



ASSEPSIA DE SEMENTES DO CAFEIEIRO COM ÓLEO ESSENCIAL DE HORTELÃ-DO-CAMPO E CAPIM-LIMÃO PARA CULTIVO *in vitro*

Raquel C. dos SANTOS ; Jéssica A. BATISTA²; Priscila P. BOTREL³; Miller M. SANCHES⁴

RESUMO

Os óleos essenciais tem demonstrado atividades assépticas, favorecendo o cultivo *in vitro* de plantas, sendo assim é necessário estudos da utilização de óleos essenciais no combate a contaminação do cultivo *in vitro* de plantas. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o potencial fungicida, bactericida e antioxidante dos óleos essenciais de capim-limão e hortelã-do-campo na assepsia de sementes de *Coffea canephora*. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, constituído por 3 tratamentos: 1,25% Cloro ativo, óleo essencial de Hortelã-do-campo a 50% e óleo essencial de Capim-limão a 50%, com 5 repetições por tratamento e 4 sementes por parcela. As sementes de *Coffea canephora* foram imersas nas soluções e mantidas sob agitação por vinte minutos, posteriormente estas foram inoculados. Após trinta dias avaliou-se a porcentagem de germinação, contaminação geral, contaminação fúngica, bacteriana e oxidação das sementes. As sementes submetidas à assepsia com hidrolatos de Hortelã-do-campo e Capim-limão não germinaram. O hidrolato de Capim-limão inibe a contaminação por fungos enquanto o hidrolato de Hortelã-do-campo inibe contaminação por bactéria e reduz a oxidação de sementes de *Coffea canephora* cv tropical.

Palavras-chave: Atividades biológicas; Compostos voláteis; *Cymbopogon citratus*; *Hyptis marrubiioides*; Micropropagação.

1. INTRODUÇÃO

Um dos desafios no melhoramento genético do cafeeiro está na redução do tempo gasto na seleção para produtividade no desenvolvimento de cultivares de café, pois ocorre um período longo do florescimento até a produção de sementes. O emprego de técnicas biotecnológicas se constitui em ferramenta bastante útil para a reprodução de exemplares com

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Muzambinho. Muzambinho/MG - E-mail: rakel_crys@yahoo.com.br

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Muzambinho. Muzambinho/MG – E-mail: jessica.batista@muz.ifsuldeminas.edu.br;

³ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Muzambinho. Muzambinho/MG – E-mail: priscila.botrel@muz.ifsuldeminas.edu.br;

⁴ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Muzambinho. Muzambinho/MG – E-mail: millersanches@hotmail.com

propriedades desejáveis (FRANÇA, 2001), em que vários problemas em biotecnologia de plantas podem ser resolvidos pela técnica da cultura de tecidos.

A primeira etapa para o estabelecimento é a assepsia dos explantes. Dentre os contaminantes mais frequentes no cultivo *in vitro* de plantas estão os fungos, bactérias e as leveduras (OLIVEIRA et al., 2008).

Os óleos essenciais de capim-limão e hortelã-do-campo, possuem atividades antioxidantes, antimicrobiana e antifúngica (SACHETTI et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2004). Os principais constituintes químicos encontrados por Sales et al. (2007) em *H. marruboides* foram cariofila-4(14), 8(15)-dien-5 β -ol, eudesma-4(15), 7-dien-1 β -ol, óxido de cariofileno e (β)-cariofileno. Já Guimarães et al. (2007) estudando os componentes do óleo essencial de capim-limão, encontrou como constituintes majoritários o Citral e Mirceno.

Sendo assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o potencial antifúngico, antibacteriano e antioxidante de óleos essenciais de Hortelã-do-campo e Capim-limão visando o estabelecimento *in vitro* de sementes do cafeeiro.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi instalado e conduzido no Setor de Biotecnologia: Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais, localizado no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas, *Campus* - Muzambinho, MG.

As Folhas de hortelã-do-campo e capim-limão foram coletadas por volta as 08:00 horas da manhã, e pesadas 300 gramas para extração. As extrações dos óleos essenciais foram realizadas por meio de arraste a vapor no mini-destilador Linax[®], por período de uma hora e meia. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), constituído de três tratamentos: 1,25 % de cloro ativo, hidrolato de hortelã-do-campo a 50% e hidrolato de capim-limão a 50%, com cinco repetições por tratamento e quatro tubos por parcela. As sementes de café foram imersas nas determinadas soluções e mantidas sob agitação por vinte minutos, e após a desinfestação foram levadas à capela de fluxo laminar e lavadas quatro vezes com água destilada e autoclavada.

