

Organogênese e regeneração de brotos adventícios *in vitro* de sisal (*Agave sisalana* Per).

Queiroz, Sandra Regina de Oliveira Domingos^{1,2}; Rios, Ana Paula de Souza^{1,3}; Carneiro, Fernando dos Santos^{1,4}; Lyra, Camila dos Santos^{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, Dra. em Genética e Melhoramento de Plantas, Pesquisadora PRODOC/ DCR/ FAPESB/ CNPq/ UEFS, e-mail: sandrarqueroz@hotmail.com; ³ Bióloga, Mestranda em Biotecnologia - UEFS, bolsista FAPESB, e-mail: riosbioap@yahoo.com.br; ⁴Graduandos do curso de Ciências Biológicas - UEFS, e-mails: fernandobramar@yahoo.com.br / camilasantoslyra@gmail.com; ⁵Prof. Dr. Depto de Biologia - UEFS, e-mail- raniere@uefs.br.

INTRODUÇÃO

O sisal é um vegetal eminentemente tropical, pertence ao gênero *Agave*, que engloba um grupo bem definido de plantas de consistência herbácea e escapo floral saliente podendo atingir 12 ou mais metros de altura (Silva *et al.*, 1999).

A propagação convencional de sisal pela via sexuada não é desejada, devido ao seu longo período vegetativo de aproximadamente 20 anos (Binh *et al.*, 1990). O cruzamento é prejudicado pelo limitado número de cultivares que carregam flores hermafroditas. A propagação via semente não é freqüente, e ainda assim a descendência sexual tem a desvantagem de exibir espinhos marginais nas folhas, o que não é indicado em clones para a exploração comercial (Medina, 1954). Normalmente o sisal é propagado vegetativamente por bulbilhos e por rebentões. A propagação via rebentão pode causar uma grande desuniformidade quanto ao porte e vigor das plantas, sendo um processo lento, oneroso e com baixas taxas de pagamento.

Uma alternativa para obtenção de mudas uniformes em sisal seria estabelecer uma tecnologia de propagação vegetativa para a formação direta das mudas, o que representará um significativo avanço na cultura do sisal. Então a micropropagação surge como esta alternativa, já que permite um grande número de plantas em pequeno espaço físico e livre de patógenos. Para tal são necessários ensaios que permitam conhecer e avaliar o potencial organogênico dos materiais de interesse (Costa, 2005).

Normalmente, se tem maior sucesso utilizando tecidos jovens, que possuem maior competência organogenética (Peres, 2002). Diferenças significativas na capacidade organogenética *in vitro* são encontradas ao se variar a composição nutricional do meio de cultura. Contudo, os componentes mais otimizados em meio de cultura, são os fitorreguladores (Peres, 2002).

O objetivo deste trabalho foi determinar a melhor combinação de concentração dos hormônios BAP e ANA para a regeneração e desenvolvimento *in vitro* de brotos adventícios de sisal (*Agave sisalana* Per.).

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se como material vegetal, bulbilhos de sisal coletados do escapo floral, em uma plantação de sisal cultivada no município de Conceição do Coité-BA.

A desinfestação foi realizada segundo Queiroz *et al.* (2006). Utilizou-se como explante a base do bulbilho (0,5cm) cortada verticalmente ao meio.

Para a multiplicação *in vitro* empregou-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 PPMTM (0,5mL/L). O pH foi ajustado em 5,8 antes da autoclavagem (121°C e 1,0 atmosfera por 15 minutos). Distribui-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 $25 \pm 3^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo de 16h, e radiação fotossintética ativa de $15 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, fornecida por lâmpadas fluorescentes branca-frias.

O delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 5 (BAP x ANA), com 6 repetições e cada uma formada de 5 tubos.

Aos 60 dias foram avaliadas as seguintes variáveis: porcentagem de brotos adventícios (%B), número de brotos adventícios por explante (NB), número de folhas em brotos adventícios (NF) e comprimento dos brotos adventícios (CB).

Os dados foram submetidos a análise 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 $\text{arc sen } \sqrt{X+1}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que ocorreram diferenças significativas ($p < 0,01$), para todas as características avaliadas no tratamento isolado de ANA e para as características %B, NB e NFB no tratamento isolado de BAP. Na interação dos hormônios BAP com ANA houve diferença significativa ($p < 0,05$), apenas para a característica NB (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios para os tratamentos com diferentes concentrações de BAP e ANA para as variáveis: porcentagem de brotos (%B), número de Brotos (NB), número de folhas de brotos (NFB) e comprimento de brotos (CB), em explantes de bulbilhos de sisal (*Agave sisalana* Perrine).

