

Aclimatização de mudas micropropagadas de sisal (*Agave sisalana* Per.) em diferentes substratos.

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

¹Universidade 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; ³Graduandos do curso de Ciências Biológicas - UEFS, e-mails: fernandobramar@yahoo.com.br / camilasantoslyra@gmail.com; ⁴ Bióloga, Dra. em Genética e Melhoramento de Plantas, Pesquisadora PRODOC/ DCR/ FAPESB/ CNPq/ UEFS, e-mail: sandrarqueiroz@hotmail.com; ⁵ Prof. Dr. Depto. Biologia – UEFS, e-mail: ranieri@uefs.br.

INTRODUÇÃO

O sisal (*A. sisalana* Perrine) é uma espécie provavelmente nativa da península de Yucatan, no México, onde é designada pelo nome de Maia de “Yaxci”, porém tanto a fibra como a planta é conhecida mundialmente pelo nome de sisal (MEDINA, 1954).

O sisal dá origem à principal fibra dura produzida no mundo, contribuindo com mais da metade da produção comercial de todas as fibras desse tipo. Sua exploração, no Brasil, concentra-se, no Nordeste, geralmente em áreas onde as condições de clima e solo são pouco favoráveis ou de escassas alternativas para a exploração de outras culturas que ofereçam resultados econômicos satisfatórios.

A micropropagação é uma das técnicas da cultura de tecidos que apresenta melhor alternativa para produção de mudas, principalmente, de interesse econômico por permitir uma excelente qualidade das mesmas, produzir mudas livres de patógenos, além de desenvolver uma alta quantidade de mudas desejáveis em pequeno tempo e espaço, e independente da estação climática.

Uma das barreiras para a aplicação dos métodos de cultura de tecidos é a dificuldade de transferir com sucesso as mudas da condição *in vitro* para a *ex vitro*, pois segundo Silva *et al.* (2003), diversos fatores como genótipo, estresse hídrico, alteração do metabolismo heterotrófico para autotrófico, infecção por patógeno, estresse pela luz, além das mudanças de temperatura, interferem no sucesso da aclimatização.

A aclimatização é a passagem de plantas desenvolvidas *in vitro* para o ambiente *ex vitro* casa de vegetação e finalmente para o campo. A aclimatização pode chegar a ser um fator limitante no processo da micropropagação (Gratapaglia & Machado, 1998).

Muitas espécies desenvolvidas *in vitro* requerem um processo adequado de transferência para o ambiente de casa de vegetação para assegurar que um grande número de plantas sobreviverá e crescerá vigorosamente (Fidelis *et al.*, 2000) e para Deberg (1991) deve-se proporcionar alta umidade relativa do ar, baixa irradiação e temperatura amena para oferecer às plantas uma resposta eficiente no processo da aclimatização.

Segundo Pierik *et al.* (1990), as raízes produzidas *in vitro* são fracas e pouco funcionais, razão pela qual devem ser substituídas o mais rapidamente possível, o que só ocorrerá mantendo a planta com baixa transpiração. Por outro lado, George (1996) observou que raízes formadas *in vitro* não se desenvolvem adequadamente para muitas espécies micropropagadas.

Como o sisal é uma espécie de grande importância econômica para o país, existe a necessidade de se otimizar o processo desde o cultivo *in vitro* até o processo de aclimatização. Estes processos irão permitir a vantagem também de mudas uniformes, o que é muito interessante no replantio das mesmas, pois o que ocorre nos campos pelos pequenos produtores é a utilização de rebentões de diferentes idades para o replantio e isso vem acarretando numa pequena produção de fibras por campo, mediante a desuniformidade das mudas utilizadas.

O presente trabalho tem o objetivo de determinar o melhor substrato para o processo de aclimatização de mudas micropropagadas de *Agave sisalana* Per..

MATERIAL E MÉTODOS

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

As mudas utilizadas para a aclimatização foram micropropagadas em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com ANA e BAP nas concentrações (0; 0,25; 0,5 e 1,0 mg/L¹) e (0; 1,0; 2,5; 5,0 e 10,0 mg/L), respectivamente. Adicionou-se ao meio o biocida PPMTM (0,5mL/L). O pH foi ajustado em 5,8 antes da autoclavagem (121°C e 1,0 atmosfera por 15 minutos).

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

Após de 60 dias de cultivo *in vitro* as mudas micropropagadas que apresentavam comprimento de parte aérea acima de 7 cm e presença de raízes foram retiradas do meio de cultivo *in vitro* e suas raízes foram lavadas para retirar o excesso de meio de cultura. Em seguida foram transferidas rapidamente (para evitar o dessecamento das plantas) para vasos plásticos contendo diferentes substratos: Terra Vegetal (1); Solo de Conceição do Coité (1), Areia (1) e Terra Vegetal + Areia (1:1).

