



12ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa - ISSN 1982-2960

APLICAÇÃO FOLIAR DE 'ÁGUA DE XISTO' INFLUENCIA A SÍNTESE DE FENILPROPANOIDES EM MORANGO

LEAF APPLICATION OF 'SHALE WATER' AFFECTS PHENYLPROPANOIDS SYNTHESIS IN STRAWBERRY

Joyce Moura Borowski – Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, joyceborowski@gmail.com
Rafael da Silva Messias – Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, rafael.embrapa@yahoo.com.br
Ellen Cristina Perin – Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, ellenperin@hotmail.com
Vanessa Galli – Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, vane.galli@yahoo.com.br
Rosane Martinazzo – Embrapa Clima Temperado, rosane.martinazzo@embrapa.br
Cesar Valmor Rombaldi – Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, cesarvrf@ufpel.edu.br

RESUMO

O morango possui apelo comercial devido ao seu sabor, coloração vermelha brilhante e compostos com potencial antioxidante. Dentre estes estão os provenientes da rota de fenilpropanóides, sendo as antocianinas os de maior relevância na coloração e como antioxidantes. Estratégias que incrementem estes compostos tem despertado grande interesse, como a aplicação de bioestimulantes que tem mostrado resultados promissores, promovendo o aumento do potencial antioxidante, sem acarretar em perdas de produtividade. A água de xisto (AX), subproduto do processamento do folhelho pirobetuminoso com composição química baseada em compostos orgânicos e minerais importantes para a planta, possui aplicação foliar segura do ponto de vista ambiental e dos alimentos gerados, influenciando o metabolismo primário e secundário de culturas agrícolas. Porém, o mecanismo de ação da AX relacionado ao seu efeito bioestimulante na rota de fenilpropanóides ainda carece de investigação. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial efeito bioestimulante da AX em variáveis fisiológicas, bioquímicas e moleculares de morango, com ênfase na síntese de fenilpropanóides, em comparação com o bioestimulante comercial a base de algas Algative (ALG) e com o regulador vegetal ácido giberélico (AG), o qual está presente nos extratos de algas. O desenho experimental foi inteiramente casualizado, consistindo dos tratamentos Controle, ALG, AG, AX e AX+Mn, sendo avaliados taxa de assimilação de dióxido de carbono (CO₂), teor de clorofilas, produtividade, compostos fenólicos totais, antocianinas totais, atividade da fenilalanina amônia liase (FAL) e expressão da FAL e UDP flavonóide glicosiltransferase (UFGT). A aplicação foliar de AX não afetou significativamente a capacidade fotossintética das plantas de alface, embora tenha diminuído a produtividade, em relação ao controle. Além disso, induziu a transcrição de genes da FAL e a atividade da mesma, porém não afetou significativamente a síntese de compostos fenólicos totais, em relação ao controle. O teor de antocianinas totais foi incrementado significativamente com a aplicação foliar de AX, sendo acompanhado pelo aumento da transcrição de genes da UFGT. A dose de AX utilizada neste trabalho, apesar de não ter proporcionado ganhos de produtividade, não comprometeu a capacidade fotossintética e foi capaz de induzir a síntese de fenilpropanóides, principalmente de antocianinas. A aplicação foliar de ALG e AG apresentou resultados similares para as variáveis bioquímicas e moleculares, mas promoveu uma diminuição na capacidade fotossintética e na produtividade, além de deformação dos frutos de morango com aplicação de AG.

Palavras-chave: *Fragaria ananassa*; biofortificação; antioxidantes.



12ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa - ISSN 1982-2960

ABSTRACT

The strawberry has commercial appeal because of its taste, brilliant red color and compounds with antioxidant potential. Among these are those from the phenylpropanoids route, being the anthocyanins the most relevant in coloring and as antioxidants. Strategies to increase these compounds have attracted great interest, as the application of biostimulants that have shown promising results, increasing antioxidant potential without cause losses in productivity. Shale water (SW), byproduct of oil shales with chemical composition based on organic compounds and minerals important for plant, has safe foliar application of environmental point of view and the of food generated, influencing the primary and secondary metabolism of agricultural cultures. However, the SW mechanism of action, related to its biostimulant effect on phenylpropanoids route, still needs investigation. The objective of this study was to evaluate the biostimulant potential effect of SW on physiological, biochemical and molecular parameters of strawberry, with emphasis on the phenylpropanoids synthesis, compared with the commercial biostimulant Algattive (ALG) and the plant growth regulator gibberellic acid (GA), which is present in algae extracts. The experimental design was completely randomized, consisting of the treatments Control, ALG, AG, SW and SW + Mn, being evaluated assimilation rate of carbon dioxide (CO₂), chlorophyll content, yield, total phenolics, total anthocyanins, phenylalanine ammonia lyase (PAL) activity and expression of PAL and UDP flavonoid glycosyltransferase (UFGT). The foliar application of SW did not significantly affect the photosynthetic capacity of the lettuce plants, although declining productivity, compared to the control. Furthermore, induced the genes transcription and the activity of PAL, but did not significantly affect the synthesis of phenolic compounds, compared to the control. The anthocyanins content was significantly increased with foliar application of SW, being accompanied by the increase of UFGT transcription. The SW dose used in this study, despite having failed to provide productivity gains, did not compromise the photosynthetic capacity and was able to induce the synthesis of phenylpropanoids, mainly anthocyanins. The foliar application of ALG and AG showed similar results for the biochemical and molecular variables, but promoted a decrease in photosynthetic capacity and productivity, as well as deformation of strawberry fruits with application of AG.

