Influência de explantes e reguladores de crescimento na micropropagação de sisal (*Agave sisalana* Per.).

Rios, Ana Paula de Souza[1,2]; Queiroz, Sandra Regina de Oliveira Domingos[1,3]; Carneiro, Fernando dos Santos[1,4]; Lyra, Camila dos Santos[1,4]; Santana, José Raniere Ferreira de[1,5].

[1] Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Departamento de Biologia, Unidade Experimental Horto Florestal, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV), Av. Presidente Dutra, s/n, Santa Mônica, Feira de Santana, BA, CEP. 44100-000; [2] Bióloga, Mestranda em Biotecnologia - UEFS, bolsista FAPESB, e-mail: riosbioap@yahoo.com.br; [3] Bióloga, Dra. em Genética e Melhoramento de Plantas, Pesquisadora PRODOC/ DCR/ FAPESB/ CNPq/ UEFS, e-mail: sanqueiroz@ig.com.br; [4] Graduandos do curso de Ciências Biológicas - UEFS, e-mails: fernandobramar@yahoo.com.br / camilasantoslyra@gmail.com; [5] Engenheiro Agrônomo, Prof. Dr. Fisiologia Vegetal, Coordenador do LCTV – UEFS, e-mail- raniere@uefs.br.

INTRODUÇÃO

A *Agave sisalana* Per. é uma espécie vegetal altamente produtora de fibra e extremamente resistente à seca (Binh *et al*., 1990). Possui uma grande importância econômica para o nordeste do Brasil, principalmente para a Bahia. Atualmente, cerca de 70 mil brasileiros dependem da cultura do sisal para sobreviver (Silva, 2003).

O sisal é propagado vegetativamente por bulbilhos e por rebentões. A propagação no campo é muito lenta, sendo insuficiente para uma produção massiva de plantas de interesse comercial, já que se trata de uma espécie de grande potencial econômico para o nordeste.

Segundo Bosa *et al.* (2003) a técnica de propagação *in vitro* vem sendo utilizada com amplo sucesso para produção de mudas em escala comercial.

A utilização das técnicas de cultura de tecidos vegetais *in vitro*, oferece uma propagação rápida e massiva de plantas livres de pragas e enfermidades (Blanco *et al.* 2004).

Vários trabalhos relatam sobre o rápido desenvolvimento *in vitro* de espécies da família Agavaceae (Powers & Backhaus, 1989; Groenewald *et al.*, 1977).

O processo de organogênese *in vitro* é muito complexo, pois envolve múltiplos fatores externos e internos, a interação entre fonte de explante, meio de cultura e fatores do ambiente (George, 1993). Este processo também depende da ação de reguladores de crescimento exógenos, em particular auxinas e citocininas e da habilidade do tecido em responder aos efeitos desses hormônios durante o processo de cultivo *in vitro* (Sugiyama, 1999).

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito dos reguladores de crescimento vegetal BAP (Benzilaminopurina) e ANA (Ácido naftalenoacético) e de diferentes explantes na multiplicação *in vitro* de *Agave sisalana* Per.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos, no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais (LCTV) da Unidade Experimental Horto Florestal na Universidade Estadual de Feira de Santana-BA (UEFS).

Utilizou-se como fonte de explante, bulbilhos de sisal, que foram desinfestados segundo Queiroz *et al.* (2006). Os explantes foram extraídos por cortes transversais realizados na base dos bulbilhos, sendo que foram divididos em dois tipos: base inteira e base cortada verticalmente ao meio (base ½).

Na multiplicação *in vitro* utilizou-se o meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) com a metade da concentração de sais, solidificado com ágar (7,5 g/L), suplementado com ANA e BAP nas concentrações (0; 0,25; 0,5 e 1,0 mg/L) e (0; 1,0; 2,5; 5,0 e 10,0 mg/L), respectivamente. Adicionou-se ao meio o biocida PPM^{TM} (0,5mL/L). O pH foi ajustado em 5,8 antes da autoclavagem (121ºC e 1,0 atmosfera por 15 minutos). Distribuiu-se 15 mL de meio de cultura em tubos de ensaio (150 x 25mm).

