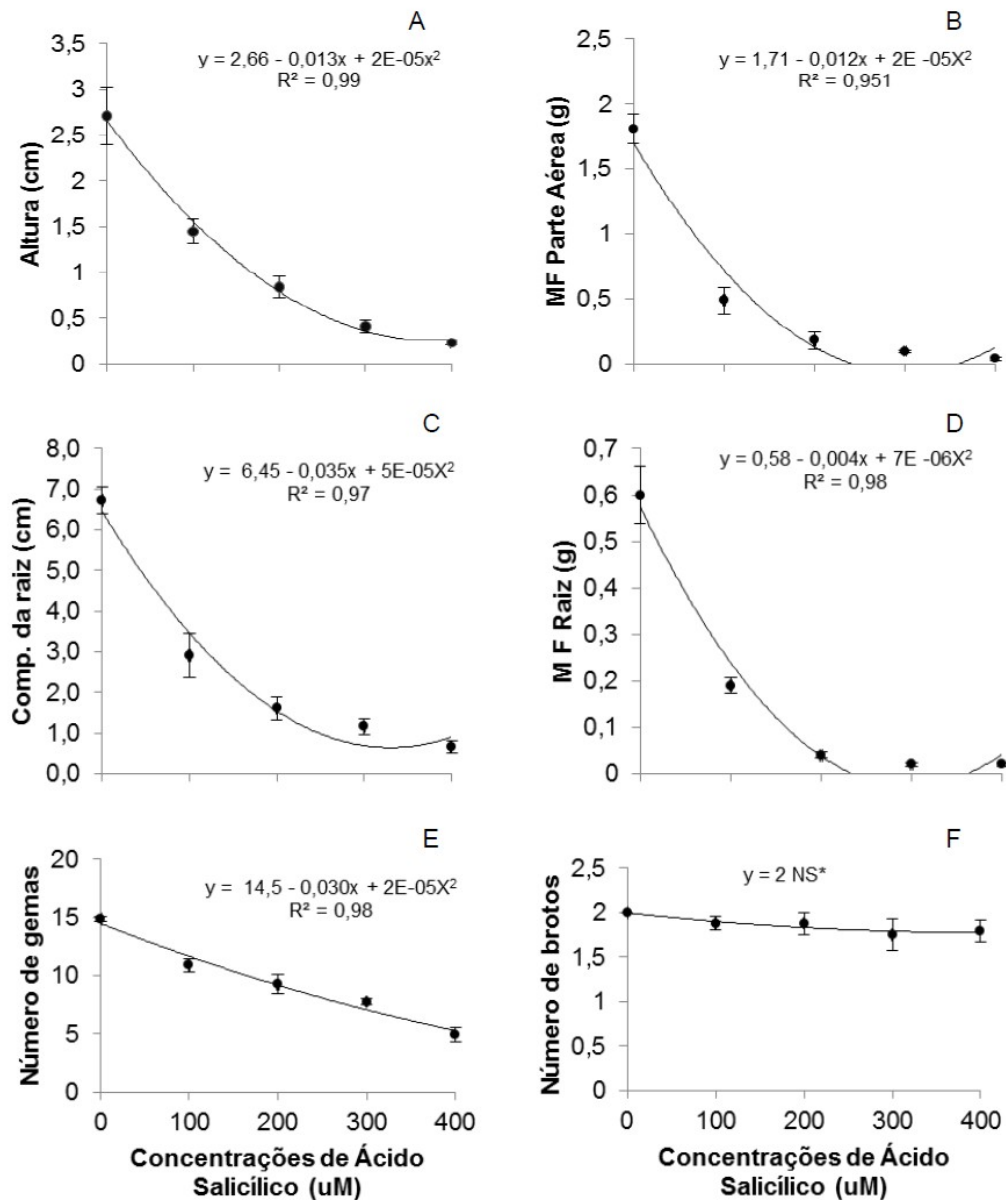


FIGURA 2. Altura (A), massa fresca da parte aérea (MFPA) (B), comprimento das raízes (C), massa fresca da raiz (MFR) (D), número de gemas (E) e número de brotos (F), em plantas de *Alternanthera tenella* cultivadas *in vitro*, por 35 dias, em meio de cultura com diferentes concentrações de Ácido Salicílico.

