

Atividade da Bromelina em Plântulas Micropropagadas de Abacaxizeiro cv. Pérola

Jaci Lima Vilanova Neta¹, Zilna Brito de Rezende Quirino²; José Edmário dos Santos³; Aparecida Gomes de Araújo⁴, Ana da Silva Lédo⁵; Denise Santos Ruzene⁶, Daniel Pereira da Silva⁷; Roberto Rodrigues de Souza⁸.

Resumo

O abacaxizeiro é de grande importância para a fruticultura, não só pela produção de frutos comercializados *in natura* ou na agroindústria, mas também pelos subprodutos como a bromelina, que é um conjunto de enzimas proteolíticas amplamente usadas na indústria alimentícia, farmacêutica, cervejeira e têxtil, e também no campo da medicina. A propagação *in vitro* apresenta algumas vantagens quando comparada aos sistemas convencionais de propagação. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade da bromelina em plantas de abacaxizeiro (*Ananas comosus* var. *Comosus*), cultivar Pérola, produzidas em diferentes condições de cultivo *in vitro*. A atividade enzimática foi avaliada em tecidos de folhas e caules de plantas cultivadas em diferentes condições de meio formulado por Murashige e Skoog. Os resultados deste estudo, em relação às diferentes estruturas de abacaxi (folhas e caules) *in vitro* mostraram que a atividade da bromelina varia em função das condições de cultivo, do

¹ Mestranda, Universidade Tiradentes (UNIT), Aracaju, SE, jaci_vilanova@yahoo.com.br;

² Bolsista da Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE, zilna_br@hotmail.com

³ Graduando em Licenciatura Química, bolsista FAPITEC/PIBITI, Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju - SE, edmario_jeds@hotmail.com.

⁴ Engenheira-agrônoma, doutora em Fitotecnia, pesquisadora da Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe (Emdagro), Aracaju, SE, agaraujo2003@hotmail.com.

⁵ Engenheira-agrônoma, Doutora em Fitotecnia, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju - SE, ana.ledo@embrapa.br.

⁶ Professor da Universidade Tiradentes (UNIT), Aracaju, SE, ruzeneds@hotmail.com.

⁷ Professora da Universidade Tiradentes (UNIT), Aracaju, SE, silvadp@hotmail.com.

⁸ Professor, Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE, rrsouza.br@gmail.com.

tempo e da estrutura na qual foi quantificada, assegurando a viabilidade na produção de mudas com altos níveis de bromelina nas fases subsequentes da micropropagação.

Palavras chave: atividade enzimática, abacaxi, propagação *in vitro*.

Introdução

O abacaxi (*Ananas comosus* L.) é uma fruta das regiões tropicais e subtropicais (RAVINDRA BABU, 2008; CORZO, 2008), consumido em todo o mundo, tanto ao natural quanto na forma de produtos industrializados (CORZO, 2011; RAVINDRA BABU, 2008; ABÍLIO, 2009). É a principal fonte da enzima bromelina, nome genérico dado ao conjunto de enzimas proteolíticas encontradas nos vegetais da família Bromeliaceae, da qual o abacaxizeiro é a espécie mais conhecida (PIZA *et al.*, 2002; KUMAR, 2011; DOKO, 1991; DEVAKATE, 2009). O interesse contínuo por bromelina deve-se em especial às suas numerosas aplicações nas indústrias alimentícia e farmacêutica, atuando, por exemplo, na modulação do crescimento tumoral, na melhoria da ação dos antibióticos, no tratamento sistêmico da inflamação, e no processamento de alimentos para amaciamento da carne, sendo considerada como um dos suplementos mais populares em países europeus (ROWAN *et al.*, 1990; MYNOTT *et al.*, 1999; MAURER, 2001; BHUI *et al.*, 2009). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade da bromelina em plantas de abacaxizeiro cultivar Pérola, produzidas em diferentes condições de cultivo *in vitro*.

Material e Métodos

A produção e multiplicação das plantas *in vitro* foram realizadas no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas da Embrapa Tabuleiros Costeiros, em Aracaju, SE. Os ensaios para a avaliação da atividade da enzima bromelina foram desenvolvidos no Laboratório de Processos de Separação do Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Sergipe. A atividade da enzima

foi avaliada em folhas e caules de plantas de *Ananas comosus* var. *comosus*, cultivar Pérola, desenvolvidas *in vitro* em meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) sem fitoregulador, nas seguintes condições de cultivo: líquido (ML), líquido com ponte de papel de filtro (MLP), gelificado com ágar (MGA) e gelificado com Phytigel[®] (MGP). O planejamento experimental utilizado foi o fatorial 4¹.2² (quatro condições de meio de cultura, dois órgãos da planta e dois tempos de cultivo *in vitro*), com três repetições e quatro amostras por repetição, resultando num total de 12 amostras para cada tratamento. A enzima foi obtida a partir do extrato bruto da folha e do caule de plantas do abacaxi 'Pérola' *in vitro*, após maceração em tampão fosfato a 0,2 M, em pH 5,7. A determinação da proteína total foi realizada pelo método de Bradford (1976) usando *Coomassie Brilliant Blue G250*, e a atividade enzimática baseando-se no método descrito por Murachi (1976) e Baldini et al. (1993).