FV	GL	QUADRADOS MÉDIOS			
		%B	NB	NFB	CB
BAP (B)	4	0,106**	3,782**	0,458**	0,380
ANA (A)	3	0,150**	2,228**	1,020**	2,380**
B x A	12	0,016	0,996*	0,153	0,480
Resíduo	84	0,011	0,533	0,121	0,303
CV (%)		8,90	40,71	23,29	32,90
Média Geral		36,78	2,97	1,40	2,18

** e * = significativo em nível de 1% e 5%, respectivamente. Dados transformados em $\sqrt{X+1}$.

Os resultados indicam que a quebra da dominância apical dos explantes resultou numa eficiente técnica para a produção de brotos em sisal cultivados *in vitro* num período de 60 dias. Isso se deu provavelmente pelo desenvolvimento de múltiplos meristemas, que podem ter sido causados pelo corte no tecido do disco da base dos bulbilhos, em combinação com a citocinina utilizada. Boas respostas regenerativas quanto a quebra de dominância apical e o uso de citocininas em cultivos prolongados também foram verificadas por Keller (1991) e Mohamed-Yasseen *et al.* (1994) em espécies de cebola e alho respectivamente.

Na interação dupla BAP dentro de ANA verificou-se para a característica %B, que a maior média obtida foi de 75% de formação de brotos nas concentrações de 5,0 mg/L e 10,0 mg/L de BAP com ausência de ANA. À medida que se aumentava a concentração da auxina, ocorria uma constante queda na formação de brotos adventícios, sendo que em algumas concentrações verificou-se a ausência dos mesmos (Figura 1 A).

