



20º Seminário de
Iniciação Científica e
4º Seminário de Pós-graduação
da Embrapa Amazônia Oriental

ANNAIS 2016

21 a 23 de setembro

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Oriental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*



20º Seminário de
Iniciação Científica e
4º Seminário de Pós-graduação
da Embrapa Amazônia Oriental

ANNAIS 2016

21 a 23 de setembro

Embrapa Amazônia Oriental
Belém, PA
2016



MERCAPTOETANOL NO CONTROLE DA OXIDAÇÃO DE MERISTEMA DE PIMENTEIRA-DO-REINO (*Piper nigrum* L.) EM CULTIVO *in vitro*

Danielle Pereira Mendonça¹, Oriel Filgueira de Lemos², Gleyce Kelly Sousa Ramos³, Fernanda Beatriz Bernaldo da Silva¹, Orlando Maciel Rodrigues Júnior¹, Simone de Miranda Rodrigues²

¹Graduando em Agronomia, Universidade Federal Rural da Amazônia, daniellepereiraam@gmail.com, Fernanda_bernaldo@hotmail.com, orlando_maciel@hotmail.com

² Pesquisador da Embrapa Amazônia Oriental, oriel.lemos@embrapa.br, simone.rodrigues@embrapa.br

³Mestranda em Biotecnologia Aplicada a Agropecuária, Universidade Federal Rural da Amazônia, gleyceramos17@yahoo.com.br

Resumo: A pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) é uma planta trepadeira originária da Índia, considerada a mais importante especiaria comercializada mundialmente e usada em larga escala como condimento, além das indústrias de carnes e conservas. Os maiores produtores mundiais da pimenta-do-reino são Índia, Vietnã, Indonésia, Malásia e Brasil, sendo que dos estados brasileiros produtores, o Pará é responsável por cerca de 80% da produção do país. Com o objetivo de avaliar o efeito do β -Mercaptoetanol no controle da oxidação em meristema de pimenteira-do-reino no estabelecimento de cultura para o processo de micropropagação, segmentos de ramos contendo gemas apicais e laterais foram submetidos à assepsia e para a retirada dos meristemas ficaram imersos na solução de β -Mercaptoetanol nas concentrações 5 mM, 10 mM e 15mM. Os meristemas inoculados nas concentrações de 5 e 10 mM apresentaram no final de 30 dias alto grau de oxidação, enquanto os meristemas inoculados na concentração de 15 mM, baixa oxidação. O antioxidante β -mercaptoetanol na concentração de 15mM é eficiente para controlar a oxidação do meristema para o estabelecimento de cultura *in vitro* no processo de micropropagação.

Palavras-chave: antioxidante, limpeza clonal, oxidação fenólica

Introdução

A pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) é uma planta trepadeira originária da Índia. É a mais importante especiaria comercializada mundialmente e é usada em larga escala. Os maiores produtores mundiais da pimenta-do-reino são Índia, Vietnã, Indonésia, Malásia e Brasil. No Brasil, dos estados produtores, o Pará é o principal com cerca de 80% da produção do país. A produtividade



média é 2 a 5 toneladas de grãos por hectare (ASSOCIAÇÃO DOS PRODUTORES E DISTRIBUIDORES DE HORTI-FRUTI DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2016).

Uma alternativa para se obter plantas livres de vírus é a limpeza clonal via cultivo de meristema, pois, às células meristemáticas estão frequentemente em divisão celular e ausência de vascularização do meristema, o que sugere que o vírus não consegue alcançar essa região. No entanto, existe um fator limitante para estabelecimento que é a oxidação fenólica que consiste na liberação de compostos fenólicos que promovem o escurecimento do meristema, o que dificulta a sua sobrevivência e conseqüentemente o estabelecimento deste em cultura. O 2-mercaptoetanol, mais conhecido por β -Mercaptoetanol, é um composto químico bastante utilizado para reduzir pontes de dissulfureto e que pode atuar como um antioxidante biológico. O objetivo deste trabalho foi avaliar concentrações do β -Mercaptoetanol no controle da oxidação de meristema de pimenteira-do-reino para o cultivo in vitro.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia da Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA. Segmentos de ramos ortotópicos com ápices caulinares e gemas axilares foram coletados de plantas cultivadas em casa de vegetação e posteriormente imersos em solução de ácido cítrico (50mM) a fim de evitar a oxidação. Em ambiente laboratorial foram realizados lavagens em água corrente e detergente neutro seguida de imersão em solução de fungicida Derosal® (0,1%) por 20 minutos. Sob câmara de fluxo laminar, as estacas foram imersas em álcool 70% por um minuto, seguida de solução de cloreto de mercúrio (0,1%) por 10 minutos e submetidas a lavagens (5x) com água destilada autoclavada. Após as lavagens os explantes foram imersos em solução de sulfato de estreptomicina durante 20 minutos e em solução de mercaptoetanol a 5 mM, 10 mM e 15mM. Os meristemas foram excisados com bisturi com auxílio de estereomicroscópio e depois inoculados em frascos com capacidade para 30ml. Em cada frasco foram utilizados 10 ml de meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) suplementado com BAP (benzilaminopurina) a 0,5 mg L⁻¹, AIA (Acido indolacético) a 0,2 mg L⁻¹, sulfato de estreptomicina a 100 mg L⁻¹, PVP (polivinilpirrolidona) a 100 mg L⁻¹, solidificado com phytigel a 0,2%, e pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem a 121 °C por 20 minutos. Foram usados 7 meristemas por



tratamento. Os meristemas foram mantidos na sala de crescimento, com ausência de luz, temperatura 25 ± 3 °C por 72 horas. Avaliaram-se o nível da oxidação dos meristemas, sendo. O°: sem oxidação; O*: pouca oxidação; O** : moderada oxidação; O***: totalmente oxidado. Foi analisada a percentagem de oxidação.

