

## **INFLUÊNCIA DA CÚRCUMA E DO EXTRATO DE PRÓPOLIS AQUOSO NO CONTROLE DA CONTAMINAÇÃO E DA OXIDAÇÃO EM EXPLANTES DE CAFEIEIRO *IN VITRO***

Maysa Arede de Almeida Araújo<sup>1</sup>

Mauro César Araújo Lopes<sup>2</sup>

Nicole Barbara Palma<sup>3</sup>

Anna Lygia de Rezende Maciel<sup>4</sup>

### *Resumo*

A embriogênese somática, é uma técnica que consiste no desenvolvimento de embriões a partir de células somáticas. O objetivo foi avaliar a influência da cúrcuma e do extrato de própolis no controle de contaminação e de oxidação fenólica em explantes foliares de cafeeiro *in vitro*. O experimento foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais no IFSULDEMINAS - Campus Muzambinho de setembro a outubro de 2023. Para o cultivo *in vitro*, foram coletadas folhas de *Coffea arabica* L. cv. Paraíso, após a coleta, as folhas foram lavadas e desinfestadas. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x3, com três concentrações de extrato aquoso de Cúrcuma (0,0; 1,0 e 2,0 g L<sup>-1</sup>) e três doses de extrato de própolis em solução aquosa (0,0; 2,5 e 5,0%), quatro repetições com cinco explantes por parcela. Foram avaliados os parâmetros: porcentagens: de contaminações fúngica e bacteriana, de oxidação fenólica e coloração dos explantes. A cúrcuma adicionada ao meio de cultura promove menores porcentagens de contaminações fúngica e bacteriana. A menor porcentagem de oxidação é com a adição do extrato de cúrcuma ao meio de cultura nas doses de 0,0 e 2,0 g L<sup>-1</sup>. A ausência da solução aquosa de própolis ao meio de cultura promove menores taxas de oxidação fenólica aos vinte um e aos 28 dias após a inoculação dos em explantes de cafeeiro.

<sup>1</sup> Engenheira Agrônoma. [maysaarede@gmail.com](mailto:maysaarede@gmail.com)

<sup>2</sup> Discente: Graduando em Engenharia Agrônômica. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho, [maurolopes118@gmail.com](mailto:maurolopes118@gmail.com)

<sup>3</sup> Discente: Técnico em Agropecuária. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais, IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho, [barbaranicolepalma@gmail.com](mailto:barbaranicolepalma@gmail.com)

<sup>4</sup> Orientador (a); Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Muzambinho, IFSULDEMINAS, [anna.lygia@muz.ifsuldeminas.edu.br](mailto:anna.lygia@muz.ifsuldeminas.edu.br)

REALIZAÇÃO



**Palavras-chave:** *Coffea arabica* L. Contaminação bacteriana. Contaminação fúngica. *Curcuma longa*. Oxidação fenólica.

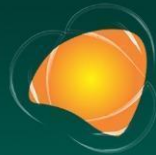
## INTRODUÇÃO

A espécie *Coffea arabica* L. é propagada, principalmente, via semente, apesar de ser uma planta preferencialmente autógama, possui entre 10 a 15 % de fecundação cruzada. Para obter cultivares geneticamente estáveis e aptas para a comercialização e plantio, são necessários no mínimo 30 anos de pesquisas com essa espécie vegetal. Uma vez que, logo após conseguir um híbrido F1 é fundamental a triagem em até cinco gerações, onde para cada geração são necessários até seis anos para avaliar (CARVALHO et al., 2013).

A introdução de técnicas biotecnológicas para auxiliar nos programas de melhoramento genético do cafeeiro é cada vez mais frequente, sendo a embriogênese somática um importante método de propagação *in vitro*, que consiste no desenvolvimento de embriões a partir de células somáticas, sem que haja fusão de gametas, reduzindo assim a distância e facilitando a acessibilidade de materiais com características agrônômicas superiores por parte dos cafeicultores (CARVALHO et al., 2013).

A indução de embriogênese somática está relacionada a alterações no padrão de expressão gênica nos explantes, com reprogramação das células que estarão envolvidas no processo embriogênico. De acordo com as próprias características morfológicas, anatômicas e funcionais das estruturas formadas, poderá ou não ocorrer diferenciação dos embriões somáticos na fase em que as estruturas embriogênicas se formam (MERKLE et al., 1995).