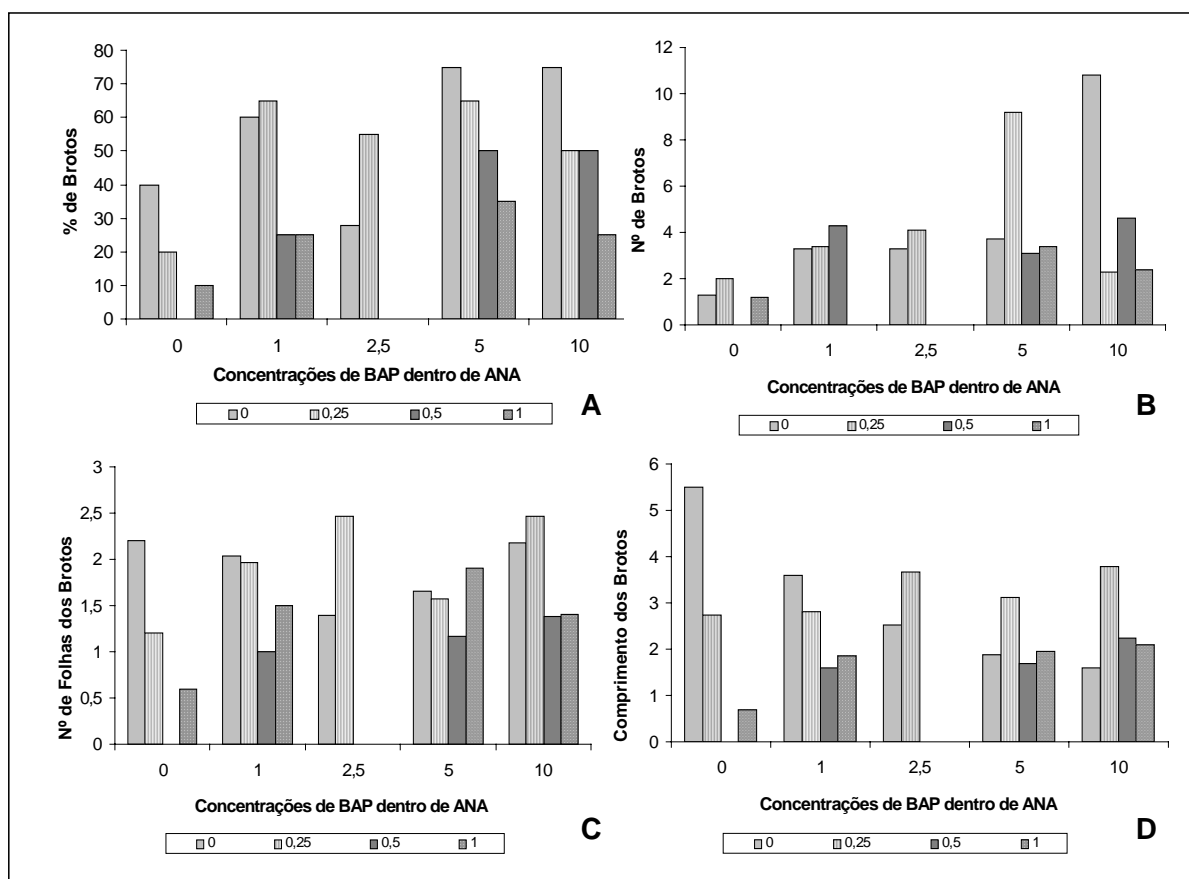


Figura 01: Médias para dupla interação entre BAP e ANA. **A** – porcentagem de brotos adventícios por explantes (%B); **B** – número de brotos adventícios por explantes (NB); **C** – número de folhas por brotos adventícios (NFB) e **D** – comprimento dos brotos adventícios (CB).

Para a característica número de brotos (NB), os melhores resultados foram para as altas concentrações de citocininas como a de 5,0 mg/L de BAP associado com 0,25 mg/L de ANA e a concentração de 10,0 mg/L de BAP com ausência de ANA, atingindo 9,2 e 10,8 brotos/ explante, respectivamente (Figura 1B). Os brotos apresentaram em média 1,40 folhas por broto (Tabela 1) variando entre 0 e 2,47 folhas por brotos (Figura 1C). Verificou-se que ocorreu uma tendência a diminuição de folhas a medida que aumentava-se as concentrações de ANA e verificou-se que a ausência dessa auxina não interferiu na formação de folhas em brotos de sisal.

Analisando a característica comprimento de brotos (CB) na interação dupla BAP dentro de ANA, observa-se que a maior média (5,51cm), ocorreu no tratamento com ausência de reguladores de crescimento (Figura 1D).

Observou-se que o aumento de brotos na maior concentração de BAP (10,0 mg/L), induziu um baixo comprimento dos mesmos em relação aos produzidos em concentrações menores de BAP na ausência de ANA. Essas respostas estão de acordo com Hartmann *et al.* (2002), onde afirmam que altas concentrações de citocininas induzem muitos brotos, mas podem afetar a qualidade destes, produzindo brotos pequenos e incapazes de alongarem-se, dificultando a separação dos mesmos.

CONCLUSÕES

A interação BAP e ANA (5,0 mg/L de BAP + 0,25 mg/L de ANA) foi a mais eficiente para a multiplicação e desenvolvimento *in vitro* de brotos adventícios em *Agave sisalana*.

A dosagem 10,0 mg/L de BAP interferiu negativamente no tamanho dos brotos adventícios, apesar de induzir maiores taxas de brotações em sisal.

REFERÊNCIAS 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.

COSTA, M. A. de C.; CARMO, D. O. do.; SOUZA, F. V. L. D.; MAGALHÃES, G. L. de; HANSEN, D. de S. Efeito de diferentes concentrações de GA3 (ácido giberélico) no alongamento de brotações *in vitro* de Jenipapo (*Genipa americana*). Disponível em www.ufpel.tche.br/sbfruti/anais_xvcbf/propagação/705.htm, 2005.

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

HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES, F. T.; GENEVE, R. L. *Plant Propagation: Principles and Practices*. 7 ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002.

KELLER, J. *In vitro* cultivation of *Allium* species: a method for application in plant breeding and germplasm conservation. In: International Symposium on the genus *Allium*: Taxonomic Problems and Genetic Resources, 1991, Gatersleben. Proceedings, Gatersleben, p.137-152, 1991.

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*, 15: 473-497, 1962.

MOHAMED-YASSEEN, Y.; SPLITTSTOESSER, W. E.; LITZ, R.E. *In vitro* shoot proliferation and production of sets from garlic and shallot. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.*, 36: 243-247, 1994.

PERES, L.E.P. Bases fisiológicas e genéticas da regeneração de plantas *in vitro*. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, Brasília, n.25, p.44-48, 2002.

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.

PALAVRAS – CHAVE : *Agave sisalana* Per.; Organogênese direta; Indução de brotos.

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