

ISSN: 2319-0124

ESTABELECIMENTO FOLIAR DO CAFEIEIRO EM MEIO DE CULTURA SUPLEMENTADO COM EXTRATO DE CENOURA

**Lurdeslaine F. TEIXEIRA¹; Lara B. PALOS²; Mariana S. RODRIGES²; Priscila P. BOTREL³;
Gleyce M. MARQUÊS⁴**

RESUMO

A espécie *Coffea arabica* é de grande importância para a economia brasileira. A embriogênese somática é uma forma de propagar a espécie, entretanto as altas taxas de contaminação e oxidação dificulta o processo. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi utilizar extrato de cenoura visando diminuir a contaminação e oxidação de explantes foliares no estabelecimento *in vitro*. O experimento foi realizado no IFSULDEMINAS *Campus* Muzambinho, onde foram preparadas 4 concentrações do extrato de cenoura, T1 (testemunha-água destilada), T2 (25% do extrato de cenoura), T3 (50% do extrato de cenoura), T4 (75% do extrato de cenoura) e T5 (100% do extrato de cenoura). Os respectivos extratos foram acrescidos no meio de cultura MS e posteriormente foram inoculados 5 explantes foliares do cafeeiro por frasco. Com base nos dados estatísticos o T4 foi o que proporcionou altas taxas de contaminação e oxidação, enquanto, que o T2 com 25% do extrato de cenoura promoveu os menores índices de contaminação (13,34%) e ausência de oxidação. Conclui-se que o tratamento 2 (T2) reduziu as porcentagens de contaminação e oxidação no estabelecimento *in vitro* de explantes foliares do cafeeiro.

Palavras-chave: *Coffea arabica*; Meio de cultura alternativo; Estabelecimento *in vitro*; Explantes foliares.

1. INTRODUÇÃO

O cultivo *in vitro* do cafeeiro é realizado pela embriogênese somática onde o explante foliar é utilizado, entretanto, são fatores limitantes para o estabelecimento *in vitro* dos explantes a contaminação por fungos e bactérias devido o material ser coletado no campo (MACIEL, 2003), além da oxidação dos tecidos que é comum em plantas lenhosas, por conta da liberação de compostos fenólicos (AHMAD, 2013).

Existem várias formulações de meio de cultura, devido à necessidade nutricional de cada planta, além disso, como forma de reduzir o custo do cultivo *in vitro*, têm se utilizado compostos orgânicos nos meios de cultura tradicionais (CANÇADO et al., 2014; NARDELLI et al., 2020), como a cenoura que de acordo com os estudos de Mezzalira e Kuhn (2021) quando adicionada no meio de cultura reduz a contaminação, oxidação, proporciona melhor germinação das sementes e desenvolvimento das plântulas.

¹Voluntária PIBIC, IFSULDEMINAS – *Campus* Muzambinho. E-mail: farialurdeslaine@gmail.com

²Graduanda, IFSULDEMINAS – *Campus* Muzambinho. E-mail: larapalos2014@gmail.com

²Graduanda, IFSULDEMINAS – *Campus* Muzambinho. E-mail: marianasrbio@gmail.com

³Orientadora, IFSULDEMINAS – *Campus* Muzambinho. E-mail: priscila.botrel@muz.ifsuldeminas.edu.br

⁴Laboratorista, IFSULDEMINAS – *Campus* Muzambinho. E-mail: gleyceif@gmail.com

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o estabelecimento de *Coffea arabica in vitro* em meio de cultura suplementada com diferentes concentrações do extrato de cenoura.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local do experimento e preparação do extrato vegetal

O presente projeto foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia e Cultura de Tecidos Vegetais, do IFSULDEMINAS *Campus* Muzambinho, MG, de Novembro a Dezembro de 2021. A coleta das folhas de *Coffea arabica*, foi realizada em campo experimental no período da tarde.

Para o preparo do extrato foi batido em liquidificador 100g de cenoura para 900 mL de água destilada. Após um período de 24 horas de armazenamento na geladeira o extrato foi filtrado para a remoção das partículas grandes, posteriormente o extrato foi filtrado e diluído para a obtenção das concentrações de 25%, 50%, 75% e 100% (extrato bruto), sendo o tratamento testemunha a água destilada (PENHA; BOTREL; BATISTA, 2020).