O processo de aclimatização foi realizado em casa de vegetação (30% sombrite) e temperatura ambiente de $25 \pm 5^\circ\text{C}$, compreendendo um período de 60 dias. As plantas foram irrigadas uma vez ao dia, procurando-se manter as folhas sempre úmidas.

Para criar um microclima visando impedir a perda d'água pelas folhas colocou-se garrafas pet com tampas, fixadas no substrato envolvendo as mudas. Após 72 horas as tampas foram desenroscadas levemente, para propiciar a entrada lentamente de ar. Aos 21 dias retirou-se a tampa das garrafas e com 30 dias retirou-se a garrafa de todos os experimentos.

Avaliou-se aos 60 dias o melhor substrato utilizado neste processo, realizando medidas de espessura das folhas (EF), número de folhas (NF), Comprimento da parte aérea (CPA) e largura das folhas (LF), presentes nas mudas aclimatizadas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 repetições, cada uma formada de 5 plantas.

Os dados foram submetidos a análise de variância, de regressão 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 $\text{arc sen } \sqrt{\frac{X}{X+1}}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se efeitos significativos no tratamento substrato ($p \leq 0,01$), apenas para as características CPA e LF (Dados não mostrados).

Para as características espessura de Folha e número de folha não houve diferença significativa entre os diferentes substratos, porém as maiores médias foram obtidas no substrato terra vegetal + areia, com 2,68 mm de espessura de folhas (EF) e de aproximadamente 9 folhas por mudas (Figura 1A e 1C). Em relação a variável largura de folhas (LF), ocorreu diferença significativa entre os substratos, e o melhor resultado (2,47 cm), foi constatado no substrato terra vegetal + areia.

Verificou -se que para as médias obtidas no comprimento de parte aérea dos brotos que foram multiplicados *in vitro*, o melhor resultado foi para o substrato (terra vegetal + areia), seguido do substrato (terra vegetal pura) com os valores respectivos de 16,09 cm e 14,4 cm de altura (Figura 1 D).