*As barras verticais representam o erro padrão da média de três repetições

Gutiérrez-Conrado; Trejo-Lopes; Larque-Savedra (1998) descreveram que diferentes concentrações de AS podem resultar em diminuição de 20% a 23% no crescimento de *Glycine max*, sendo que o efeito mais dramático foi observado nas raízes, as quais foram reduzidas em aproximadamente 45%.

A adição de ácido salicílico pode ter ocasionado um efeito tóxico, como já relatado em algumas espécies vegetais, estes resultados vem de encontro aos obtidos por vários outros autores (TARI et al., 2002; SHAKIROVA et al., 2003; ARFAN; ATHA; ASHRAF, 2007) que relataram que a aplicação exógena de ácido salicílico promove o crescimento de cultivares *in vitro*.

Coste et al. (2011) em trabalho com duas espécies de *Hypericum in vitro*, utilizando concentrações de 0, 100 e 200 μM de ácido salicílico e jasmônico, observaram que a biomassa da parte aérea das plantas tratadas não foi afetada com as concentrações utilizadas, demonstrando com isso que a elicitação é um processo muito complexo e a resposta depende de muitos fatores tais como a concentração do elicitor, a fase de crescimento da cultura no momento da adição do elicitor e o tempo de contato da cultura com o elicitor. Além disso, a resposta a um determinado agente elicitor pode variar de espécie para espécie e é crucial determinar as concentrações adequadas para otimizar a produção dos metabólitos de interesse (NAMEDO, 2007).

Em relação às análises fitoquímicas a presença do elicitor no meio de cultivo elevou os conteúdos de betacianina e fenóis totais, sendo que para ambos a maior média foi observada nas plantas tratadas com a concentração de 300 μM (Figura 3A e 3B, respectivamente).

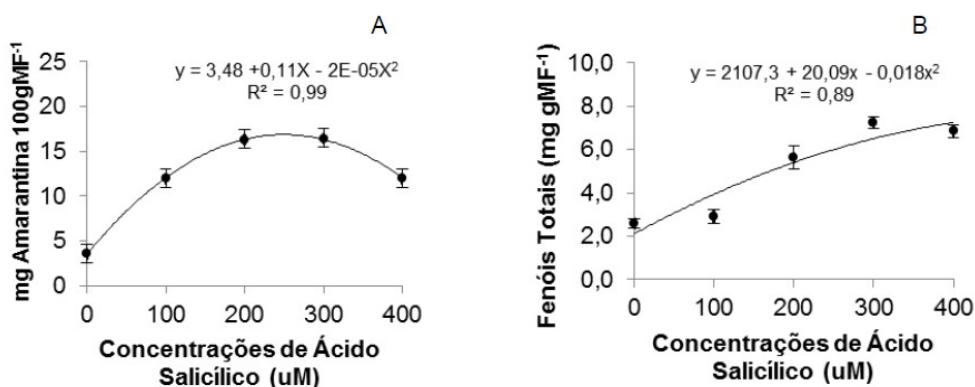


FIGURA 3. Teor de betacianina (A) e de fenóis totais (B) em plantas de *Alternanthera tenella* cultivadas *in vitro*, por 35 dias, em meio de cultura com diferentes concentrações de Ácido Salicílico.

*As barras verticais representam o erro padrão da média de três repetições

O tratamento de plantas com elicitores abióticos é muito utilizado como estratégia para a produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos, sendo esta produção relacionada à indução de genes responsáveis pela resposta de defesa, ativando a via dos metabólitos secundários (QIAN et al., 2006). Portanto o ácido salicílico apresenta efeito sobre a produção de compostos do metabolismo secundário, uma vez que este elicitor opera em vias de sinalização nas plantas, e respondem a estresses bióticos e abióticos (NAMEDO, 2007).

Estes resultados sugerem que o ácido salicílico aumenta a produção de compostos fenólicos, pois conforme Yu et al. (2006), esse aumento vem acompanhado pela indução de enzimas relacionadas a síntese de fenilpropanoides e regulação da expressão de genes relacionados a defesa das plantas. No entanto, altas concentrações de ácido salicílico acabam apresentando um efeito tóxico para a produção dos compostos fenólicos, como observado neste trabalho na concentração de 400 μM .

Em outro trabalho com *Matricaria chamomilla*, uma espécie medicinal, Kovacik et al. (2009) utilizaram a concentração de 250 μM de ácido salicílico e observaram esse efeito tóxico, atribuindo ao aumento da atividade da enzima fenilalanina amônia-liase.