A micropropagação via embriogênese somática do cafeeiro pode ser realizada utilizando-se duas rotas de desenvolvimento: direta, na qual os embriões somáticos originam-se diretamente dos tecidos matrizes sem a formação de estádios intermediários de calos; e indireta, na qual os embriões somáticos formam-se a partir de calos, uma massa de células com crescimento desordenado. A metodologia de embriogênese somática indireta na espécie é a mais promissora, no entanto, ainda precisa ser otimizada e adaptada para a realidade encontrada na produção em larga escala (DONATO



## EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

et al., 2000).

O explante a ser utilizado é determinante para o sucesso do processo de embriogênese somática (CARVALHO; VIDAL, 2003). Partes da planta como gemas, raízes, células isoladas, protoplastos (célula sem parede celular), semente, embriões zigóticos e anteras podem ser utilizados como início de cultivo *in vitro*, no entanto, as folhas são os explantes utilizados na embriogênese somática do cafeeiro.

A contaminação bacteriana e fúngica é um dos principais problemas na micropropagação, podendo ser encontrada na superfície do explante e também no interior dos tecidos, chamada de endógena, comumente encontrada em plantas provenientes do campo (CARVALHO; SILVA; MEDEIROS, 2006).

Um dos fatores de maior impacto na qualidade dos resultados na cultura de tecidos vegetais é a assepsia. Para tornar o explante livre de impureza e microrganismo (fungos filamentosos, bactérias, leveduras e fungos), a assepsia possui um conjunto de técnicas e procedimentos (BARRUETO CID; TEIXEIRA, 2010). Para evitar as contaminações por microrganismos exógenos o explante deve ser desinfestado antes de realizar o cultivo. (BORGES; NASCIMENTO; CARVALHO, 2018)

O genótipo e a espécie são fatores dependentes na oxidação fenólica, assim como o tipo de explante a ser utilizado. A oxidação é um dos problemas mais preocupantes, principalmente quando se faz o estabelecimento de cultura *in vitro* de explantes de espécies lenhosas (TEIXEIRA, 2005). A época do ano é outro fator que interfere na oxidação *in vitro*. A menor taxa de oxidação fenólica ocorre em explantes coletados no período do ano em que a planta está em crescimento vegetativo (TEIXEIRA, 2005).

A cúrcuma, também conhecida como açafrão da terra apresenta atividades antioxidantes, antiinflamatórias e antimicrobianas (GUL et al., 2004). A composição química varia com o segmento da planta e depende do local onde é feito o cultivo. A coloração amarela das raízes é devida à presença de carotenoides. Outras substâncias importantes são: curcuminoides (próximas aos polifenóis, com atividade antioxidante), curcumina (3 a 5% do açafrão), flavonoides (rutina, luteolina, quercetina e hesperidina) e bioflavonoides (atividade antioxidante) e antocianinas.

Dias et al. (2014) avaliando o extrato aquoso do cúrcuma na ação inibitória sobre o crescimento de *Cladosporium cladosporioides* e *Cladosporium lindemunthianum*, observaram uma redução



## EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

considerável no crescimento dos patógenos em alimentos.

A própolis é um produto formado por misturas de inúmeras resinas vegetais, coletado por abelhas em plantas frequentemente visitadas por estes insetos. A própolis é constituída por inúmeras substâncias, dentre elas os flavonoides. Em função da variedade de sua composição química, apresenta várias ações, como antibacteriana e principalmente a antifúngica (LONGHNI et al., 2007).

Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da cúrcuma e do extrato de própolis adicionados ao meio de cultura no controle das porcentagens de contaminação (fúngica e bacteriana) e de oxidação fenólica em explantes foliares de cafeeiro cultivados *in vitro*.

## METODOLOGIA

O presente experimento foi desenvolvido no laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais localizado no prédio de Ciências Agrárias e Biológicas I do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais, Campus Muzambinho, no município de Muzambinho, Minas Gerais, no período de setembro a outubro de 2023.

Para o cultivo *in vitro*, foram coletadas folhas de *Coffea arabica* L. cv. Paraíso, cultivados no Laboratório de Cafeicultura do IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho. As folhas foram coletadas do terço médio do cafeeiro, do terceiro ou quarto par de folhas a partir das extremidades dos ramos plagiotrópicos.

