

## Calogênese e brotações *in vitro* de sisal (*Agave sisalana* Per.) induzidas por diferentes concentrações de citocininas e auxina.

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

<sup>1</sup>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; <sup>2</sup>Bióloga, Dra. em Genética e Melhoramento de Plantas, Pesquisadora PRODOC/ DCR/ FAPESB/ CNPq/ UEFS, e-mail: [sangueroz@ig.com.br](mailto:sangueroz@ig.com.br); <sup>3</sup> Bióloga, Mestranda em Biotecnologia - UEFS, bolsista FAPESB, e-mail: [riosbioap@yahoo.com.br](mailto:riosbioap@yahoo.com.br); <sup>4</sup>Graduandos do curso de Ciências Biológicas - UEFS, e-mails: [fernandobramar@yahoo.com.br](mailto:fernandobramar@yahoo.com.br) / [camilasantoslyra@gmail.com](mailto:camilasantoslyra@gmail.com); <sup>5</sup> Engenheiro Agrônomo, Prof. Dr. Fisiologia Vegetal, Coordenador do LCTV – UEFS, e-mail- [raniere@uefs.br](mailto:raniere@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).

Além de planta ornamental, é a principal fonte de extração de fibras duras vegetais. O Brasil é o principal produtor mundial e exportador da fibra dura do sisal. Em 2004, já representava 62,5 % da produção mundial, com 191,7 mil toneladas (A Tarde, 2005). A cultura do sisal na Bahia está sofrendo grandes perdas devido às doenças causadas por fungos. A principal delas é a podridão vermelha do tronco, ou simplesmente podridão do tronco do sisal. A incidência desta doença varia bastante entre as regiões de cultivo; em algumas, não ultrapassa 5% da área e, em outras, pode alcançar 40% de infestação (Alves *et al.*, 2004). As plantas de sisal resistem a doença por um determinado tempo, embora seja fatal para a cultura (EMBRAPA, 2005).

A propagação vegetativa do sisal se dá por bulbilhos e por rebentões (Silva *et al.*, 1999). Essa propagação no campo é muito lenta, sendo insuficiente para uma produção massiva de plantas com tanto valor comercial, como é o caso desta espécie. Além disso, várias doenças, principalmente as sistêmicas, podem ser transmitidas para as sucessivas gerações por meio desse tipo de propagação.

Devido a grande importância econômica desta espécie e da grande demanda de mudas, há necessidade de se acelerar o processo de propagação. Assim, a propagação *in vitro* utilizando bulbilhos como material vegetal pode ser uma técnica viável para o sisal.

Estudos realizados na Índia demonstraram que plantas de *A. sisalana* podem ser propagadas *in vitro* com sucesso via organogênese direta e indireta (Nikan, 1997; Hazra *et al.*, 2002a, Hazra *et al.*, 2002b).

O Objetivo desse estudo foi obter resultados preliminares quanto a indução *in vitro* de calos e brotos em explantes de sisal cultivados em meio suplementado com diferentes concentrações de BAP, KIN e ANA.

### MATERAIS 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 retirados do escape floral, que foram desinfestados segundo Queiroz *et al.* (2006). Os explantes foram extraídos por cortes transversais realizados na base dos bulbilhos (1 cm). 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, BAP e KIN nas concentrações (0; 0,25; 0,5 e 1,0 mg/L), (0; 1,0; 2,5; 5,0) e (0; 0,5; 1,0 e 1,5 mg/L), respectivamente sozinhos ou em combinações entre ANA e as citocininas. Adicionou-se ao meio o biocida PPM™ (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.

Foram avaliadas as variáveis: porcentagem de calos (%C), porcentagem de brotos (%B) e número de brotos (NB).

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  $\text{arc sen } \sqrt{\frac{X}{X+1}}$ .

## RESULTADOS

Verificou-se diferenças significativas à 1% para porcentagem de calos (%C) em todos os tratamentos utilizados (BAP, KIN e ANA) como também para as interações. Para a característica porcentagem de brotos (%B), observou-se significância ( $p < 0,01$ ) para KIN e BAP, e para a interação dupla entre KIN e ANA. Para número brotos, os tratamentos KIN e BAP, como também na interação dupla entre BAP e ANA, apresentaram efeitos com diferenças significativas (dados não mostrados).

O melhor tratamento para a porcentagem de calos (%C) foi constatado com o balanço entre os reguladores ANA e KIN, onde se alcançou uma taxa de 100% de calos induzidos na concentração de 0,5 mg/L KIN associada com 1,0 mg/L ANA (Figura 1A). Para a interação BAP e ANA, o melhor resultado (81%) foi observado na ausência de BAP e 0,5 mg/L de ANA (Figuras 1 B; 2A).

Neste experimento não houve a formação de calos na ausência de ANA, independente da citocinina utilizada (BAP; KIN). A associação de ANA com KIN foi muito eficiente para a produção de calos em sisal.