Keywords: *Fragaria ananassa*; biofortification; antioxidants.

INTRODUÇÃO

Pequenas frutas são ricas em micronutrientes e compostos com potencial antioxidante que conferem efeitos benéficos à saúde humana através da prevenção de doenças crônicas e degenerativas (PAREDES-LÓPEZ et al., 2010). Dentre elas, o morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) destaca-se pelo seu valor nutritivo e compostos com potencial antioxidante, tais como vitamina C, ácido fólico e, principalmente, compostos fenólicos (TULIPANI et al., 2008). Além disso, morangos são comercialmente importantes por serem consumidos frescos ou em formas processadas, como em compotas, sucos e geleias, sendo um dos frutos mais estudados do ponto de vista agrônomo, genômico e nutricional (GIAMPIERI et al., 2013).

Os principais compostos fenólicos provenientes da rota de fenilpropanoides em morangos são as antocianinas, as quais são sintetizadas através de uma série de reações enzimáticas, nas quais as enzimas mais importantes são a fenilalanina amônia liase (FAL), que catalisa a reação de entrada nessa rota através da desaminação do aminoácido L-fenilalanina em ácido cinâmico, e UDP flavonóide glicosiltransferase (UFGT), responsável pela síntese de antocianinas (ALMEIDA et al., 2007) (Fig. 1).

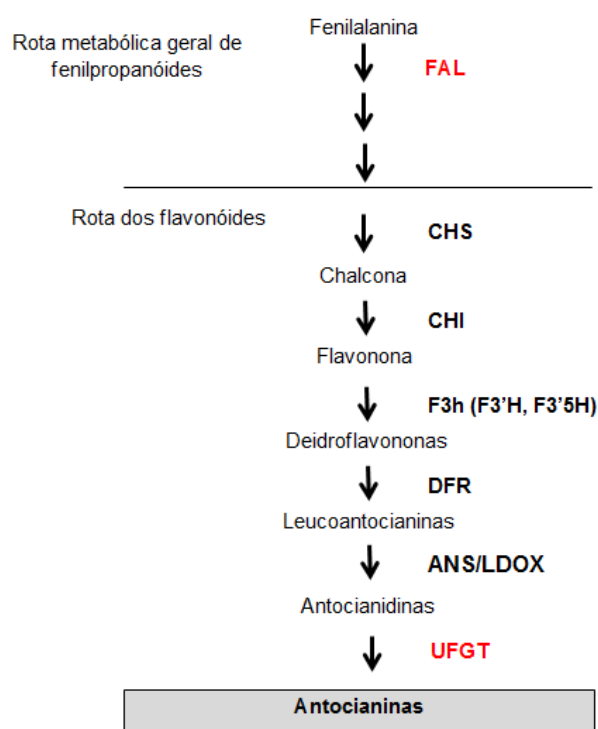


FIGURA 1 – Rota metabólica simplificada da síntese de antocianinas
Fonte: Adaptado de Jaakola et al. (2013)

As antocianinas, além de conferirem pigmentação ao fruto, atuam como antioxidantes, neutralizando espécies reativas de oxigênio e prevenindo danos oxidativos nas membranas celulares. São interessantes alvos de biofortificação, principalmente por engenharia metabólica, uma vez que a rota biossintética, embora com muitas ramificações, já está bem caracterizada (ZHU et al., 2013). A aplicação de produtos bioestimulantes também é uma alternativa para biofortificação, melhorando o desenvolvimento e o potencial antioxidante de culturas agrícolas (ZLOTEC et al., 2014). Estes produtos são compostos por uma mistura de



12ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa - ISSN 1982-2960

substâncias, como oligoelementos, enzimas e reguladores vegetais que, dependendo da sua concentração e proporção, afetam os processos morfológicos e fisiológicos do vegetal, melhorando seu desempenho sem afetar negativamente a produtividade (VIEIRA e CASTRO, 2001).