Após a inoculação, os tubos de ensaio foram mantidos durante 60 dias em sala de crescimento com temperatura de 25 ± 3ºC, sob fotoperíodo de 16h, e radiação fotossintética ativa de 15 $\mu mol.m^2.s^{-1}$, fornecida por lâmpadas fluorescentes branca-frias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 5 (ANA x BAP), com 5 repetições e cada uma formada de 4 tubos. Avaliou-se aos 60 dias de cultivo as variáveis: porcentagem de brotos (%B), numero de brotos (NB), porcentagem de enraizamento (%E) e número de raízes (NR).

Os dados foram submetidos a analise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas estatisticamente pelo teste de Tukey, através do uso do software SisVar (Ferreira, 2003) . Os dados foram transformados em arc sen $\sqrt{\mathbf{X}+1}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observaram-se efeitos significativos para as características %B e NR no tratamento tipo de explantes e para todas as variáveis avaliadas nos tratamentos com reguladores de crescimento BAP e ANA. Ocorreu tripla interação entre explantes (base e ½ base) e as diferentes concentrações de BAP e de ANA para as variáveis NB e %E (Dados não mostrados).

Analisando-se separadamente os tratamentos observou-se que o explante (base) apresentou maior número de raízes (6,84) e o explante ½ base apresentou superioridade quanto à %B (41,50%) e NB (3,19) por explante. Isto deve ter ocorrido devido à quebra da dominância apical nos explantes que foram cortados ao meio (Figuras 1A e 1B).

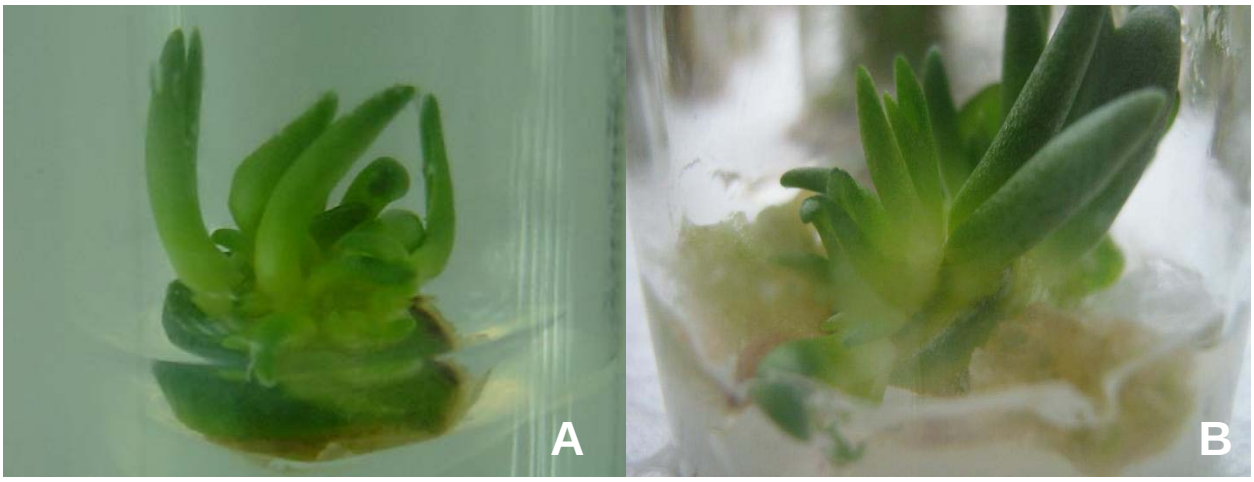


Figura 1. Explantes de sisal com brotos A – Base inteira, B – Base ½.

Para as diferentes concentrações de BAP utilizadas, verificou-se que para %B e NB, a melhor concentração foi 10 mg/L apresentando 49,38% e 5,13, respectivamente. Já para ANA, quanto maior a concentração, menores os valores encontrados para brotos, sendo que os melhores resultados foram obtidos na ausência deste regulador (Dados não mostrados).