Na regeneração de brotos verificou-se que a medida que se aumentava a concentração de BAP na ausência de ANA, ocorria a maior produção de brotos, contudo o máximo alcançado foi 44%, de brotos regenerados (Figura 1D) Já para as concentrações de KIN associadas a Ana ocorreu a maior porcentagem (40%) quando utilizou-se 1,5 mg/L de KIN associada a 0,25 mg/L de ANA (Figura 1C). A citocinina BAP mostrou-se mais eficiente na formação de brotos em sisal, quando comparado com KIN, independente da concentração de ANA.

Quanto ao número de brotos formados, as concentrações de KIN utilizadas neste estudo foram ineficientes para a proliferação de brotos, tendo em média 1 broto por explante (Figura 1E). Já para as concentrações de BAP houve uma média de 5 brotos por explantes para as concentrações de 2,5 e 5,0 mg/L na ausência de ANA (Figuras 1F; 2B). Carvalho *et al.* (2000) constataram resultados semelhantes em algodão, utilizando as mesmas citocininas. Os autores observaram que a cinetina (KIN) não teve efeito na indução dos brotos, mas que o BAP sozinho, ou associado a cinetina, induziu superbrotamento sendo o melhor meio de indução de brotos foi o suplementado com 2,5 mg/L de BAP. Os resultados neste estudo foram bastante satisfatórios na otimização de brotos em explantes de bulbilhos de sisal, sendo que o número de brotos obtidos foi igual ou superior ao encontrado por Binh *et al.*, (1990) em espécies do gênero *Agave*. Esses autores obtiveram para *A. sisalana* 4 a 5 brotos por explante, utilizando rizoma e folha como explantes e KIN e ANA como reguladores de crescimento.

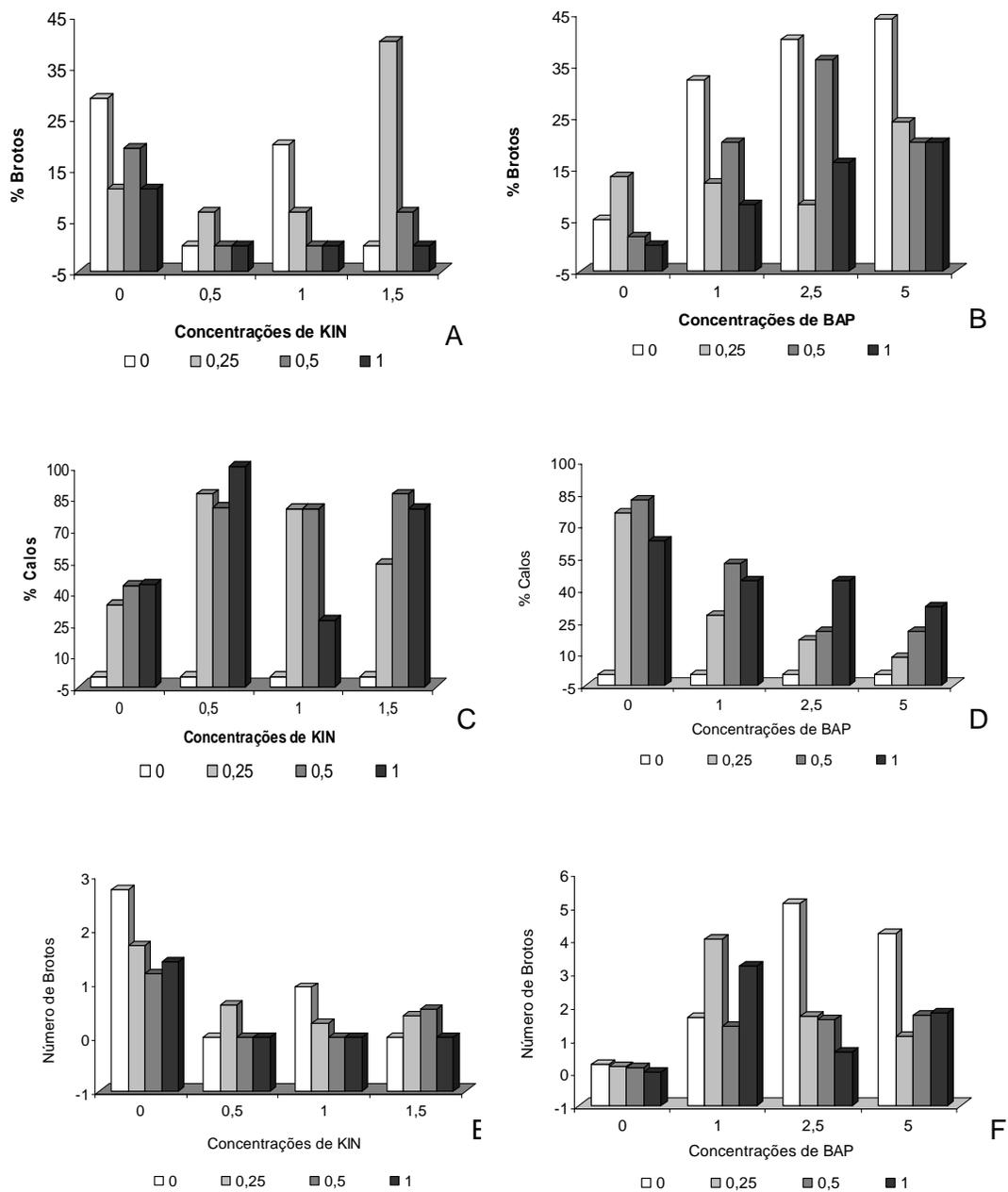


Figura 1: Médias para as duplas interações para as variáveis: A – porcentagem de calos (%C) ANA e KIN; B – porcentagem de calos- ANA e BAP; C – porcentagem de brotos (%B) ANA e KIN e D – porcentagem de brotos - ANA e BAP; E – número de brotos (NB) ANA e KIN e F – número de brotos - ANA e BAP.