A água de xisto (AX), produto líquido do processamento do folhelho pirobetuminoso, é comercializada pela Petrobras/SIX como matéria-prima para fabricação de fertilizantes foliares, pois sua composição química, constituída de compostos orgânicos e minerais, tem apresentado grande potencial para a nutrição de plantas (MESSIAS et al., 2013a). Estudos apontam que a aplicação foliar de AX influencia a síntese de compostos relacionados ao metabolismo primário e secundário em milho (MESSIAS et al., 2013b) e alface (BOROWSKI et al., 2013) e que seu uso representa uma alternativa segura do ponto de vista ambiental e dos alimentos gerados, pois nenhum elemento ou composto potencialmente tóxico foi detectado em culturas agrícolas tratadas com AX nas doses testadas (MESSIAS et al., 2013a). No entanto, o mecanismo de ação da AX relacionado ao seu efeito bioestimulante na rota de fenilpropanóides ainda carece de investigação.

Acredita-se que a AX atua nas plantas de maneira semelhante à bioestimulantes a base de extratos de algas, como Algattive (ALG), extraído da alga *Durvillaea potatorum* (ALGATTIVE, 2014 <http://www.cema.bio.br/produto.php?prod=17>), pois sua composição é proveniente da fossilização de algas durante o período Permiano. A composição destes bioestimulantes é dependente da espécie de alga, e normalmente estão presentes pequenas quantidades de macro e microelementos, aminoácidos e reguladores vegetais, como o ácido giberélico (AG) (SHARMA et al., 2013; STIRK et al., 2014), que quando aplicado exogenamente promove modificações fisiológicas, alterando o crescimento das plantas (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial efeito bioestimulante da AX, em comparação com ALG e AG, em variáveis fisiológicas, bioquímicas e moleculares de morango, com ênfase na síntese de fenilpropanóides.

MATERIAL E MÉTODOS

Condições de crescimento e tratamentos

12ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa - ISSN 1982-2960

O experimento foi realizado entre os meses de maio e dezembro de 2012, em casa de vegetação, na sede da Embrapa Clima Temperado (Pelotas, RS). Mudanças de morango (cv Camarosa) foram transplantadas para vasos de 9L contendo uma mistura de solo e vermiculita (3:1). A adubação de base foi aplicada de acordo com as recomendações técnicas para a cultura (CQFS, 2004). A irrigação foi realizada por capilaridade de forma a manter o nível ideal de umidade no solo constante ($25\% \pm 5\%$), medida periodicamente com medidor eletrônico de umidade Hidrofarm (Falker™, modelo HFM 2030). O desenho experimental foi completamente randomizado, consistindo de cinco tratamentos, quatro repetições biológicas e seis plantas por parcela. A descrição dos tratamentos está apresentada na tabela abaixo.

TABELA 1 – Descrição dos tratamentos

Tratamentos	Descrição*
Controle	Água destilada
ALG	Algattive $9,8 \mu\text{L mL}^{-1}$
AG	Ácido giberélico $0,6 \text{ mg mL}^{-1}$
AX	Água de xisto $39,2 \mu\text{L mL}^{-1}$
AX+Mn	Água de xisto $39,2 \mu\text{L mL}^{-1} + 3\% \text{ Mn}$

*Dose total por planta após seis aplicações foliares dos tratamentos, sendo que cada planta recebeu um total de 15,3 mL dos tratamentos.

As aplicações de AX foram realizadas com a utilização de um pulverizador manual durante o desenvolvimento da cultura, iniciando-se aproximadamente quatro meses após o transplante, sendo as três primeiras aplicações realizadas mensalmente e, partir da terceira, quinzenalmente, até o momento da colheita, aproximadamente sete meses após o transplante, totalizando seis aplicações para cada tratamento (Tabela 1, Figura 2).

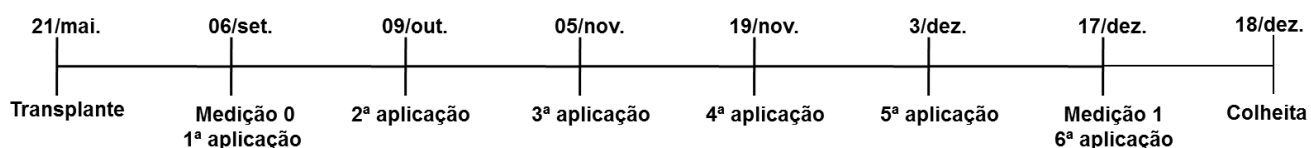


FIGURA 2 - Período de condução do experimento, incluindo o transplante das mudas, as pulverizações, as medições 0 e 1 da taxa de assimilação de dióxido de carbono (CO₂) e do teor de clorofilas totais e a colheita do morango.



12ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa - ISSN 1982-2960

Os frutos de morango foram coletados 24h após a última aplicação dos tratamentos, pesados para determinação da produtividade, e imediatamente congelados em nitrogênio líquido e armazenados a 80°C até o momento das análises.

Determinação da taxa de assimilação de dióxido de carbono (CO₂), do teor de clorofilas totais e da produtividade

A taxa de assimilação de CO₂ das folhas de morango foi determinada com analisador de gases com detecção por radiação infravermelha (IRGA) (Heinz Walz GmbH, modelo GFS 3000), antes da primeira aplicação dos tratamentos (Medição 0) e no momento da colheita dos frutos, ou seja, no final do experimento após seis aplicações dos tratamentos (Medição 1). Os valores foram expressos em micromolar de CO₂ por metros quadrados por segundo ($\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$).

O teor de clorofilas totais das folhas de morango foi determinado com clorofilômetro (Falker, modelo CFL1030), antes da aplicação dos tratamentos (Medição 0) e no momento da coleta (Medição 1). Os valores foram expressos em micromolar de clorofilas totais por metros quadrados ($\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$).

A produção de frutos de morango foi determinada pela coleta e pesagem dos frutos ao longo do ciclo da cultura. Os valores foram expressos em gramas (g) de frutos, o que equivale à média das repetições biológicas.

Determinação do teor de compostos fenólicos totais e antocianinas totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado de acordo com metodologia adaptada de Swain e Hillis (1959) e expresso em miligrama de equivalente ácido clorogênico por 100 gramas de matéria seca ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$).

A avaliação de antocianinas totais foi realizada de acordo com Zhang et al. (2004) e o resultado expresso em miligrama de pelargonidina por 100 gramas de fruta liofilizada ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$).

Determinação da atividade da FAL



12ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa - ISSN 1982-2960

A atividade da FAL foi determinada segundo Campos et al. (2003) e o resultado foi expresso em micromol de enzima por hora por grama de tecido ($\mu\text{mol h g tecido}^{-1}$).

Avaliação da expressão gênica

Extração de RNA total

A extração de RNA total foi realizada em triplicata pelo método proposto por Messias et al. (2014), e sua qualidade avaliada por espectrofotometria (relações A_{260}/A_{280} e A_{260}/A_{230}) e por eletroforese em gel de agarose 1%. A concentração de RNA foi calculada utilizando a técnica de fluorometria (QuBit-RNA BR, Invitrogen™).

Síntese de cDNA

Alíquotas de 1 μg de RNA total de foram digeridas com 1U DNase e 1x DNase I Reaction Buffer, conforme instruções do fabricante (Invitrogen™). O RNA digerido com DNase foi utilizado para transcrição reversa utilizando a enzima M-MLV (conforme fabricante Invitrogen™). Após a reação, os cDNAs foram armazenados em freezer a 4°C.

PCR em tempo real

Os cDNAs foram amplificados por PCR em tempo real, em um volume final de 20 μL , contendo 10ng de cDNA, 10 μL de Platinum SYBR Green UDG (Invitrogen™), e 2-5pmol de cada primer. A amplificação foi padronizada em um termociclador 7500 Fast (Applied Biosystems) utilizando as seguintes condições: 50 °C por 20", 95 °C por 10", seguido por 45 ciclos de 15" a 95 °C e 1' a 60 °C. As condições da curva de dissociação foram: 15" a 95 °C, 1' a 60 °C, 30" a 95 °C e 15" a 60 °C.

Os *primers* para a FAL e UFGT, bem como os *primers* da actina (ACT), 18S ribossomal (18S) e gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), utilizados como genes de referência, foram construídos com o auxílio do programa Vector NTI10 (Invitrogen™) a partir de sequências de *Fragaria x ananassa* obtidas no banco NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). A eficiência dos *primers* foi previamente avaliada mostrando-se superior a 90%. A tabela 2 apresenta uma descrição dos *primers* utilizados neste trabalho.



12ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa - ISSN 1982-2960

TABELA 2 - Sequência dos *primers* que foram utilizados para avaliar a expressão gênica

<i>Primer</i>	Sequência <i>Forward/Reverse</i>	Tamanho (pb)
FAL	AACCACGACATTTCCAACGAGGC/GCCCTACCATTGATTTTCAGCGAC	115
UFGT ACT	CAAGCAGTCCAACAGCTCAATC/GAAAACATACCCCTCCGGCAC	106
18S	TGTGAAACTGCGAATGGCTCATTA/GAAGTCGGGATTTGTTGCACGTA TT	109
GAPDH	CCAAGGCTGTTCGGAAAGGTT/CAACATCATCTTCGGTGTAACCC	203

Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando programa computacional SAS System for Windows versão 9.1.3 (SAS, 2000). Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk, a homocedasticidade foi avaliada usando o teste de Hartley e a independência dos resíduos foi verificada graficamente. Os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$). Em caso de significância estatística, foram comparados os tratamentos por Tukey ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tem-se observado um crescente interesse em alimentos funcionais, em particular em alimentos ricos em antioxidantes, tais como antocianinas. A identificação de fatores, bem como compostos, que podem controlar sua biossíntese em plantas oferece a possibilidade de biofortificar culturas agrícolas para que apresentem maior potencial antioxidante. O uso de bioestimulantes é uma estratégia de biofortificação, pois influenciam nos processos fisiológicos do vegetal, melhorando seu desempenho sem afetar negativamente a produtividade.

Neste trabalho, as variáveis relacionadas aos processos fisiológicos das plantas foram avaliadas antes da aplicação dos tratamentos (Medição 0), para demonstrar que as plantas apresentavam o mesmo comportamento, e após seis aplicações foliares dos tratamentos (Medição 1). A capacidade fotossintética das plantas não foi afetada com a aplicação de AX isolada e adicionada de Mn, assim como de ALG, uma vez que a taxa de assimilação de CO₂ e o teor de clorofilas totais das folhas não apresentaram diferença

significativa em relação ao controle após a aplicação dos tratamentos (Fig. 2). As diferenças entre as medições 0 e 1 estão relacionadas com o ciclo da cultura, visto que, entre a avaliação inicial e a final transcorreram três meses. Apenas a aplicação de AG promoveu uma diminuição na taxa de assimilação de CO₂ em relação ao controle (Fig. 2A), no entanto não afetou significativamente o teor de clorofilas totais (Fig. 2B).

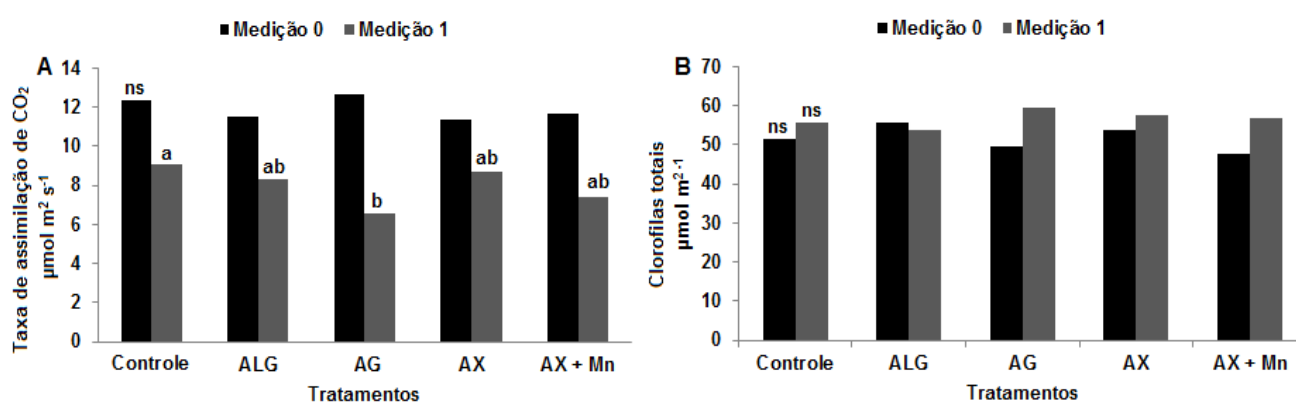


FIGURA 3 – Taxa de assimilação de CO₂ (A) e teor de clorofilas totais (B).

ns – sem diferença estatística entre os tratamentos, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tratamentos, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Como consequência da redução da capacidade de assimilar CO₂ ocorreu uma diminuição na produtividade das plantas que receberam aplicação foliar de AG (Fig. 3A), uma vez que, com a redução da fotossíntese, ocorre também a diminuição dos carboidratos que são usados imediatamente na respiração e crescimento de novos frutos. Além disso, a aplicação de AG promoveu o crescimento da planta em altura e uma deformação nos frutos de morango (Fig. 3B). Os demais tratamentos também promoveram uma diminuição na produção de frutos (Fig. 3A), porém em menor proporção que o tratamento com AG.