2.2. Preparação do meio de cultura, procedimentos para o cultivo *in vitro* de *Coffea arabica* e desenho experimental

As folhas foram colhidas, lavadas e posteriormente passaram por assepsia com água e detergente, álcool 70% durante 1 minuto, e foram inseridas no hipoclorito de sódio a 5% de cloro ativo por 36 minutos.

Foi preparado 1 L do meio de cultura semissólido de MS (Murashige; Skoog, 1962) antes da aferição do pH, com o auxílio da pipeta automática foi adicionado ao meio 2mL de extrato de cenoura para cada tratamento, posteriormente a aferição do pH foi adicionado 7 g de ágar e autoclavado a 1,5 atm por 20 minutos. As folhas passaram pela tríplex lavagem com água destilada em capela de fluxo laminar, onde foram inoculados explantes foliares com 1 cm² em frascos contendo 40 mL de meio de cultura, com a face adaxial voltada para o meio. Após a inoculação, os frascos foram acondicionados em sala de crescimento, onde eles permaneceram na ausência de luminosidade, e com temperatura de 25°C.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), foram utilizadas 4 repetições por tratamento, com 5 explantes foliares do cafeeiro por parcela experimental. Após 30 dias foi realizada a avaliação da porcentagem de contaminação (fúngica e bacteriana) e oxidação (%).

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Após 15 dias foi realizada a avaliação dos explantes, sendo possível observar na Figura 1 as

contaminações fúngica (a) e bacteriana (b). O tratamento 2 (T2 – 25% do extrato) proporcionou o menor índice de contaminação por fungos e bactérias (6,67), enquanto, que no tratamento 5 (T5 - extrato bruto) não foi observada contaminação bacteriana. O tratamento 4 (T4) com 75% do extrato teve altos índices de contaminação tanto por fungos quanto por bactérias.

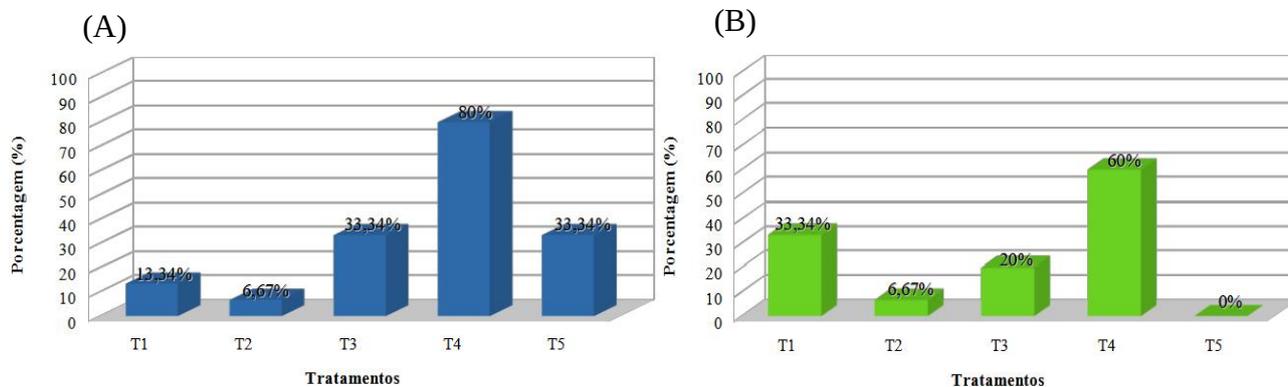


Figura 1: Porcentagem de contaminação fúngica (A) e bacteriana (B) em explantes foliares do cafeeiro cultivados em meios de cultura MS acrescidos de diferentes concentrações de extrato de cenoura.

Fonte: da autora, 2021.

As altas porcentagens de contaminação podem estar associadas ao fato das folhas serem oriundas do campo, onde fungos endofíticos encontram condições favoráveis para o seu desenvolvimento e acabam aparecendo no meio de cultura, afetando a viabilidade do tecido (LATA et al., 2006).

