

INIBIÇÃO OU ATENUAÇÃO DA OXIDAÇÃO DO MEIO DE CULTIVO *IN VITRO* DE TRÊS CULTIVARES DE AMOREIRA-PRETA (*RUBUS SP.*).

MATEUS VICENTE ALVES¹; FERNANDO DE OLIVEIRA PEZZATO; JARDEL ARAUJO RIBEIRO; LEONARDO FERREIRA DUTRA; JULIANA HEY CORADIN²; LEONARDO NORA³

¹Universidade Federal de Pelotas 1 – agro.mateusalves@outlook.com 1

²Universidade Federal de Pelotas; Universidade Federal de Pelotas; Embrapa Clima Temperado; Embrapa Clima Temperado – fpezzato@hotmail.com; jardelaraujoribeiro@gmail.com; leonardo.dutra@embrapa.br; juliana.coradin@embrapa.br 2

³Universidade Federal de Pelotas – leonardo@ufpel.edu.br 3

1. INTRODUÇÃO

No cultivo *in vitro* de tecidos vegetais, a oxidação é uma das principais limitações, pois retarda ou impede a formação de novos tecidos, sendo o uso de antioxidantes uma das alternativas para contornar estas limitações (HUANG *et al.* 2002). De acordo com JONES e SAXENA (2013), na cultura de tecidos necessita-se realizar incisões no tecido vegetal, de tal forma que o conteúdo compartimentalizado das células extravasa, fornecendo substrato para enzimas, como as polifenol oxidases (PFOs) e peroxidases (POs), iniciarem um processo de oxidação.

Segundo DA SILVA e FERRARI (2011), desbalanços ocorridos em organismos podem gerar o surgimento de radicais livres, estes que são átomos ou moléculas com número ímpar de elétrons em sua camada eletrônica, podendo provocar desarranjos celulares quando reagem com outras moléculas. Sendo assim, os antioxidantes são moléculas que interferem positivamente no rearranjo químico em organismos afetados pelos radicais livres. Os antioxidantes são amplamente estudados para diversas aplicações, principalmente na preservação de alimentos. Contudo, existem poucos relatos sobre o uso de antioxidantes no cultivo *in vitro* de tecidos vegetais (JARDEL *et al.* 2015). Assim, neste trabalho estudou-se o efeito do antioxidante L-cisteína no estabelecimento *in vitro* de três cultivares de amoreira-preta, a partir de ramos, em meio líquido.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a efetividade do antioxidante L-cisteína na inibição ou retardo da oxidação de explantes (secções de ramos) de amoreira-preta (*Rubus sp.*) durante cultivo *in vitro* em meio líquido.

2. METODOLOGIA

O experimento consistiu em utilizar o antioxidante L-cisteína na cultura de tecidos em meio líquido [MS+ 1 mg L⁻¹ BAP; 0,01 mg L⁻¹ ANA; 0,1 mg L⁻¹ GA₃; 121,16 mg L⁻¹ antioxidante e 1 mg L⁻¹ *Plant Preservative Mixture (Plant Cell Technology – SAP #10000003154)*, com pH 5,9. Os explantes (pedaços de ramos com 2 cm a 3 cm de comprimento) individualmente foram acomodados em tubos de ensaio contendo 3 mL de meio de cultivo líquido. Cada repetição consistiu em um conjunto de cinco explantes (cinco tubos de ensaio). Foram testadas as cultivares de amoreira-preta BRS Xingu, BRS Xavante e BRS Tupy. Utilizou-se um delineamento experimental bifatorial: 3 cultivares x 1 antioxidante, com 3 repetições (n = 3). A

avaliação foi realizada de forma descritiva.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Referente a cor do meio de cultivo, considerada indicativa de oxidação, pode-se observar uma diferença entre as cultivares, sendo que nos primeiros dias a cultivar BRS Tupy teve o meio de cultivo mais oxidado (médio a escuro) no tratamento controle e medianamente oxidado (médio) no tratamento com o uso do antioxidante L-cisteína. Não seguindo o mesmo padrão, a cultivar BRS Xingu começou a ter o meio de cultivo oxidado de maneira mediana (média) a partir do dia 42, e para a cultivar BRS Xavante, desde a sua inserção até o final do experimento não se pode notar mudanças na coloração do meio de cultivo (claro).

Tabela 1 – Efeito do antioxidante L-cisteína na cor do meio de cultivo no estabelecimento de amoreira-preta (*Rubus sp.*) a partir de três cultivares cultivadas *in vitro* por 70 dias.