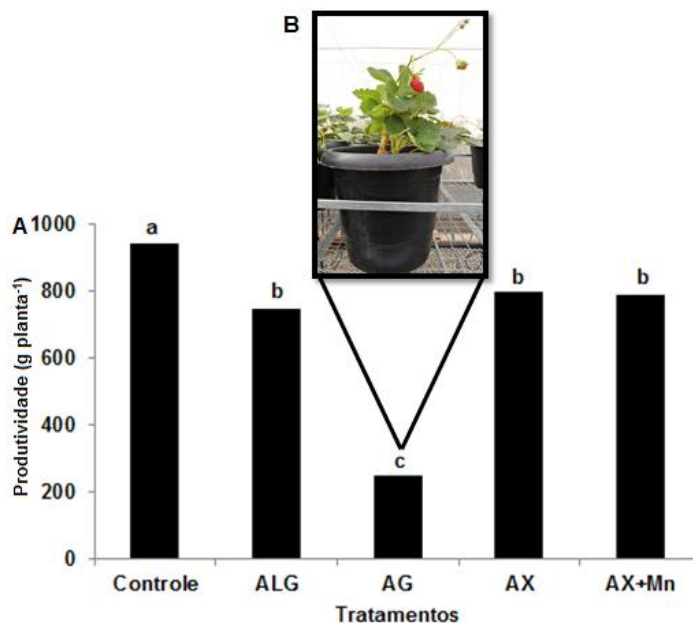


FIGURA 4 – Produção de frutos de morango (A) e Imagem das plantas tratadas com AG (B). Letras diferentes indicam diferença estatística entre os tratamentos, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Embora a aplicação da AX, isolada ou em combinação com o Mn, não tenha influenciado de maneira significativa no teor de compostos fenólicos totais dos frutos de morango, da mesma maneira que o ALG e o AG (Fig. 4A), os resultados mostram que ela promoveu um aumento significativo na expressão do gene *FAL*, em relação ao controle, induzindo a transcrição dos genes que codificam para a enzima que é chave na biossíntese de derivados de fenilpropanóides, participando da reação de desaminação do aminoácido L-fenilalanina formando o ácido cinâmico, precursor das antocianinas, entre outros fenóis (Fig. 4B). O incremento no nível de transcritos do gene *FAL* foi acompanhado pelo aumento da atividade enzimática da FAL em todos os tratamentos (Fig. 4B).

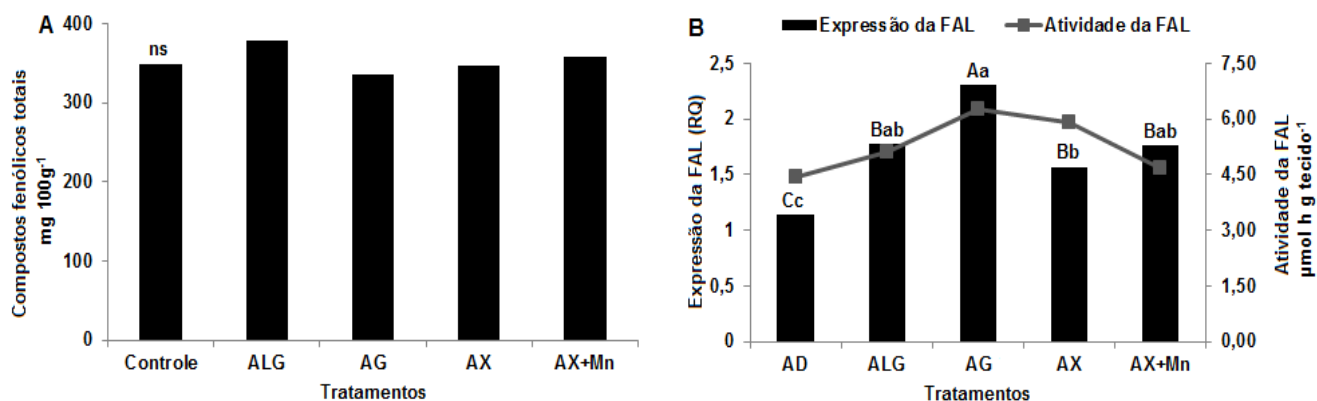
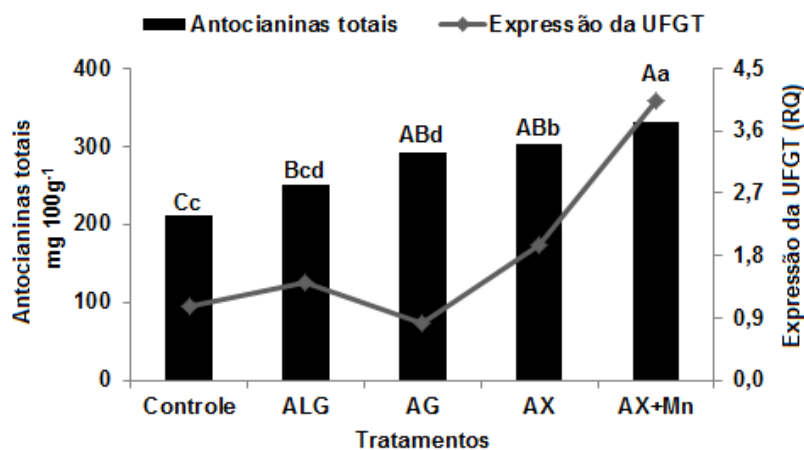