Foram inoculadas 60 sementes de café em meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962). Foram mantidas em B.O.D., com 25 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de intensidade luminosa, temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 16 horas de luz. Após trinta dias, avaliou-se a porcentagem de germinação, contaminação total, contaminação fúngica, contaminação

bacteriana e oxidação das sementes. As análises foram realizadas por meio do Software Estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011), e as médias analisadas pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Maior porcentagem de germinação encontrada (16%) em sementes onde foi realizada assepsia com 50% de hipoclorito de sódio. Para os demais tratamentos não houve germinação das sementes de café. Sementes submetidas à assepsia com hidrolato de hortelã-do-campo apresentaram menor porcentagem de oxidação (16%), em relação aos demais tratamentos. Resultado que corrobora com os estudos de Povh et al. (2012), analisando teor de fenóis e flavonóides em espécies do gênero *Hyptis*, observou que o Hortelã-do-campo apresenta alto potencial antioxidante.

Os tratamentos não diferiram entre si em relação a porcentagem de contaminação geral das sementes de cafeeiro. Entretanto, houve diferença significativa para sementes submetidas à assepsia com hidrolato de Hortelã-do-campo, que promoveu maior contaminação por fungos e menor por bactérias. Sementes submetidas à assepsia com hidrolato de Capim-limão obtiveram maior contaminação por bactéria (40%) e nenhuma contaminação fúngica. (Tabela 1).

Tabela 1. Porcentagem de Germinação, Oxidação, Contaminação Geral, Contaminação fúngica e Contaminação bacteriana em sementes de *Coffea canephora* cv. tropical submetidas à assepsia com hipoclorito de sódio a 50% (HS), Hidrolato de Hortelã-do-campo a 50% (HHC) e hidrolato de Capim-limão a 50% (HCL).

Assepsia					
	Germinação (%)	Oxidação (%)	Contaminação Geral (%)	Contaminação Fúngica	Contaminação Bacteriana
HS	16a	48b	12a	0a	12a *
HHC	0b	16a	20a	16b	4a
HCL	0b	64b	40a	0a	40b

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

Fonte: Pesquisa, 2016.

Para a porcentagem de contaminação por fungos, o hidrolato do Capim-limão e o hipoclorito de sódio mostraram-se eficientes não havendo taxa de contaminação fúngica das sementes. De acordo com estudos realizados por Sacchetti et al. (2005) o óleo essencial de *C. citratus* apresenta alto desempenho em atividades antimicrobianas.

4. CONCLUSÕES

Sementes submetidas à assepsia com hidrolatos de Hortelã-do-campo (*Hyptis marruboides*) e Capim-limão (*Cymbopogon citratus*) não germinaram. O hidrolato de Capim-limão inibe a contaminação por fungos enquanto o hidrolato de Hortelã-do-campo inibe contaminação por bactéria e reduz a oxidação de sementes de *Coffea canephora* cv. tropical.

REFERÊNCIAS

- FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meios do sisvar para Windows 4.0 In: REUNIÃO ANUAL DE REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2011, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2011. P. 255-258.
- FRANÇA, S. C. de. Abordagens biotecnológicas para a obtenção de substâncias ativas. In: SIMÕES, C. M. O. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. rev. Porto Alegre; Florianópolis: UFRGS; UFSC, 2001. p. 105-124.
- GUIMARÃES, L.G.L. 2007. **Estudo da estabilidade e do efeito fungitóxico do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf)**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais. 72pp.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- OLIVEIRA, C.M.A. et al. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Hyptis ovalifolia* Benth. (Lamiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.15, p.756-9, 2004.
- OLIVEIRA, O. R. et al. Efeito de óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia* sobre fungos contaminantes encontrados na micropropagação de plantas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 1, p. 94-100, 2008.
- POVH, J.A.; SANTOS, F.B.; SILVA, K.R. Total Phenols and Flavonoids in four species of the Genus *Hyptis* Jacq. occurring in cerrado. **Brazilian Geographical Journal: Geosciences and Humanities Research Medium**, v.3, n.2, p.520-528, 2012.
- SACCHETTI, G.; MAIETTI, S.; MUZZOLI, M.; SCAGLIANTI, M.; MANFREDINI, S.; RADICE, M.; BRUNI, R. Comparative Evaluation of 11 essential Oils of Different Origin. **Food Chemistry**, v. 91, p.621-632, 2005.
- SALES, J. F. et al. Composition and chemical variability in the essential oil of *Hyptis marruboides* Epl. **Journal of Essential Oil Research**, v. 19, n. 6, p. 552-556, 2007.