Após a coleta, as folhas foram colocadas em um frasco com água destilada a temperatura ambiente e encaminhadas ao Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, onde foram lavadas em água corrente e detergente neutro. Posteriormente, as folhas foram imersas em álcool 70% durante 1,5 min, e em seguida para a desinfestação com solução de hipoclorito de sódio a 1,25% de cloro ativo durante 20 minutos. Após, o material vegetal foi levado à câmara de fluxo laminar horizontal e lavado por três vezes consecutivas com água destilada e autoclavada.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 3x3, com três concentrações de extrato aquoso de Cúrcuma (0,0; 1,0 e 2,0 g L<sup>-1</sup>) e três doses de extrato de própolis em solução aquosa (0,0; 2,5 e 5,0%), totalizando nove tratamentos, quatro repetições



## EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

com cinco explantes por parcela. Os diferentes tratamentos foram adicionados ao meio de cultivo MI.

O extrato aquoso de cúrcuma foi diluído em água destilada, filtrado para que a retirada das partículas maiores e logo após adicionado ao meio de cultura MI, enquanto o extrato de própolis na solução aquosa foi adicionado diretamente ao meio MI, de acordo com os tratamentos.

O meio de cultura utilizado foi o meio inicial de cultivo MI, fazendo uso de metade dos sais do meio MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) e acrescido de vitaminas: 10mL L<sup>-1</sup>, maltose: 0,4 g L<sup>-1</sup>, 2,4 D: 0,04 g L<sup>-1</sup>, AIB: 1 mL L<sup>-1</sup>, BAB: 2 mL L<sup>-1</sup>, sacarose: 40 g L<sup>-1</sup>, ágar 8 g L<sup>-1</sup> e com pH foi ajustado em 5,6 ± 0,1. O meio foi esterilizado em autoclave por 20 minutos a 120°C e 1,5 atmosfera de pressão.

Os explantes foliares foram cortados em formato de quadrado com medidas próximas a 1 cm quadrado, com o auxílio de bisturi e pinça na câmara de fluxo laminar. Logo, estes foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio de cultura.

Os explantes foram mantidos em sala de crescimento, à 27°C ± 1°C em ausência total de luz por um período de 28 dias.

Decorridos os 28 dias de cultivo, foram realizadas quatro avaliações com intervalos de sete dias. Foram avaliados os parâmetros: porcentagens de contaminação fúngica, de contaminação bacteriana, de oxidação fenólica e coloração dos explantes.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância com o emprego do Software estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011), sendo a diferença significativa entre tratamentos determinada pelo teste F. Detectando-se diferenças entre os tratamentos, as médias serão agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, não houve interação significativa entre os fatores, no entanto, observou-se que, a maior porcentagem de contaminação fúngica foi observada nas diferentes doses de cúrcuma adicionada ao meio de cultura, com valores de 52,88%. Para as diferentes doses de própolis na solução aquosa e para a interação entre os tratamentos, não houve influência estatisticamente significativa (Tabela 4). As



## EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

menores porcentagens de oxidação fenólica nos explantes de cafeeiro foram observadas na adição de cúrcuma ao meio de cultura nas doses de 0,0 e 1,0 g L<sup>-1</sup> e ausência de própolis na solução aquosa (Tabela 4).

Tabela 1: Quarta avaliação das porcentagens de contaminação fúngica, contaminação bacteriana, oxidação fenólica e coloração dos explantes foliares de cafeeiro coletados em diferentes épocas do ano. Muzambinho – MG. 2024.

Tratamento	Fungo %	Bactéria %	Oxidação %	Coloração
<b>Cúrcuma (g L<sup>-1</sup>)</b>				
0,00	52,88b	0,0a	1,92a	Amarelo
1,00	21,59a	5,68a	6,81a	Amarelo
2,00	22,91a	2,08a	14,58b	Amarelo
CV (%)	93,0	386,0	87,0	
<b>Própolis (mL L<sup>-1</sup>)</b>				
0,00	31,25a	2,08a	0,0a	Amarelo
2,50	31,25a	5,20a	12,5b	Amarelo
5,00	37,50a	0,0a	10,4b	Amarelo
CV (%)	93,0	386,0	87,0	

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

De acordo com Pereira et al. (2003), a presença de microrganismos endofíticos em tecidos vegetais têm sido verificados em um grande número de espécies vegetais. Embora seus efeitos sejam pouco conhecidos, sob condições *in vitro*, a presença destes microrganismos, tanto fungos como bactérias, constituem-se numa das mais importantes causas de perda de material vegetal.