Apesar de o ácido salicílico induzir a síntese destes compostos do metabolismo secundário, os teores de betacianinas apresentados neste trabalho foram relativamente baixos, em comparação a dados de outras espécies do mesmo gênero, citadas na literatura, como Perotti et al. (2009) e Kleinowski et al. (2014) que estudando a espécie *A. philoxeroides*, elicitadas, respectivamente, com sulfato de cobre e tirosina, obtiveram valores próximos a 40 mg amarantina 100 g^{-1} MF. Esses autores salientaram que a presença dos elicitores no meio de cultivo pode desencadear respostas no metabolismo secundário das plantas, interagindo com receptores de membrana. Além disso, Savitha et al. (2006) ressaltaram que fatores estressantes no meio de cultivo, como o Ácido salicílico, também seriam capazes de ativar genes específicos da maquinaria enzimática envolvida na biossíntese de metabólitos secundários.

A resposta a um determinado agente elicitor pode variar de espécie para espécie e é crucial determinar as concentrações adequadas para aperfeiçoar a produção (NAMDEO, 2007). A produção de compostos fenólicos, também foram relativamente baixos em comparação com os apresentados em trabalho realizado com cinco espécies de plantas medicinais, dentre elas, *Terminalia brasiliensis* Camb., *Terminalia fagifolia* Mart. (Sousa et al., 2007). A eficácia do uso de elicitores como uma ferramenta para aumentar a síntese de produtos naturais, nos vegetais, depende de uma complexa rede de interação fisiológica entre a molécula utilizada e o metabolismo secundário da planta. É importante salientar que

de acordo com Vasconsuelo; Boland (2007), a espécie, o estágio de desenvolvimento e o órgão vegetal a ser analisado apresentam nítida influência sobre a resposta ao elicitador.

CONCLUSÃO

A partir dos dados obtidos pode-se concluir que as concentrações utilizadas de ácido salicílico apresentam efeito negativo para os parâmetros de crescimento analisados, porém na quantificação dos compostos secundários de interesse a elicitação das plantas se mostra favorável, aumentando de forma significativa as betacianinas e os compostos fenólicos totais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, C.A.D.; COSTA, C.K., BORA, K.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G.; KERBER, V. A. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn ex. Don Leguminosae-Mimosoidae. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.17, p.231-235, 2007.

ANDRES-LACUEVA, C. et al. Flavanol and flavonol contents of cocoa powder products: influence of the manufacturing process. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 3111-3117, 2008.

ARFAN, M.; ATHAR, H.R.; ASHRAF, M. Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress? **Journal of Plant Physiology**, v.164, p. 685-694, 2007.

BIELLA, C.A.; SALVADOR, M.J.; DIAS, D.A.; DIAS-BARUFFI, M.; PEREIRA-CROTT, L.S. Evaluation of immunomodulatory and anti-inflammatory effects and phytochemical screening of *Alternanthera tenella* Colla (Amaranthaceae) aqueous extracts. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, p. 569-577. 2008.

BOURGAUD, F.; GRAVOT, A.; MILESI, S.; GONTIER, E. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. **Plant Science**, v.161, n.5, p.839-851, 2001.

BROCHADO, C.O. et al. Flavonol Robinobiosides and Rutinosides from *Alternanthera brasiliana* (Amaranthaceae) and their Effects on Lymphocyte Proliferation *in vitro*. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v.14, n.3, 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.2063-2070, 1998.

COSTE, A.; VLASE, L.; HALMAGYI, A.; DELIU, C.; COLDEA, G. Effects of plant growth regulators and elicitors on production of secondary metabolites in shoot cultures of *Hypericum hirsutum* and *Hypericum maculatum*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.106, p.279-288, 2011.

DECRETO n.º 42.099, de 31 de dezembro de 2002. Declara as espécies da flora nativa ameaçadas de extinção no Estado do Rio Grande do Sul e dá outras providências. **Palácio Piratini**, Porto Alegre, 2002.

DJILIANOV, D.; GENOVA, G.; PARVANOV, D.; ZAPRYANOVA, N.; KONSTANTINOVA, T.; ATANASSOV, A. *In vitro* culture of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.80, p.115-118, 2005.

GUTIÉRREZ-CONRADO, M.A.; TREJO-LOPES, C.; LARQUE-SAVEDRA, A. Effects of salicylic acid on the growth of roots and shoots in soybean. **Plant Physiology Biochemistry**, v.36, n.8, p.563-565, 1998.