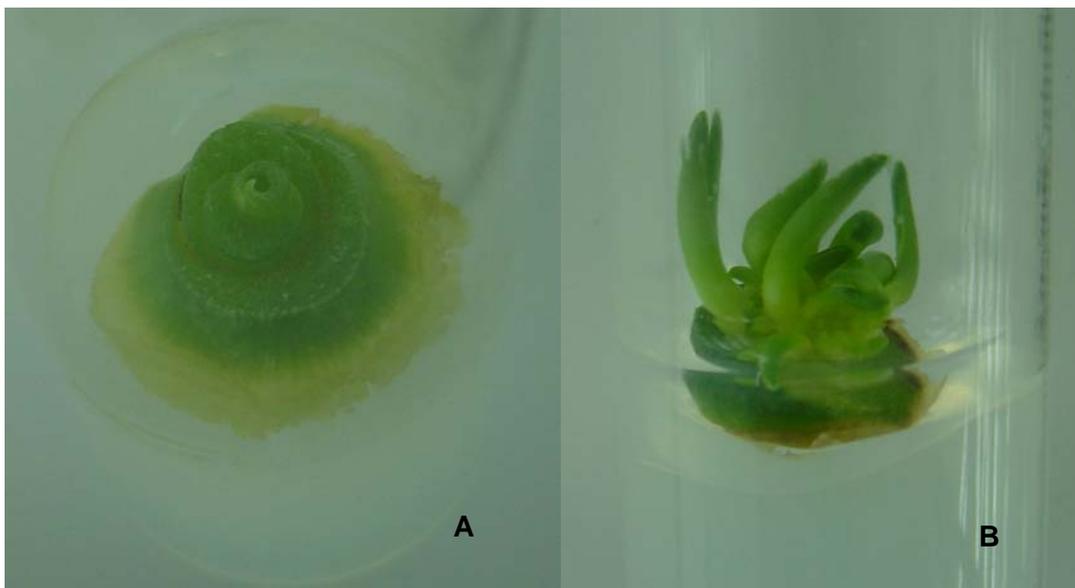


Figura 2. Explantes de sisal com A- Calo; B- Brotos.

## CONCLUSÕES

A utilização de KIN não foi eficiente para indução de brotos, porém o seu balanço com ANA proporcionou uma satisfatória produção de calos.

Brotos de sisal podem ser induzidos utilizando-se BAP (2,5 e 5,0 mg/L) associado ou não com ANA.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ALVES, M. O.; SANTIAGO, E. S.; LIMA, A. R. M. **Diagnóstico socioeconômico da região nordestina produtora de sisal** (versão preliminar). Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, 2004. 75p.

A TARDE – **Em busca da melhoria do sisal**. Salvador, segunda-feira, 18/04/2005, p. 3.

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.

CARVALHO, J.M.F.C.; SOUZA, D.M. de; SANTOS, J.W. dos. Indução de superbrotamento e regeneração de planta *in vitro* na cultivar de algodão CNPA 7H. **Revista de oleaginosas e fibrosas**, Campina Grande, v.4, n.2, p. 61 - 65, maio – ago. 2000.

EMBRAPA. **Informações gerais sobre o sisal**. Disponível em: <<http://www.cnpa.embrapa.br/>> - Acesso em: 13 de outubro de 2005.

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

HAZRA, S. K.; SUDRIPTA. D.; DAS, A. K. Sisal plant regeneration via organogenesis. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, v. 70, n. 3, p. 235-240, 2002a.

HAZRA, S. K.; SUDRIPTA. D.; DAS, A. K. Plant regeneration via somatic embryogenesis in *Agave sisalana* Perr. Ex Engelm. **Phytomorphology**, v. 70, n. 2-3, p. 217-222, 2002b.

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.

NIKAM, T. D. High frequency shoot regeneration *Agave sisalana*. **Plant Cell Tissue and Organ culture**. V. 51, n.3, p. 225-228, 1997.

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. da. **O Agronegócio do sisal no Brasil**. / organizado por Odilon Reny Ribeiro da Silva; Napoleão Esberard de M. Beltrão. – Brasília: Embrapa-SPI Campina Grande: Embrapa-CNPA, 205p, 1999.

PALAVRAS – CHAVE :

*Agave sisalana* Per., calos, brotos

AGRADECIMENTOS<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> FAPESB (apoio financeiro e bolsas); CNPq (bolsas).