Atualmente, pesquisas demonstram propriedades antimicrobiana e antifúngica, da própolis (PARK, 1998). No entanto, foi observado no presente trabalho, que a solução aquosa de própolis adicionada ao meio de cultura não interferiu nas porcentagens de contaminações fúngicas e bacterianas (Tabelas 1, 2, 3 e 4).

Segundo Uzel (2005), a própolis apresenta propriedades antibacterianas, sendo essas atribuídas principalmente à flavonona pinocembrina, ao flavonol galagina e ao éster feniletíl, com ação baseada provavelmente na inibição da RNA-polimerase bacteriana. Outros componentes como os flavonoides, o ácido cafeico, ácido benzoico e o ácido cinâmico, agem na membrana ou parede celular dos



## EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

microrganismos, causando danos funcionais e estruturais. (SCAZZOCCHIO F, 2006), o que pode estar associado a baixa incidência de contaminação bacteriana no presente trabalho.

A própolis possui inúmeras substâncias em sua composição, sendo essas com alta atividade biológica, como anti-inflamatória, antibacteriana e com destaque a ação antifúngica (SALOMÃO et al., 2008). No entanto, no presente trabalho, não foi observada influência da própolis na redução da contaminação causada por fungos em explantes foliares de cafeeiro.

A cúrcuma é usada como aditivo, pois possui propriedades antioxidantes e antimicrobianas (LIRA et al., 2021).

Souza (2018) avaliando o efeito *in vitro* de diferentes concentrações de extrato aquoso de cúrcuma na esporulação e germinação dos esporos de *Fusarium* sp isolados de raízes de mandioca, observou que a sua utilização em concentrações de 1,0 e 1,5% foram efetivas na redução da esporulação *in vitro* de *Fusarium* sp e, meios de cultivos contendo estas mesmas concentrações foram capazes de inibir a capacidade germinativa dos esporos. A atividade antifúngica do extrato de cúrcuma também teve resultados positivos no estudo de Dias, et al. (2014), onde o produto mostrou-se eficiente no controle *in vitro* do crescimento do fitopatógeno *C. Lindemuthianum*. No presente trabalho, a cúrcuma se mostrou eficiente para o controle de fungos em explantes de cafeeiro nas concentrações de 1,0 e 2,0 g L<sup>-1</sup>.

A cúrcuma vem se destacando devido suas atividades associadas aos compostos fenólicos denominados de curcuminoides, presentes no rizoma do tubérculo da planta que previnem ou retardam significativamente a oxidação dos tecidos (DALL'ACQUA et al., 2014). No entanto, aos 28 dias após a inoculação dos explantes foliares do cafeeiro foi observada a redução da porcentagem de oxidação fenólica nos tratamentos com 0,0 e 2,0 g de cúrcuma adicionada ao meio de cultura.

## CONCLUSÕES OU CONSIDERAÇÕES FINAIS

A cúrcuma adicionada ao meio de cultura promove menores porcentagens de contaminações fúngicas e bacterianas aos vinte e oito dias após a inoculação dos explantes.

A menor porcentagem de oxidação é com a adição de cúrcuma ao meio de cultura nas doses de



## EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

0,0 e 1,0 g L<sup>-1</sup>.

A ausência da solução aquosa de própolis ao meio de cultura promove menores taxas de oxidação fenólica em explantes de cafeeiro.

### AGRADECIMENTOS

Agradeço ao grupo de estudo Gplant *in vitro*, ao IFSULDEMINAS e a minha orientadora.

### REFERÊNCIAS

BARRUETO CID, L. P.; TEIXEIRA, J. B. Explante, meio nutritivo, luz e temperatura. In: BARRUETO CID, L. P. **Cultivo *in vitro* de plantas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p. 19-25, 2010.

BORGES, E.M.E.S.; NASCIMENTO, A.V.; CARVALHO, J.M.F.C. **DESINFESTAÇÃO DOS EXPLANTES DO SISAL (*Agave sisalana* Perrine) PARA O CULTIVO *IN VITRO***. 2018. 40 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos, Universidade Federal de Campina Grande, Sumé - Pb, 2018.

CARVALHO, C.H.S. de *et al.* Custo de Produção de Mudas Clonais de Café Arábica Produzidas por Embriogênese Somática. **Embrapa**, Brasília. Df, v. 3, n. 10, p. 01-10, abr. 2013.

CARVALHO, J.M.F.C.; SILVA, M.M.A.; MEDEIROS, M.J.M. Fatores Inerentes à Micropropagação. **Embrapa**, Campina Grande, Pb, v. 148, n. 28, p. 01-28, ago. 2006.

