



EXTRATO DE PRÓPOLIS NO CULTIVO *IN VITRO* DE EXPLANTES FOLIARES DO CAFEIEIRO

Ana Júlia Costa Mendes¹; Anna L. de R. Marciel²; José R. V. Júnior³.

RESUMO

O objetivo do trabalho foi verificar a influência do extrato de própolis aquoso e alcoólico no cultivo de explantes foliares de cafeeiro, visando reduzir a contaminação *in vitro*. O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia e Cultura de Tecidos Vegetais no Campus Muzambinho em setembro de 2023. Os tratamentos sendo por três doses de própolis na solução aquosa (1,0; 2,0 e 3,0 mL L⁻¹), três concentrações de própolis na solução alcoólica (1,0; 2,0 e 3,0 mL L⁻¹) e um tratamento sem a adição de própolis, sendo este considerado testemunha. As variáveis analisadas foram contaminação fúngica, bacteriana e oxidação. Própolis na solução aquosa (1,0; 2,0 e 3,0 mL L⁻¹), própolis na solução alcoólica (1,0 e 2,0 mL L⁻¹) promovem a menor porcentagem de contaminação fúngica em explantes foliares de cafeeiro.

Palavras-chave: Contaminação bacteriana; Contaminação fúngica; Oxidação fenólica; micropropagação do cafeeiro; atividade biológica de extratos.

1. INTRODUÇÃO

O melhoramento genético do cafeeiro é um processo que pode demorar até trinta anos para nova cultivar características geneticamente estáveis e pronta para o plantio comercial. O estudo tem como objetivo principal avaliar o potencial da própolis, em diferentes formulações (aquosa e alcoólica), na redução das taxas de contaminação (fúngica e bacteriana) e na diminuição da oxidação fenólica em explantes foliares de cafeeiro durante a cultura *in vitro*. (CARVALHO et al., 2013).

Através da micropropagação é possível produzir mudas com relativa uniformidade, as técnicas *in vitro* têm sido consideradas para a propagação no cafeeiro entre elas, a micropropagação via embriogênese somática do cafeeiro: sendo os embriões somáticos originam-se diretamente dos tecidos matrizes; e indireta, na qual os embriões somáticos. O explante a ser utilizado é determinante para o sucesso da embriogênese somática no cafeeiro, segmentos da planta como gemas, raízes, células isoladas podem ser utilizados como início de cultivo *in vitro*, no entanto, as folhas são os explantes utilizados no cafeeiro. (KUMAR et al., 2006).

Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência dos extratos de própolis em solução aquosa e alcoólica 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*.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

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 et al., 2000).

O explante a ser utilizado é determinante para o sucesso da embriogênese somática no cafeeiro, segmentos 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 (CARVALHO; VIDAL, 2003).

Contaminações bacterianas e fúngicas são um dos principais problemas na micropropagação, podendo ser encontrada na superfície do explante e também no interior dos tecidos, chamada de endógena. (CARVALHO; SILVA; MEDEIROS, 2006).

O própolis é uma substância resinosa, utilizada na medicina tradicional desde a antiguidade como antioxidante, anti-inflamatório, antibacteriano, antiviral, antifúngico e, até mesmo, anticancerígeno. Dentre os princípios bioativos da própolis um dos que mais se destaca é o efeito antioxidante, resultante da ação conjunta de um grande número de flavonóides, como quercetina, flavonas, isoflavonas, flavonoides e antocianinas (KUJUMGIEV et al., 1999; BANSKOTA et al., 2000; MARCUCCI et al., 2001).

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais localizado no prédio de Ciências Agrárias e Biológicas I do Instituto Federal. Foram utilizadas plântulas estabelecidas *in vitro* de *Coffea arabica* L. cv. Paraíso, 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 imersas no álcool 70% durante 1,5 min, e em seguida para a desinfestação no sódio a 1,25% de cloro ativo durante 20 minutos. Foi levado à câmara de fluxo laminar horizontal e lavado por três vezes consecutivas com água destilada e autoclavada.