FIGURA 5 – Compostos fenólicos totais (A) e expressão gênica e atividade da FAL (B).
 ns – sem diferença estatística entre os tratamentos, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$).
 Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística na expressão da *FAL* entre os tratamentos, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$).
 Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística na atividade da *FAL* entre os tratamentos, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A aplicação de AX, isolada ou em combinação com Mn, promoveu um incremento significativo nos níveis de expressão do gene *UFGT*, em relação ao controle (Fig. 5), indicando que esta enzima foi induzida pela cascata de reações iniciada pela FAL, pois não existe outra etapa da rota metabólica onde *UFGT* atue que não a iniciada pela FAL. A *UFGT* é a última enzima na biossíntese de antocianinas, realizando a reação de glicosilação das antocianidinas; são estes açúcares que conferem estabilidade e solubilidade às moléculas de antocianinas (YOSHIHARA et al., 2005). O incremento no nível de transcritos do gene *UFGT* foi acompanhado pelo aumento do teor de antocianinas total em todos os tratamentos, em relação ao controle (Fig. 5).





12ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa - ISSN 1982-2960

FIGURA 6 – Antocianinas totais e expressão da *UFGT*.

Letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística na no teor de antocianinas totais entre os tratamentos, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística na expressão da *UFGT* entre os tratamentos, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Uma vez que o gene *FAL* codifica a primeira enzima a atuar na rota dos fenilpropanóides, a atividade da *FAL* não está relacionada apenas com a síntese de antocianinas, mas também com outros compostos fenólicos derivados desta rota metabólica, tais como taninos, ácido gálico, caféico, clorogênico e cinâmico (BASHA et al., 2006) . A aplicação foliar de AX, isolada ou em combinação com Mn, favoreceu o braço da rota metabólica de fenilpropanoides que dá origem às antocianinas, através do aumento da expressão gênica da *FAL*, acompanhado pelo aumento da atividade desta enzima, e, conseqüentemente, através do incremento da expressão da *UFGT*, acompanhado pelo incremento do teor de antocianinas totais. O mecanismo de ação da AX pode ser comparado ao ALG, pois resultados semelhantes foram encontrados com a aplicação destes produtos, provavelmente pela presença de algas em ambos. Apesar da aplicação de AG também ter influenciado o metabolismo de fenilpropanoides, os processos fisiológicos, como fotossíntese e produtividade, foram afetadas de maneira relevante, o que não justificaria seu uso na cultura do morango.

CONCLUSÃO / CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora a produção de frutos de morango tenha diminuído com a aplicação foliar de AX, isolada ou em combinação com Mn, a capacidade fotossintética das plantas não foi alterada, e ocorreu um incremento na qualidade funcional dos frutos de morango, devido ao aumento de antocianinas totais. Desta forma, podemos inferir que as doses de AX utilizadas neste trabalho, apesar de não terem proporcionado ganhos de produtividade, foram capazes de induzir a síntese de fenilpropanoides, principalmente de antocianinas, em frutos de morango. Mais estudos precisam ser feitos para encontrar uma dose ideal de AX e explicar o seu mecanismo ação, abordando também seu efeito em outros compostos com potencial antioxidante.



12ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa - ISSN 1982-2960

REFERÊNCIAS

ALGATTIVE. Disponível em: <http://www.cema.bio.br/produto.php?prod=17>. Acesso em 24 de agosto de 2013.

ALMEIDA JRM, D'AMICO E, PREUSS A, CARBONE F, DE VOS CHR, DEIML B, MOURGUES F, PERROTTA G, FISCHER TC, BOVY AG, MARTENS S, ROSATI C, Characterization of major enzymes and genes involved in flavonoid and proanthocyanidin biosynthesis during fruit development in strawberry (*Fragaria x ananassa*). *Archives Biochem Biop*. 2007, 465, 61–71.

BASHA, S. A. et al. Differential methods of inoculation of plant growth-promoting rhizobacteria induce synthesis of phenylalanine ammonia-lyase and phenolic compounds differentially in chickpea. **Folia Microbiol**. v.51, p. 463–468, 2006.