JENNINGS, A.C. The determination of dihydroxy phenolic compounds in extracts of plant tissues. **Analytical Biochemistry**, v.118, p. 396-398, 1981.

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

KERBAUY, G.B. **Fisiologia Vegetal**. 2.ed. Guanabara: Koogan, 2008. 452 p.

KOVÁČIK, J.; GRÚZ, J.; BAČKOR, M.; STRNAD, M.; REPČÁK, M. Salicylic acid-induced changes to growth and phenolic metabolism in *Matricaria chamomilla* plants. **Plant Cell Reports**, v.28, p.135-143, 2009.

KLEINOWSKI, A.M.; RODRIGUES, I.C.S.; RIBEIRO, M.V.; EINHARDT, A.M.; PETERS, J.A.; BRAGA, E.J.B. Pigment production and growth of *Alternanthera* plants cultured *in vitro* in the presence of tyrosine. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, p. 253-260, 2014.

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.473-497, 1962.

NAMEDO, A.G. Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: A review. **Pharmacognosy Reviews**, v.1, p.69–79, 2007.

OKADA, A. et al. Elicitor induced activation of the methylerythritol phosphate pathway toward phytoalexin biosynthesis in rice. **Plant Molecular Biology**, v.65, n.2, p.177-187, 2007.

PEROTTI, J.C. et al. Produção de betacianina em erva-de-jacaré cultivada *in vitro* com diferentes concentrações de sulfato de cobre. **Ciência Rural**, v.40, p.1874-1880, 2010.

REGO, T.J.A. **Fitogeografia das Plantas Medicinais no Maranhão**, 2.ed. São Luís: EDUFMA, 1995, 133p.

SALVADOR, M.J. et al. Isolation and HPLC quantitative analysis of antioxidant flavonoids from *Alternanthera tenella* Colla. **Zeitschrift für Naturforsch**, v.61c, p.19-25, 2006.

SAVITHA, B.C.; THIMMARAJU, R.N.; BHAGYALAKSHMI, B.A.; RAVISHANKAR, G.A. Different biotic and abiotic elicitors influence betalain production in hairy root cultures of *Beta vulgaris* in shake-flask and bioreactor. **Process Biochemistry**, v. 41, p 50–60, 2006.

SHAKIROVA, F.M.; SAKHABUTDINOVA, A.R.; BEZRUKOVA, M.V.; FATKHUTDINOVA, R.A.; FATKHUTDINOVA, D.R. Changes in hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. **Plant Science**, v.164, p.317-322, 2003.

SHIM, K.M.; HAHN, E.J.; JEON, W.K.; PAEK, K.Y. Accumulation of cell biomass anthraquinones, phenolics, and flavonoids as affected by auxin, cytokinin, and medium salt strength in cell suspension culture of *Morinda citrifolia*. **Korean Journal of Horticultural Science & Technology**, v.28, p.288-294, 2010.

SILVEIRA, L.M. da S.;OLEA, RSG. Isolamento de compostos com atividade antibacteriana em *Alternanthera tenella* Colla (Amaranthaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.90, n.2, p.148-153, 2009.

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

SOUSA, C.M.M. et al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v.30, p.351- 355, 2007.

SOUZA, M.M.; KERN, P.; FLORIANI, A.E.; CECHINEL-FILHO, V. Analgesic properties of a hydroalcoholic extract obtained from *Alternanthera brasiliana*. **Phytotherapy Research**, v.12, n.4, p.279-281, 1998.

TARI, I.J. et al. Acclimation of tomato plants to salinity stress after a salicylic acid pre-treatment. **Acta Biologica Szegediensis**, v.46, p.55-56, 2002.

VASCONSUELO, A.; BOLAND, R. Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. **Plant Science**, v. 172, p. 861-875, 2007.

VERPOORTE,R.; VAN DER HEIJDEN, R.; MEMELINK, J. Engineering the plant cell factory for secondary metabolite production. **Transgenic Research**, v.9, n.4-5, p.323-343, 2000.

VOLP, A.C.P.; RENHE, I.R.T.; STRINGUETA, P.C. Pigmentos naturais bioativos. **Alimentos e Nutrição**, v.20, p.157-166, 2009. 37

Yu, Z.Z.; Fu, C.X.; Han, Y.S.; Li, Y.X.; Zhao, D.X. Salicylic acid enhances jaceosidin and syringin production in cell cultures of *Saussurea medusa*. **Biotechnology Letters**, v.28, p.1027-1031, 2006