Para o explante base inteira, o melhor resultado obtido para número de brotos, foi na associação de 10 mg/L de BAP com 0,25 mg/L de ANA, obtendo-se 7 brotos por explante (Figura 2A). Já para base ½ , o maior valor (10,78 por explante) foi obtido utilizando 10 mg/L de BAP sem o regulador ANA (Figura 2B). Resultados semelhantes foram verificados por Diniz *et al.* (2004) em *Heliconia stricta*, onde a quebra da dominância apical através de cortes no meristema e/ou tecidos adjacentes a estes, com divisão em partes, mostrou uma tendência a aumentar o número médio de brotações de gemas em relação a gema inteira.

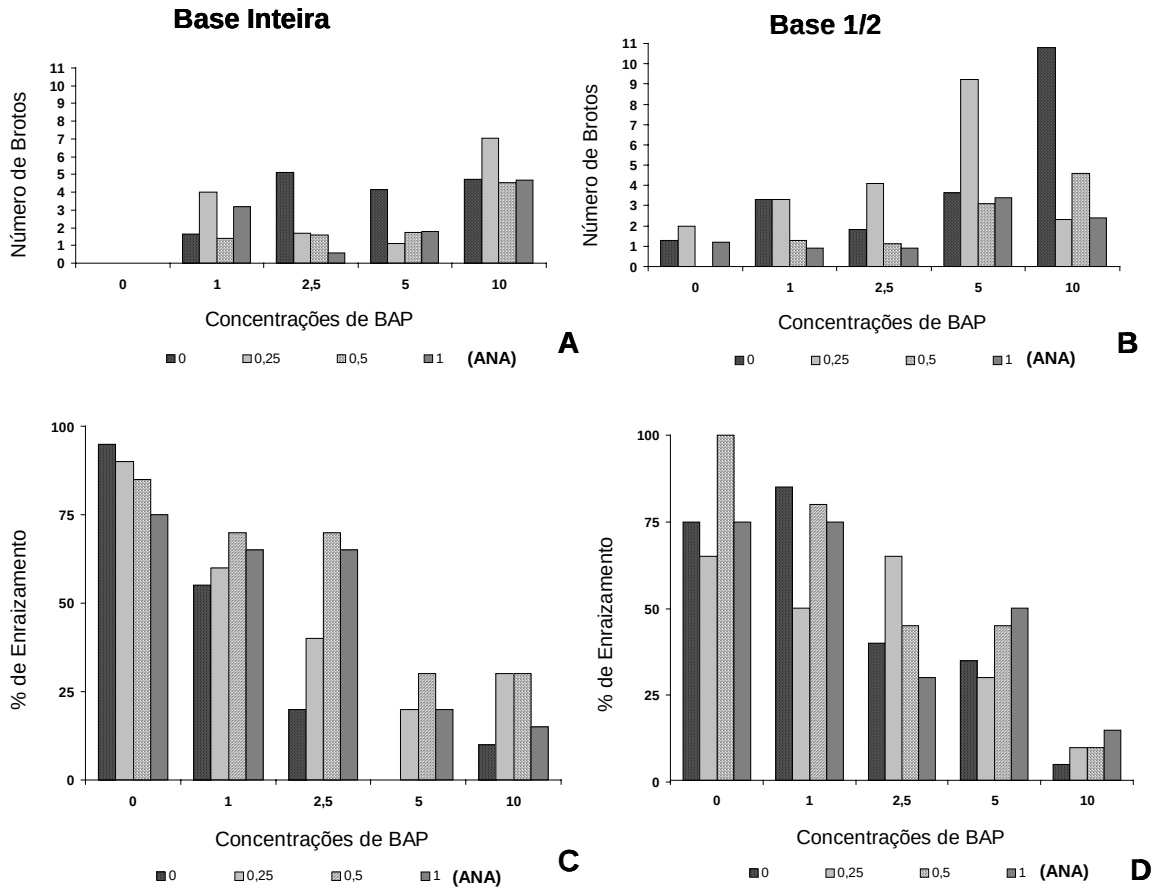


Figura 2: Interações Triplas (BAP x Explante x ANA): A e B – Número de Brotos; C e D – Porcentagem de Enraizamento.

Os resultados neste estudo foram bastante satisfatórios na otimização de brotos de sisal onde se observou até 10 brotos por explante. Binh *et al.* (1990), estudando Agave sisalana verificaram também uma boa resposta quanto à regeneração de brotos (4 a 5 brotos/explante), utilizando rizoma e folha como explantes e CIN e ANA como reguladores de crescimento.