CARVALHO, J.M.F.C.; VIDAL, M.S. Noções de Cultivo de Tecidos Vegetais. **Embrapa**, Campina Grande, Pb, v. 116, n. 41, p. 01-41, out. 2003.

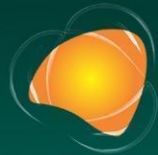
DALL' ACQUA, S. et al. Changes in urinary metabolic profile after oral administration of curcuma extract in rats. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.100, p. 348-356, 2014.

DIAS, L.C.; et al. Bioatividade do extrato aquoso do açafrão (*Curcuma longa* L) sobre o crescimento de fungos fitopatogênicos. **Revista higiene alimentar**, São Paulo v.28, n. 238-239, p.137-141. nov.-dez.2014.

DONATO, M.L.S.; CARDOSO, J.L.; CARDOSO, J.C.; et al. Indução de embriogênese somática em cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Revista Ciência Rural**, 2000.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.





## EXTREMOS CLIMÁTICOS: **IMPACTOS ATUAIS** E RISCOS FUTUROS

GUL, N.; MUJAHID T.Y.; JEHAN, N.; AHMAD, S. Studies on the antibacterial effect of the different fractions of *Curcuma longa* against tract infections isolated. Pakistan **Journal of Biological Sciences**, v. 12, n. 7, p. 2055-2060, 2004.

LIRA, A.L. et al. Atividades antioxidante, antimicrobiana e compostos fenólicos de extratos comercial e in natura de *Curcuma longa*. *Perspectiva*, Erechim. v. 45, n. 169, p. 107-114, mar. 2021.

LONGHNI, R. et al. Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. **Revista brasileira de farmacognosia**, Maringá, v.17, n.3, p.388-395, jul./set. 2007.

MERKLE, S.; PARROTT, W.; FLINN, B.S. Morphogenic aspects of somatic embryogenesis. In: THORPE, T.A. (Ed.) **In vitro embryogenesis in plants**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1995. p. 155-203.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 15, n. 6, p. 473- 479, June 1962.

PARK, J. K., & IKEGAMI, M. (1998). Antibacterial and antifungal activities of propolis. **Journal of Ethnopharmacology**, 62(1), 1-11.

PEREIRA, J.E.S.; MATTOS, M.L.T.; FORTES, G.R.D.L. Identificação e controle com antibióticos de bactérias endofíticas contaminantes em explantes de batata micropropagados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 7, p. 827-834, 2003.

SALOMÃO, K.; PEREIRA, P.R.S., CAMPOS, L.C., BORBA, C.M., CABELLO, P.H.; MARCUCCI, M.C. Brazilian Propolis: Correlation Between Chemical Composition and Antimicrobial Activity. **Int Immunopharmacol**. 2008;5(3):317-324.

SCAZZOCCHIO, F; D'AURIA, F. D; ALESSANDRINI, F; PANTANELLA, F. Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. **Microbiol Res**. v. 4, p.327- 33, december 2006.

SOUZA, G. A. M. Efeitos *in vitro* de extrato aquoso de *curcuma longa* na produção e viabilidade de esporos de *Fusarium* sp. **VI CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO IFSP ITAPETININGA**. Itapetininga, 15, 16 e 17 de maio de 2018 Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo Campus Itapetininga.

TEIXEIRA, J.B. **Limitações ao processo de cultivo *in vitro* de espécies lenhosas**. Brasília: Embrapa – Recursos Genéticos e Biotecnologia. Brasília, [s.d]. 2005.

UZEL, A.; SORKUN, K.; ÖNCAG, Ö.; COGULU, D.; GENÇAY, Ö. E.; SALIH, B. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. **Microbiological Research**, 160, 189-195. 2005.



21º Congresso Nacional de  
**MEIO AMBIENTE**

de Poços de Caldas  
22 a 25 DE OUTUBRO | 2024

**EXTREMOS CLIMÁTICOS: IMPACTOS ATUAIS E RISCOS FUTUROS**

**GSC**  
EVENTOS ESPECIAIS  
a grife de sucesso em eventos



**INSTITUTO FEDERAL**  
Sul de Minas Gerais  
Campus Muzambinho



**INSTITUTO FEDERAL**  
DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
Sul de Minas Gerais

REALIZAÇÃO

[WWW.MEIOAMBIENTEPOCOS.COM.BR](http://WWW.MEIOAMBIENTEPOCOS.COM.BR)