Variável	Dias	BRS Tupy		BRS Xingu		BRS Xavante	
		T	C	T	C	T	C
Cor do Meio de Cultivo (claro, médio e escuro)	7	médio	escuro	claro	claro	claro	claro
	14	médio	escuro	claro	claro	claro	claro
	35	médio	escuro	claro	claro	claro	claro
	42	médio	escuro	claro	médio	claro	claro
	63	escuro	escuro	claro	médio	claro	claro
	70	escuro	escuro	claro	médio	claro	claro

Os explantes (ramos) foram cultivados em meio líquido (MS+ 1,00 mg L⁻¹ BAP; 0,01 mg L⁻¹ ANA; 0,10 mg L⁻¹ GA₃; 1,00 mg L⁻¹ *Plant Preservative Mixture (Plant Cell Technology – SAP #10000003154)*; antioxidante 121,16 mg L⁻¹; pH do meio 5,9. O tratamento (T) e o tratamento controle (C) consistiram na adição de antioxidante (1 mM L-cisteína) ao meio líquido e não adição deste antioxidante, respectivamente.



Figura 1 – Efeito do antioxidante L-cisteína na coloração do meio de cultivo e no aspecto geral dos explantes de três cultivares de amoreira-preta (*Rubus sp.*), após 70 dias de cultivo *in vitro*. Os explantes foram cultivados em meio líquido (MS+ 1,00 mg L⁻¹ BAP; 0,01 mg L⁻¹ ANA; 0,10 mg L⁻¹ GA₃; 1,00 mg L⁻¹ Plant Preservative Mixture (Plant Cell Technology – SAP #10000003154); antioxidante 121,16 mg L⁻¹; pH do meio 5,9. O tratamento (T) e o tratamento controle (C) consistiram na adição de antioxidante (L-cisteína) ao meio líquido e não adição deste antioxidante, respectivamente.

A cultivar BRS Tupy possui mais espinhos do que a cultivar BRS Xingu, enquanto a cultivar BRS Xavante não possui espinhos. VIZZOTTO *et al.* (2012), considerando os conteúdos de fenólicos e a atividade antioxidante nas frutas, não puderam constatar uma diferença entre genótipos com e sem espinhos. No entanto, PANTELIDIS *et al.* (2007) e DU *et al.* (2010), constataram que em frutas de cultivares de amoreira-preta (*Rubus sp.*) com espinhos, os teores de compostos fenólicos são menores do que em frutas de cultivares sem espinhos. Segundo SHALLER (2008), quanto menor a concentração de fenólicos em determinada parte da planta, mais suscetível é a mesma à herbivoria.

Neste trabalho, observou-se que explantes de amoreira sem espinhos foram menos suscetíveis à oxidação do que explantes de amoreira com espinhos. Assim, pode-se inferir que o maior escurecimento do meio de cultivo, decorrente de processos oxidativos com origem no explante, está relacionado ao maior acúmulo de compostos fenólicos e/ou maior atividade de polifenol oxidases (PFO) nas partes vegetativas da planta, de forma diretamente proporcional à quantidade de espinhos e de forma inversamente proporcional à concentração de compostos fenólicos na fruta.

4. CONCLUSÕES

No estabelecimento de explantes de amoreira-preta (*Rubus sp.*) no cultivo *in vitro* em meio líquido, a adição de L-cisteína, um antioxidante, resultou em menor oxidação do conjunto meio de cultivo - explante. Novos estudos são necessários para corroborar os resultados obtidos e para que o emprego comercial de L-cisteína possa ser recomendado.

5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

Artigo

- DA SILVA, W.J.M; FERRARI, C.K.B. Metabolismo mitocondrial, radicais livres e envelhecimento. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 14, n. 3, p. 441-451, 2011.
- DU, X.; FINN, C E.; QIAN, M C. Volatile composition and odour-activity value of thornless 'Black Diamond' and 'Marion' blackberries. **Food Chemistry**, v. 119, n. 3, p. 1127-1134, 2010.
- HUANG, L *et al.* High polyphenol oxidase activity and low titratable acidity in browning bamboo tissue culture. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 38, n. 4, p. 358-365, 2002.
- JONES, A.M.P; SAXENA, P.K. Inhibition of phenylpropanoid biosynthesis in *Artemisia annua* L.: a novel approach to reduce oxidative browning in plant tissue culture. **PLoS one**, v. 8, n. 10, p. 1-13, 2013.
- PANTELIDIS, G E. *et al.* Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. **Food chemistry**, v. 102, n. 3, p. 777-783, 2007.
- SCHALLER, Andreas (Ed.). **Induced plant resistance to herbivory**. Dordrecht: Springer, 2008
- VIZZOTTO, M. *et al.* Teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante em diferentes genótipos de amoreira-preta (*Rubus sp.*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 3, p. 853-858, 2012.

Tese/Dissertação/Monografia

- RIBEIRO, J.A. **Agentes coadjuvantes na preservação de maçã (*Malus doméstica* Borkh.) minimamente processada**. 2015. (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal de Pelotas.