Na figura 2, é possível observar, que os explantes de cafeeiro cultivados em meio de cultura com 25% de extrato de cenoura (T2) não oxidaram, entretanto, a maior porcentagem de oxidação (50%) foi observada no tratamento 4 (T4), que possuía 75% do extrato de cenoura.

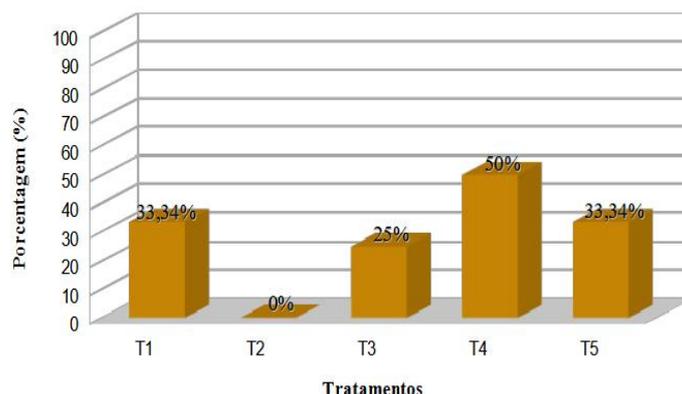


Figura 2: Porcentagem de oxidação em explantes foliares do cafeeiro cultivados em meios de cultura MS acrescidos de diferentes concentrações de extrato de cenoura.

Fonte: da autora, 2021.

A cenoura possui carotenóides que são pigmentos e antioxidantes, em estudos realizados por González-Peña, Lozada-Ramírez e Ortega-Regules (2021) eles observaram que o suco de cenoura

reduz a oxidação dos seres vivos, porque ele diminui o estresse oxidativo, devido a presença e atividade do beta caroteno.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que o acréscimo de 25% do extrato de cenoura no meio de cultura MS, proporcionou maior redução das porcentagens de contaminação e oxidação em explantes foliares do cafeeiro. O extrato bruto inibiu o desenvolvimento de bactérias.

REFERÊNCIAS

AHMAD, I. et al. Lethal effects of secondary metabolites on plant tissue culture. **Am Eurasian J Agric Environ Sci**, v. 13, n. 4, p. 539-547, 2013.

CANÇADO, G. M. A. et al. Cultivo de plantas *in vitro* e suas aplicações. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 30, n. 253, p. 64-74, 2014.

FERREIRA, D. F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, p. 1039-1042, 2011.

GONZÁLEZ-PEÑA, M. A.; LOZADA-RAMÍREZ, J. D.; ORTEGA-REGULES, A. E. Carotenoids from mamey (*Pouteria sapota*) and carrot (*Daucus carota*) increase the oxidative stress resistance of *Caenorhabditis elegans*. **Biochemistry and biophysics reports**, v. 26, 2021.

LATA, H. et al. Identification of IAA-producing endophytic bacteria from micropropagated Echinaceae plants using 16S rRNA sequencing. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 85: 353-359. (2006)

MACIEL, A. L. R. et al. Embriogênese somática indireta em explantes foliares de *Coffea arabica* L. cv. Obatã. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 27, p. 107-116, 2003.

MEZZALIRA, F. K.; KUHN, B. C. Padronização de um protocolo para assepsia de segmentos nodais de *Phalaenopsis* para clonagem *in vitro*. **Colloquium Agrariae**, v.17, n.1, p. 10-17, 2021.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia plantarum**, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.

NARDELLI, M. S. et al. Desenvolvimento de plântulas de *Cattleya walkeriana gardner* em diferentes meios de cultura. **Journal of Agronomic Sciences**, Umuarama, v.9, n.1, p.61-72, 2020.

PENHA, N. C.; BOTREL, P. P.; BATISTA, J. A. Herbicidal potential of *Araucaria angustifolia* (Bertoloni) Otto Kuntze in lettuce seedlings *in vitro*. **Revista Agrogeoambiental**, v. 12, n. 2, 2020.