Resultados e Discussão

Os meristemas, logo após a excisão, apresentam o início do fenômeno da oxidação, tanto que após três dias de cultura em todos os tratamentos havia oxidação dos meristemas (Figura 1). Nas concentrações de 5 e 10 mM evoluíram e ao final de 30 dias de cultura, todos os meristemas apresentavam alto grau de oxidação.

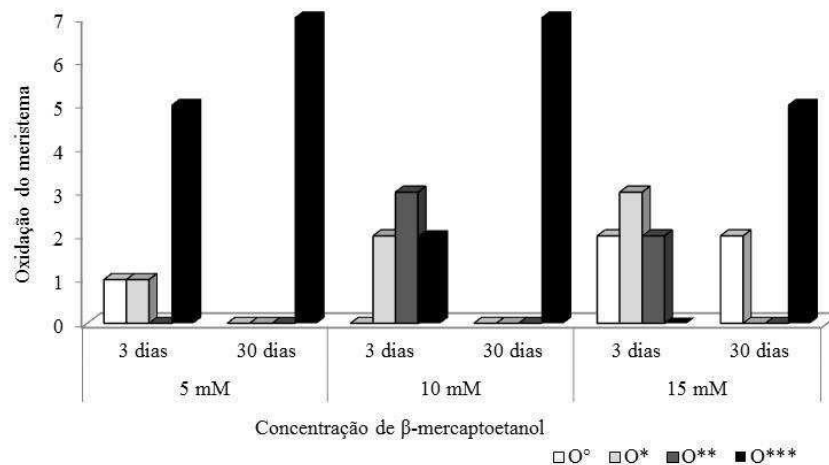


Figura 1 – Grau de oxidação em meristemas de pimenteira-do-reino em diferentes concentrações de mercaptoetanol.

O alto grau de oxidação pode ser explicada pelo fato da pimenteira- do- reino ser uma planta semi-lenhosa, o que favorece a exudação de compostos fenólicos pelos cortes dos tecidos e oxidação fenólica. Essa oxidação pode dificultar o estabelecimento inicial do cultivo in vitro, pois algumas enzimas oxidam os fenóis formando quinonas, as quais são responsáveis pela coloração marrom das culturas, além de causarem a inibição do crescimento e a morte dos explantes em grande número de espécies (MONACO et al., 1977). A oxidação fenólica é altamente dependente do genótipo e do tipo de explante utilizado, no caso da região meristemática há um desbalanço hormonal, o que é um obstáculo para a regeneração. Os meristemas inoculados nas concentrações de 15 mM que aos três



dias não apresentaram oxidação permaneceram após 30 dias de cultura com baixa oxidação (Figura 2), porém naqueles que desencadeara o processo, a oxidação evoluiu e ficaram totalmente oxidados. Resultados semelhantes usando o mercaptoetanol foi encontrado por (PENA et al., 2010) que obteve oxidação moderada, quando usou o β -mercaptoetanol nas regiões dos cortes para a obtenção de microenxertos para a pimenteira-do-reino micropropagadas

Conclusões

O antioxidante β -mercaptoetanol, na concentração de 15mM, controla a oxidação do meristema de pimenteira-do-reino no estabelecimento da cultura para a micropropagação.

Agradecimentos

A Embrapa Amazônia Oriental pela oportunidade de realizar esse trabalho e pela concessão da bolsa de estudo.

Referências Bibliográficas

ASSOCIAÇÃO DOS PRODUTORES E DISTRIBUIDORES DE HORTI-FRUTI DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Pimenta-do-reino**. 2016. Disponível em: <<http://www.aphortesp.com.br/index.php/ct-menu-item-11/12-produtos/73-pimenta-do-reino>>. Acesso em: 1 jul. 2016.

MONACO, L. C.; SÖNDAHL, M. R.; CARVALHO, A.; CROCOMO, O. J.; SHARP, W. R. Applications of tissue culture in the improvement of coffee. In: REINERT, J.; BAJAJ, Y. P. S. (Ed.). **Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue and organ culture**. Berlin: Springer, 1977. p. 109- 129.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, July 1962.

PENA, D. N.; RODRIGUES ; LEMOS, O. F. ; SOUZA, I. S. . Estudo preliminar de microenxertia em plantas de pimenta-do-reino micropropagadas. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 14., 2010, Belém, PA. **Bolsista de iniciação científica: um aporte ao desenvolvimento da pesquisa agropecuária: anais**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2010. 1 CD-ROM.