

EFEITO DO HIDROLATO DE HORTELÃ-DO-CAMPO E CAPIM-LIMÃO NA MICROPROPAGAÇÃO *in vitro*

Jéssica A. BATISTA¹; Miller M. SANCHES²; Priscila P. BOTREL³; Raquel C. dos SANTOS⁴

RESUMO

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, constituído por 3 tratamentos: T1: Meio MS, T2: Meio MS acrescido de 2,5% de óleo essencial de Hortelã-do-campo e T3: Meio MS acrescido de 2,5 % óleo essencial de Capim-limão, com 5 repetições por tratamento e 4 sementes por parcela. Os hidrolatos de hortelã-do-campo e capim-limão foram adicionados ao meio MS antes da aferição do pH. O material vegetal utilizado foram sementes de *Coffea canephora* desinfestadas por vinte minutos com 1,25% de cloro ativo. Avaliou-se a porcentagem de germinação, contaminação geral, contaminação fúngica, contaminação 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 marrubiodes*; 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 propriedades desejáveis (FRANÇA, 2001), em que vários problemas em biotecnologia de plantas podem ser resolvidos pela técnica da cultura de tecidos.

A composição do meio de cultura pode afetar vários fatores no cultivo *in vitro* de determinada espécie de planta. Além de facilitar a propagação das plantas, as técnicas de

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Muzambinho. Muzambinho/MG - E-mail: jessica.batista@muz.ifsuldeminas.edu.br

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Muzambinho. Muzambinho/MG – E-mail: millersanches@hotmail.com

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: rakel_cris@hotmail.com

cultivo *in vitro* podem auxiliar vantajosamente no estudo da produção, acúmulo e metabolismo de importantes metabólitos secundários (HIPOLYTE, 2000).

Uma das principais dificuldades encontradas no cultivo *in vitro* é estabelecer o material vegetal livre de agentes contaminantes, uma vez que os microrganismos contaminantes competem com os explantes pelos nutrientes do meio de cultura eliminando no meio metabólitos tóxicos, podendo ocasionar a morte de plântula (PEREIRA et al., 2003).

Tendo em vista a importância dos óleos essenciais de capim-limão e hortelã-do-campo, apresentando atividades antioxidantes, antimicrobiana e antifúngica (SACHETTI et al., 2005; SOUZA et. al., 2003), é necessário a realização de estudos sobre o efeito destes componentes adicionados ao meio de cultura,

Sendo assim, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o potencial antifúngico, antibacteriano e antioxidante de hidrolatos de hortelã-do-campo e capim-limão adicionados ao meio de cultura.

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, Câmpus - Muzambinho, MG.

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: Tratamento 1: Meio MS, Tratamento 2: Meio MS acrescido de 2,5% de hidrolato de hortelã-do-campo e Tratamento 3: Meio MS acrescido de 2,5% de hidrolato de capim-limão, com cinco repetições por tratamento e quatro tubos por parcela.

Como material vegetal foram utilizadas sementes de *Coffea canephora* cv. Tropical, realizando assepsia das sementes por vinte minutos com 1,25% de cloro ativo. Após a desinfestação foram levadas à capela de fluxo laminar e lavadas quatro vezes com água destilada e autoclavada.

Sementes de café foram inoculadas em tubos de ensaio (22 x 150 mm), contendo 10 mL de meio de cultura MS, nos tratamentos determinados (MURASHIGE; SKOOG, 1962).

As sementes inoculadas 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.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Não houve diferença significativa entre os tratamentos para as variáveis analisadas. Houve baixa porcentagem de germinação das sementes de café, o que pode ser explicado pela baixa viabilidade das sementes, visto que em relação aos tratamentos, não houve diferença significativa.

As sementes de café apresentaram alta porcentagem de oxidação independente dos tratamentos utilizados. De acordo com Costa et al. (2007) a liberação de compostos fenólicos dificulta o estabelecimento *in vitro* de plantas lenhosas causando oxidação do explante, a utilização de antioxidantes no meio de cultura é uma alternativa na tentativa de controlar a oxidação. Observa-se que a utilização do hidrolato de hortelã-do-campo apresentou menor taxa de oxidação das sementes, entretanto não diferiu estatisticamente dos demais tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1. Porcentagem de Germinação, Oxidação, Contaminação Geral, Contaminação fúngica e Contaminação bacteriana em sementes de *Coffea canephora* cv. tropical inoculadas em meio de cultura MS, e meio MS acrescido de 2,5% de Hidrolato de Hortelã-do-campo (HHC) e 2,5% hidrolato de Capim-limão (HCL). Muzambinho, 2016.

Meio de Cultura	Germinação (%)	Oxidação (%)	Contaminação Geral (%)	Contaminação bacteriana	Contaminação Fúngica
MS	8a	64a	32a	28a	4a *
HHC	16a	48a	24a	24a	0a
HCL	16a	60a	16a	12a	4a

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

Observa-se pequena porcentagem de contaminação bacteriana em sementes inoculadas em meio acrescido de hidrolato do Hortelã-do-campo, entretanto não diferiu estatisticamente do tratamento onde as sementes foram inoculadas em meio MS.

Para a porcentagem de contaminação por fungos, o hidrolato do Hortelã-do-campo adicionado ao meio de cultura mostrou-se eficiente 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.

5. CONCLUSÕES

A adição de hidrolatos de hortelã-do-campo e capim-limão não influenciaram na porcentagem de germinação, oxidação, contaminação geral, contaminação fúngica e contaminação bacteriana de sementes de *Coffea canephora* cv Tropical *in vitro*. Sugere-se a realização de novas pesquisas, com associação de hidrolato e com o óleo essencial de Hortelã-do-campo e Capim-limão visando redução da contaminação das sementes por fungos e bactérias e também o efeito alelopático na germinação de sementes.

REFERÊNCIAS

- COSTA, L. C. B.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. V. Comprimento da estaca e tipo de substrato na propagação vegetativa de atoveran. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.4, p.1157-1160, 2007.
- 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.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: A computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, nov./dez. 2011.
- HIPPOLYTE, I. *In vitro* rosmarinic acid production. In: KINTZIOS, S. E. (Ed.). **Sage: the Genus Salvia**. Amsterdam: Harwood Academic Publishers, 2000.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and biossays with tissue cultures. **Physilogia Plantarum**, v. 15, p. 473-497, 1962.
- PEREIRA, R.S. et al. Antibacterial activity of essential oils on microorganisms isolated from urinary tract infection. *Revista de Saúde Publica*, v.38, n.2, p.326-8, 2003.
- 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.
- SOUZA, G.C. et al. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.90, n.1, p.135-43, 2003.