Resultado e Discussão

A atividade proteolítica da bromelina variou significativamente entre folhas e caules de abacaxizeiro desenvolvidos *in vitro* nas diferentes condições do meio MS, aos três e quatro meses de cultivo (Figura 1). Sendo que, em ambos os períodos de cultivo a atividade proteolítica em tecidos da folha foi estatisticamente superior em MS líquido com ponte de papel e MS gelificado com ágar, quando comparado aos demais tratamentos. No mesmo período, em MS líquido sem ponte os valores foram bastante reduzidos, não diferindo estatisticamente entre folhas e caules. Para Piza et al. (2002) o processo de diferenciação pode ter influência na formação de enzimas proteolíticas, no entanto, os estágios de desenvolvimento da planta durante o crescimento também exercem influência na síntese da proteína. Segundo esses mesmos autores a atividade proteolítica da enzima depende de vários fatores como variedade, idade e parte da planta da qual é extraída.

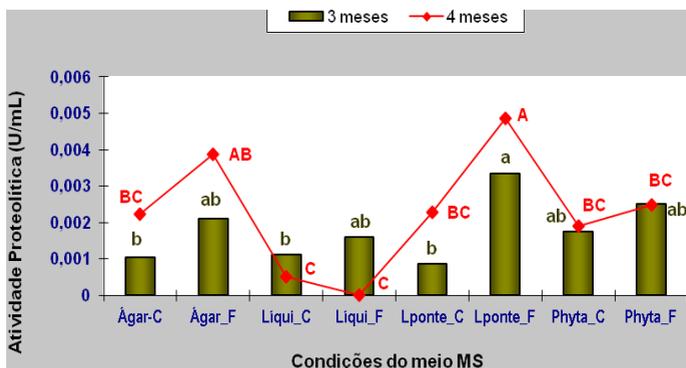


Figura 1. Atividade proteolítica da enzima bromelina em caules (C) e folhas (F) de plantas de abacaxi 'Pérola' desenvolvidas *in vitro* em diferentes condições de meio MS, aos três e quatro meses de cultivo. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na barra, não diferem entre si (Duncan, $p \leq 0,05$)

Folhas e caules de plantas de abacaxizeiro *Ananas comosus* cv. Pérola, desenvolvidas *in vitro*, apresentam bromelinas bioquimicamente ativas. A atividade da bromelina em folhas e caules foi crescente com o aumento do tempo de cultivo, nas condições avaliadas, excetuando-se em meio MS líquido.

Conclusão

Em termos quantitativos os níveis mais expressivos de atividade proteolítica da bromelina foram obtidos em tecidos de folhas de abacaxizeiro, aos quatro meses de cultivo *in vitro*, em MS líquido com ponte de papel de filtro, seguido de MS gelificado com ágar.

Agradecimentos

Os autores agradecem às valiosas contribuições de Dr. Sarah Brandão Santa Cruz Barbosa (in memoriam) durante a execução e finalização deste estudo.

CAPES, FAPITEC, UNIT, EMBRAPA

Referências Bibliográficas

ABÍLIO, G. M. F; HOLSCHUH, H. J; BORA P. S; OLIVEIRA, E. F. Extração, atividade da bromelina e análise de alguns parâmetros químicos em cultivares de abacaxi. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.31, n. 4, p. 1117-1121, 2009.

BHUI, K.P.S., GEORGE, J., SHUKLA, Y. Bromelain inhibits COX-2 expression by blocking the activation of MAPK regulated NF-kappa B against skin tumor-initiation triggering mitochondrial death pathway. **Cancer Letters**, v.282, p.167-176, 2009.

CORZO, C. A; WALISZEWSKI, K. N; WELTI-CHANES, J. Pineapple fruit bromelain affinity to different protein substrates. **Food Chemistry** xxx (2011) xxx-xxx.

DEVAKATE, R.V; PATIL, V.V; WAJE, S.S; THORAT, B.N. Purification and drying of bromelain. **Separation and Purification Technology**, v.64, p. 259-264, 2009.

DOKO, M. B; BASSANI, V; CASADEBAIG, J; CAVAILLES, L; JACOB, M. Preparation of proteolytic enzyme extracts from *Ananas comosus* L., Merr. fruit juice using semipermeable membrane, ammonium sulfate extraction, centrifugation and freeze-drying processes, **International Journal of Pharmaceutics**, v. 76, p. 199-206, 1991.

KUMAR, S; HEMAVATHI, A.B; HEBBAR, H. U. Affinity based reverse micellar extraction and purification of bromelain from pineapple (*Ananas comosus* L. Merryl) waste. **Process Biochemistry**, v. 46, p. 1216-1220, 2011.

MAURER, H.R. Bromelain: biochemistry, pharmacology and medical use. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 58, n. 9, p. 1234-1245, 2001.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v.15, p.473-497, 1962.

MYNOTT, T.L., LADHAMS, A., SCARMATO, P., ENGWERDA, C.R. Bromelain, from pineapple stems, proteolytically blocks activation of extracellular regulated kinase-2 in T cells. **The Journal of Immunology**, v. 163, p. 2568–75, 1999.

PIZA, I. M. T.; LIMA, G. P. P.; BRASIL, O. G. Reguladores vegetais na micropropagação do abacaxizeiro. **Revista Ceres**. v. 48, n. 280, p.681-690, 2001.

RAVINDRA BABU, B., RASTOGI, N.K., RAGHAVARAO, K.S.M.S. Liquid–liquid extraction of bromelain and polyphenol oxidase using aqueous two-phase system. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**. v.47, p.83–89, 2008.

ROWAN, A. D.; BUTTLE, D. J.; BARRETT, A. J. The cysteine proteinases of the pineapple plant. **Biochemical Journal**, v. 266, n. 3, p. 869-75, 1990.