BOROWSKI, J. M.; GALLI, V.; PERIN, E. C.; POTES, M. L.; SOUZA, E.; SILVEIRA, C. A. P.; MESSIAS, R. S. Efeito de estresse salino e aplicação foliar de água de xisto em parâmetros fisiológicos e bioquímicos. **Revista Congrega Urcamp**. ISSN:19822960, 2013.

CAMPOS, Â. D et al. Induction of chalcone synthase and phenylalanine ammonia-lyase by salicylic acid and *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Brazilian Journal of Plant Physiol**, v.15, p. 129-134, 2003.

CQFS. COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO- RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. Porto Alegre: SBCS - Núcleo Regional Sul/UFRGS, 10 ed., 2004. 400 p.

GIAMPIERI, F. et al. The potential impact of strawberry on human health. **Nat Prod Res**. v.27, p. 448-455, 2013.



12ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa - ISSN 1982-2960

JAAKOLA, L. New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits. **Trends in plant science** doi:10.1016/j.tplants, 2013.

MESSIAS, R. S.; SILVEIRA, C. A. P.; GALLI, V.; PILLON, C. N.; ROMBALDI, C. V. Multimineral and organic composition of a liquid by-product from the pyrobituminous shale pyrolysis process and its potential use in agriculture. **Journal of Plant Nutrition**, in Press, 2013a.

MESSIAS, R.; GALLI, V.; SCHIRMER, M.; PILLON, C. N.; SILVA, S.; SILVEIRA, C. A. P.; ROMBALDI, C. Yield and quality of maize following the foliar application of a fertilizer based on the byproduct “shale water”. **Agricultural Sciences**, v.4, p. 56-65, 2013b.

MESSIAS, R.; GALLI, V.; BUSS, J. H.; BOROWSKI, J. M.; NORA, L.; SILVA, S. D.; MARGIS, R.; ROMBALDI, C. V. Isolation of high-quality RNA from grains of different maize varieties. **Prep Biochem Biotechnol.**, v.7, p. 697-707, 2014.

PAREDES-LÓPEZ, O.; CERVANTES-CEJA, M. L.; VIGNA-PÉREZ, M.; HERNÁNDEZ-PÉREZ, T. Berries: improving human health and healthy aging, and promoting quality life—A Review. **Plant Foods Hum. Nutr.** v. 65, p. 299–308, 2010.

SHARMA, H. S. S.; FLEMING, C.; SELBY, C.; RAO, J. R.; MARTIN, T. Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. **J Appl Phycol.**, DOI 10.1007/s10811-013-0101-9, 2013.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM (SAS). SAS user’s guide: Statistics. SAS Institute, Cary, NC, 2000.

STIRK, Wendy A. et al. Abscisic acid, gibberellins and brassinosteroids in Kelpak®, a commercial seaweed extract made from *Ecklonia maxima*. **Journal of Applied Phycology**, v. 26, n. 1, p. 561-567, 2014.



12ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa - ISSN 1982-2960

SWAIN, T.; HILLIS, W .E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. Quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal Science and Food Agricultural**, v.10, p. 63-68, 1959.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 819 p.

TULIPANI, S.; MEZZETTI, B.; CAPOCASA, F.; BOMPADRE, S.; BEEKWILDER, J.; VOS, C. H.; CAPANOGLU, E.; BOVY, A.; BATTINO, M. Antioxidants, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.56, p. 696–704, 2008.

VIEIRA, E. L.; CASTRO, P. R. C. Ação de bioestimulante na germinação de sementes, vigor de plântulas, crescimento radicular e produtividade de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, p. 222-228, 2001.

YOSHIHARA, N.; IMAYAMA, T.; FUKUCHI-MIZUTANI, M.; OKUHARA, H.; TANAKA, Y.; INO, I.; YABUYA, T. cDNA cloning and characterization of UDP-glucose: anthocyanidin 3-O-glucosyltransferase in *Iris hollandica*. **Plant. Sci**. v.169, p. 496–501, 2005.

ZHANG, Z.; KOU, X.; FUGAL, K.; MCLAUGHLIN, J. Comparison of HPLC methods for determination of anthocyanins and procyanindins in bilberry extracts. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.52, p.688-691, 2004.

ZHU, Changfu et al. Biofortification of plants with altered antioxidant content and composition: genetic engineering strategies. **Plant biotechnology Journal**, v. 11, n. 2, p. 129-141, 2013.



12ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa - ISSN 1982-2960

ZLOTEC, U.; SWIECA, M. S.; JAKUBCZYK, A. Effect of abiotic elicitation on main health-promoting compounds, antioxidant activity and commercial quality of butter lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Food Chemistry**, v.148, p 253–260, 2014.