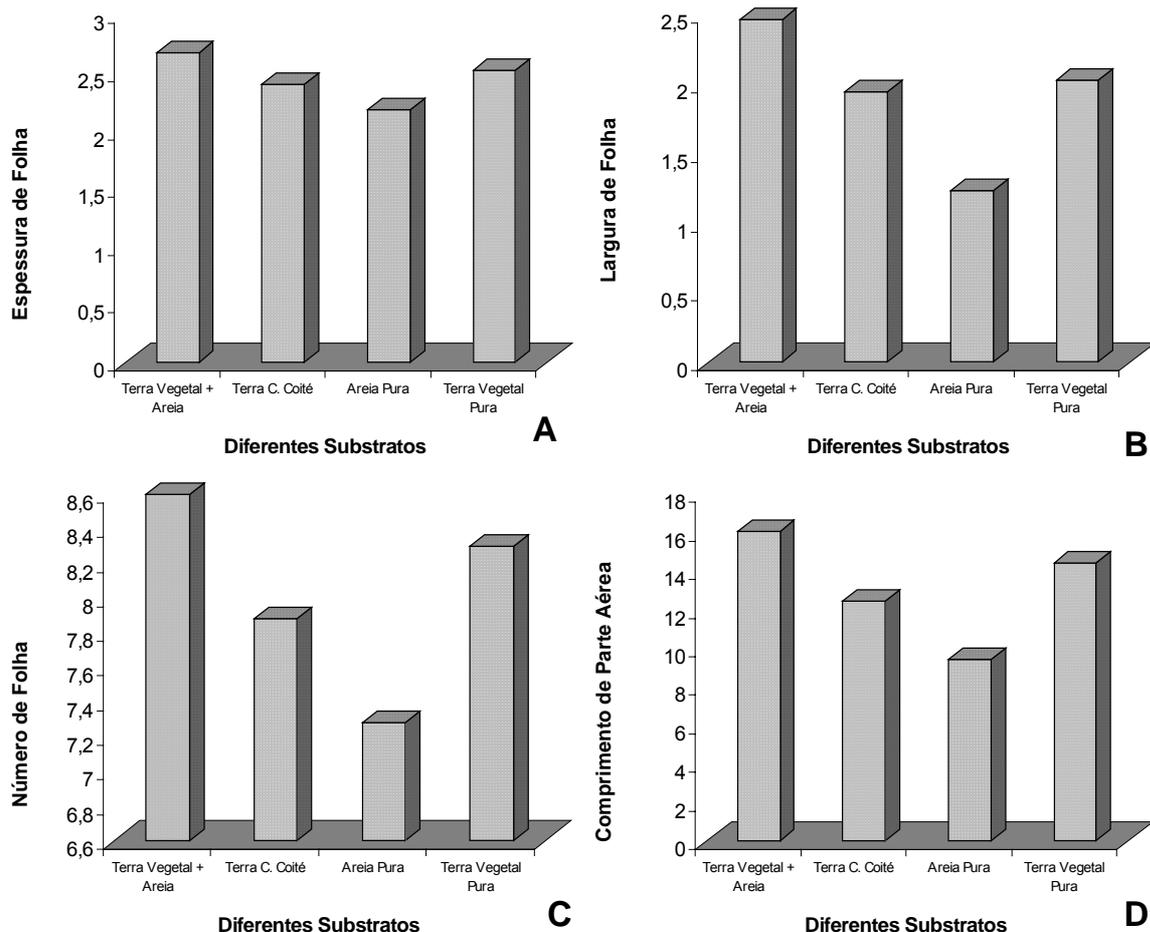


Figura 01: Valores médios obtidos para as características espessura das folhas (EF), número de folhas (NF), Comprimento da parte aérea (CPA) e largura das folhas (LF) em mudas de *Agave sisalana* Per., cultivadas em diferentes substratos.

A taxa de sobrevivência das mudas de sisal aclimatizadas em casa de vegetação com 30% de sombrite, atingiu 100% em todos os substratos no período de 30 dias de aclimatização, porém o tratamento que garantiu o melhor desenvolvimento das mudas foi o substrato terra vegetal + areia (1:1). Resultados semelhantes foram obtidos por Maciel *et al.* (2000), em plantas de violeta onde obtiveram sobrevivência de 100% em todos os substratos testados e sendo o melhor substrato a mistura de areia e composto orgânico, provavelmente por permitir maior aeração para as raízes. Pedrotti & Voltolini (2001), obtiveram altas porcentagens de enraizamento *ex vitro* do porta-enxerto de macieira devido também a aeração do substrato utilizado.

Considerando-se os substratos utilizados neste trabalho, não se verificou interferência no pegamento das mudas de sisal, onde com 15 dias de aclimatizadas já se verificava um aumento do número de folhas e tamanho das mesmas, constatando-se 100% de pegamento das mudas de sisal aclimatizadas (dados não mostrados). Sobrinho *et al.* (2007), também não verificaram a interferência na porcentagem de pegamento das plantas de capim-elefante aclimatizadas.

CONCLUSÕES

Os substratos utilizados neste estudo não influenciaram a sobrevivência e o pegamento das mudas de sisal micropropagadas durante o processo de aclimatização, mas tiveram influência sobre o crescimento das mesmas.

Recomenda-se o uso de terra vegetal + areia no processo de aclimatização de sisal, por proporcionar um melhor desenvolvimento e crescimento das mudas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DEBERGH, P.C.; READ, P.E. Micropropagation. In: DEBERGH, P.C.; ZIMMERMAN, R.H., ed. Micropropagation: technology and application. Amsterdam: Kluwer Academic, 1991. p.1-13

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

FIDELIS, I.; CASTRO, E. M.; PINTO, J. E. B. P.; GAVILANES, M. L.; SANTIAGO, E. J. A. Características anatômicas de estruturas vegetativas de *Brosimum gaudichaudii* TRÉC. Desenvolvidas *in vitro* e *in vivo*. Ciênc. agrotec., Lavras, v.24, n.2, p.327-336, abr./jun., 2000.

GEORGE, E.F. Plant propagation by tissue culture; Part 2 in practice. 2.ed. Edington: Exejetics, 1996. 1361p.

GRATTAPAGLIA, D.; MACHADO, M. A. Micropropagação. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed). Cultura de tecidos e transformação genética de plantas. Brasília: Embrapa-SPE/Embrapa-CNPq, 1998. p. 183-260.

MACIEL, A. L. R.; SILVA, A. B.; PASQUAL, M. Aclimatização de plantas de violeta (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) obtidas *in vitro*: efeitos do substrato. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 24, n. 1, p. 9-12, jan./mar. 2000.

MEDINA, J.C. O Sisal. Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo. 1954, 286p.

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

PEDROTTI, E.L.; VOLTOLINI, J.A. Enraizamento *ex vitro* e aclimatização do porta enxerto de macieira M.9. Revista Brasileira de Fruticultura, v.23, n.2, p.234-9, 2001.

PIERIK, R.L.M. *Cultivo in vitro de las plantas superiores*. Madrid: Mundi – Prensa, 1990. 326 p.

SILVA, A. B. da; PASQUAL, M; MACIEL, A. L. de R. ; DUTRA, L. F. Bap e substratos na aclimatização de plântulas de gloxínia (*Sinningia speciosa* lood. hiern.) provenientes de cultura de tecidos Ciênc. agrotec., Lavras. V.27, n.2, p.255-260, mar./abr., 2003

SOBRINHO, F. DE S.; PEREIRA, A. V.; LEDO, F. J. DA S.; OLIVEIRA, J. S. E; VARGAS, S. M. Aclimatização de germoplasma de capim-elefante, pós cultivo *in vitro*. Ciênc. agrotec., Lavras, v. 31, n. 1, p. 11-15, jan./fev., 2007

PALAVRAS – CHAVE : *Agave sisalana* Per., sobrevivência, aclimatização.

AGRADECIMENTOS¹

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