Em relação a porcentagem de enraizamento a presença do BAP interferiu no enraizamento dos brotos formados sendo que os mesmos enraizaram melhor independente do tipo de explante utilizado na ausência ou na menor concentração de BAP (Figuras 2C e 2D). Esta redução no número de raízes por explante na presença de BAP comprova o efeito da citocinina na inibição do enraizamento (Kaminek, 1992). Natham *et al.* (1992) verificaram em gemas de *Heliconia psittacorum*, o enraizamento na ausência de BAP. O mesmo resultado foi verificado em explantes de *A. sisalana* que obtiveram uma alta porcentagem de enraizamento na ausência desse hormônio.

CONCLUSÃO

Os explantes utilizados neste estudo foram eficientes para produzir grande quantidade de brotos vigorosos de sisal.

O sisal apresenta um excelente nível endógeno de auxina/citocinina, o que favorece a técnica de otimização de mudas em larga escala e com custo reduzido.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BINH, L. T.; MUOI, L. T.; OANH, T. D.;THANG & PHONG, T. D. Rapid propagation of agaves in vitro tissue culture. Plant Cell, Tissue and Organ Culture Vol. 23, 1990.

BLANCO, M. & VALVERDE, R. Micropropagacion de *Philodendron* sp (Possiblemente P. Corcovadense). Agronomia Costarricense 28 (1): 39-46.2004.

BOSA, N., CALVETE, E.O., NIENOW, A.A. & SUZIN, M. 2003. Enraizamento e aclimatização de plantas micropropagadas de gipsofila. Horticultura Brasileira 21: 207-210, 2003.

DINIZ, J. D.N.; GOMES, S. O. ; INNECCO, R.; ALMEIDA, J. L.;COSTA, J.T.A. Avaliação dos efeitos da quebra da dominância apical e do BAP na multiplicação in vitro de *Heliconia stricta* Huber. Revista Ciência Agronômica, Vol. 35, Número Especial, out., 2004: 232 - 237 234.

FERREIRA, D. F. SisVar – Versão 4.3. DEX/UFLA- Lavras-MG, 2003.

GEORGE, E. F. Plant propagation by tissue culture: the technology. Great Britain: Edington: Exegetics Limited, 1993. 574p. (v.1)

GROENEWALD, E.G.; WESSELS, D.C.I. & KOELEMAN, A.Callus formation and subsequent plant regeneration and subsequent plant regeneration from seed tissue of an Agave species (Agavaceae). Z. Pflanzenphysiol. 81: 369-373, 1977.

KAMINEK, M. Progress in cytokinin research. Tibtech, v.10, p.159-164, 1992.

MURASHIGE, T.& SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiology Plantarum, 15: 473-497, 1962.

NATHAM, M. J.; GOH, C. J.; KUMAR, P. P. In vitro propagation of Heliconia psittacorum by b ud culture. HortScience, Alexandria, v.27, n.5, p.450-452, 1992.

POWERS, D. E. ; BACKHAUS, R. A. In vitro propagation in Agave arizonica Gentry and Weber. Plant Cell Tissue Organ Cult v.16, 57-60, 1989.

QUEIROZ, S. R. O. D.; RIOS, A. P. S. ; OSUNA, J. T. A.; SANTANA, J. R. F. Estabelecimento *in vitro* de sisal (*Agave sisalana* Perrine) I. Controle da contaminação e da oxidação. Magistra, V. 18, n. 3, Julho/Set, p. 130-139, 2006.

SILVA, O. R. R. F.; CARVALHO, O. S.; RAMOS, E. S. B. Cultivo do Sisal no Nordeste. In: SILVA, O. R. R. F; BETRÃO, N. E. M. **O Agronegócio do Sisal no Brasil**. Brasília, EMBRAPA-SPI; Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, 1999, p. 53-92.

SUGIYAMA, M. Organogenesis in vitro. Current Opinion in Plant Biology, v. 2, p.61-64, 1999.

PALAVRAS – CHAVE: *Agave sisalana* Per.; brotos; organogênese direta.

AGRADECIMENTOS[1]

[1] FAPESB (apoio financeiro e bolsas); CNPq (bolsas).