Tabela 1- Tratamentos com diferentes doses de própolis nas soluções aquosa e alcoólica adicionados ao meio de cultura MI. Muzambinho – MG. 2024.

Tratamentos	Doses (mL L ⁻¹)
T1 - Própolis na solução aquosa	1,0
T2 - Própolis na solução aquosa	2,0
T3 - Própolis na solução aquosa	3,0
T4 - Própolis na solução alcoólica	1,0
T5 - Própolis na solução alcoólica	2,0
T6 - Própolis na solução alcoólica	3,0
T7 - Testemunha – sem própolis	0,0

Os explantes foliares foram cortados em formato de quadrado com medidas próximas a 1 cm quadrado. Logo, estes foram inoculados em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio de cultura.

Estes foram mantidos em sala de crescimento, a 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. As porcentagens de contaminação fúngica, de contaminação bacteriana, de oxidação fenólica e coloração dos explantes. Detectando-se diferenças entre os tratamentos, as médias serão agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 2, houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos apenas para a porcentagem de contaminação fúngica, onde os tratamentos que apresentaram menor contaminação foram: os meios de cultura adicionados com própolis na solução aquosa (1,0; 2,0 e 3,0 mL L⁻¹), própolis na solução alcoólica (1,0 e 2,0 mL L⁻¹).

Tabela 2. Avaliação das porcentagens de contaminação fúngica, contaminação bacteriana, oxidação fenólica e coloração dos explantes foliares de cafeeiro em diferentes doses de própolis nas soluções aquosa e alcoólica. Muzambinho – MG. 2023.

Tratamento	Fungo	Bactéria	Oxidação	Coloração
	%	%	%	
Própolis - solução aquosa (1,0 mL L ⁻¹)	56,250a	3,125a	50,000a	Amarelo
Própolis - solução aquosa (2,0 mL L ⁻¹)	37,500a	3,125a	50,000a	Amarelo
Própolis - solução aquosa (3,0 mL L ⁻¹)	50,000a	12,50a	56,254a	Marrom
Própolis - solução alcoólica (1,0 mL L ⁻¹)	50,000a	12,50a	50,000a	Amarelo
Própolis - solução alcoólica (2,0 mL L ⁻¹)	62,500a	0,000a	62,500a	Marrom
Própolis - solução alcoólica (3,0 mL L ⁻¹)	84,370b	9,250a	63,750a	Marrom
Testemunha – sem própolis	87,500b	0,000a	50,000a	Amarelo
CV (%)	32,34	57,65	39,00	-

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

A presença de microrganismos endofíticos em tecidos vegetais têm sido verificados em um

grande número de espécies vegetais (PEREIRA et al., 2003). 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 nas quatro avaliações realizadas no período de vinte e oito dias, a contaminação causada por fungos foi significativamente superior quando comparada à contaminação bacteriana (Tabela 2).

5. CONCLUSÃO

Própolis na solução aquosa (1,0; 2,0 e 3,0 mL L⁻¹), própolis na solução alcóolica (1,0 e 2,0 mL L⁻¹) promovem a menor porcentagem de contaminação fúngica em explantes foliares de cafeeiro.

REFERÊNCIAS

- BANSKOTA, A. et al. Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. **J Ethnopharmacol**, Limerick, v.72, n.1-2, p.239-246, 2000.
- CARVALHO, C.H.S. de et al. Custo de Produção de Mudanças 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.
- 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.
- KUMAR, A., ROBERTS, D., WOOD, K. E., et al. (2006). Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. **Critical Care Medicine**, 34(1), 127-134.
- KUJUMGIEV, A. et al. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. **J Ethnopharmacol**, Limerick, v.64, n.3, p.235-240, 1999.
- MARCUCCI, M. C.; DE CAMARGO, F. A.; LOPES, C. M. A. Identificação de aminoácidos in Brazilian propolis. **Z Naturforsch C**, Tübingen, v.51, n.1-2, p.111-114, 1996.
- 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.