

Foto: Julita Maria F. C. Carvalho



### Definição de Protocolo de Germinação *In Vitro* do Germoplasma de Sisal

Julita Maria Frota Chagas Carvalho<sup>1</sup>  
Giselli Cartaxo<sup>2</sup>  
Joaquim Nunes da Costa<sup>3</sup>  
José Wellington dos Santos<sup>3</sup>

O Brasil é o maior produtor mundial de sisal, com 70% da produção absorvida pelo mercado norte-americano, na forma natural ou através de manufaturados, como o Baler Twine.

O sisal, ou agave, é um vegetal polivalente, porém tem sido aproveitado somente como fibra (MOREIRA et al., 1996). Sua importância é fundamental para a agricultura nordestina, por se tratar de uma planta que se adapta às condições de clima e solo das regiões semi-áridas da Bahia e Paraíba, onde são poucas as vantagens para o cultivo de outras plantas e animais.

Tem-se verificado declínio da lavoura sisaleira no Brasil nesses últimos anos, desde a redução na área colhida até a baixa produção da cultura, tornando uma preocupação da Embrapa Algodão no sentido de soerguê-la.

Neste sentido, existe preocupação com o desenvolvimento de cultivares e, com este fim, a criação de um Banco de Germoplasma.

Coleções de germoplasma têm sido mantidas em instituições diversas, com responsabilidades de:

1. garantir a sua diversidade genética;
2. multiplicá-las;
3. distribuí-las aos usuários e
4. promover a sua caracterização por diferentes metodologias (VIEIRA, 2000).

A propagação mais utilizada na cultura do sisal é a vegetativa por conservar as características genéticas e pelo fato das plantas se desenvolverem mais rapidamente e serem

<sup>1</sup>Eng. agrôn., D. Sc., da Embrapa Algodão, Rua Osvaldo Cruz, 1143 - Centenário, CEP 58107-720, Campina Grande, PB. E-mail: julita@cnpa.embrapa.br

<sup>2</sup>Bióloga, Estagiária da Embrapa Algodão

<sup>3</sup>Eng. agrôn., M.Sc. da Embrapa Algodão, E-mail: jnunes@cnpa.embrapa.br

<sup>3</sup>Eng. agrôn., M.Sc. da Embrapa Algodão, E-mail: jwsantos@cnpa.embrapa.br

vigorosas (BINH et al., 1990); no entanto, no trabalho de melhoramento genético, é necessário a reprodução por sementes para que haja segregações entre as plantas filhas (ORONÓZ et al., 1983).

Assim, o presente trabalho teve como objetivo definir o melhor protocolo de germinação *in vitro* de sementes do Banco de Germoplasma de sisal da Embrapa Algodão, visto que essa técnica pode auxiliar no melhoramento genético e na engenharia genética na obtenção de plântulas livres de microrganismos.

Avaliou-se um protocolo adequado para indução da germinação *in vitro* dos acessos do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de sisal, introduzidos da Inglaterra no ano 2000, BAG de Kew Garden, tais como:

1. *Agave parryi* var. *huachucensis* (93778);
2. *Agave palmeri* Engelm (93192);
3. *Agave neomexicana* (93398);
4. *Agave lecheguilla* Torrey (93239);
5. *Agave neomexicana* 93387 e
6. *Agave sisalana* (Embrapa-Algodão)

Os acessos do BAG de sisal em estudo foram desinfestados em solução de água sanitária, a 40% por 20 minutos e, em seguidas, enxaguadas três vezes, em água bidestilada estéril (CARVALHO, 2000).

Então, cada acesso foi dividido em dois grupo, um pré-embebido em água destilada estéril e o outro em uma solução de ácido giberélico, na concentração de 1g/L, por 24 horas: Decorrido este período, cada grupo foi subdividido em dois outros grupos, dos quais um com sementes inteiras e o outro com sementes quebradas com um bisturi, na câmara de fluxo laminar, para serem semeadas em meio de cultivo.

As sementes, ainda na câmara de fluxo laminar, foram transferidas para meio básico MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962) sem reguladores

de crescimento, acrescido de 3% (m/v) de sacarose e 0,55% de ágar. Foram então mantidas a  $25 \pm 2$  °C, com fotoperíodo de 16h luz e intensidade luminosa de  $30 \text{ m mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ .

Foram utilizados 15 tubos de ensaio por tratamen, com uma semente por tubo. Após 3, 6 e 9 dias de cultivo, avaliou-se o número de sementes com desenvolvimento radicular.

Utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado, no arranjo fatorial 6x2x2x3 (6 acessos, 2 tipos de pré-tratamento, 2 tipos de semente e 3 períodos de avaliação), com 15 repetições por tratamento. Os dados foram analisados mediante o procedimento "General Liner Model (GLM)" do "SAS", (2000) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Na Tabela 1 apresenta-se o resumo da análise de variância para as variáveis acesso, tipo de semente, pré-tratamento e período de avaliação, observando-se efeito significativo para o acesso, tipo de semente e período de avaliação utilizados e para as interações entre acesso com tipo de pré-tratamento e acesso com período de avaliação. Essas interações significativas indicam comportamento diferencial dos acessos em diferentes tipos de semente e em variados períodos de avaliação, indicando que os efeitos acesso com tipo de semente e acesso com período de avaliação, não são independentes, uma vez que as respostas do acesso podem diferir com o tipo de semente e com o período de avaliação.

Na Tabela 2 tem-se o resultado do desdobramento da interação significativa entre acesso e tipo de pré-tratamento, observando-se superioridade dos acessos 93778, 93192, 93398, 93239 e 93387 apresentaram maior de sementes germinadas, independente do tipo de pré-tratamento utilizado. Isolando-se o efeito pré-tratamento, verificou-se que, de modo geral, quando as sementes foram embebidas em solução de GA3 ocorreu maior número de sementes germinadas que quando as sementes foram embebidas somente em água.

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância referente à variável número de sementes germinadas.

Fonte de Variação	GL	Quadrados Médios <sup>1</sup>
Acesso	5	0,117 <sup>**</sup>
Tipo de semente	1	0,138 <sup>*</sup>
Tipo de pré-tratamento	1	0,057 <sup>ns</sup>
Período de avaliação	2	1,322 <sup>**</sup>
Acesso x tipo de semente	5	0,034 <sup>ns</sup>
Acesso x pré-tratamento	5	0,047 <sup>*</sup>
Acesso x período de avaliação	10	0,048 <sup>*</sup>
Tipo de semente x pré-tratamento	1	0,0005 <sup>ns</sup>
Tipo de semente x período de avaliação	2	0,046 <sup>ns</sup>
Tipo pré-tratamento x período de avaliação	2	0,0148 <sup>ns</sup>
Acesso x tipo de semente x tipo pré-tratamento	5	0,0291 <sup>ns</sup>
Acesso x tipo de semente x período de avaliação	10	0,0114 <sup>ns</sup>
Tipo de semente x tipo de pré-tratamento x avaliação	2	0,0062 <sup>ns</sup>
Acesso x tipo de semente x tipo de pré-tratamento x avaliação	20	0,0110 <sup>ns</sup>
Erro	288	0,0202
CV% = 10,77		

<sup>1</sup>Dados transformados em  $\sqrt{x+1}$  ;<sup>\*\*</sup> Significativo (P < 0,01), <sup>\*</sup> Significativo (P < 0,05) pelo teste F;<sup>ns</sup> não significativo (P > 0,05).**Tabela 2.** Número médio sementes germinadas, de acordo com acessos e pré-tratamento utilizados.

Acesso	Pré-tratamentos <sup>1</sup>	
	Sementes embebidas em água	Sementes embebidas em GA3
93778	1,30abA	1,30abA
93192	1,29bA	1,34abA
93998	1,28bA	1,25 bA
93239	1,40aA	1,36aA
93387	1,33abA	1,40aA
<b>Embrapa</b>	1,25bB	1,34abA

<sup>1</sup> Dados transformados em  $\sqrt{x+1}$  ;

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, pelo teste de tukey a 5% de probabilidade.

Na Tabela 3 encontra-se o resultado do desdobramento da interação significativa entre acesso e período de avaliação, observando-se superioridade dos acessos 93778, 93239 e 93387 no número de sementes germinadas no período de avaliação após três dias de cultivo, verificando-se que esses acesso têm maior vigor; entretanto, nos períodos de avaliação com seis e nove dias após a semeadura, todos os acessos germinaram. Isolando-se o efeito período de

avaliação, verificou-se, quando as sementes foram avaliadas com três, e nove dias maior número de sementes germinadas, constatando-se que as sementes de sisal cultivado *in vitro* germinam após seis dias de semeadas.

## Conclusões

Os acessos do banco de germoplasma de sisal podem ser regenerados *in vitro* facilmente.

**Tabela 3.** Valores médios dos fatores acessos e período de avaliação referentes à variável número de sementes germinadas.

Acesso	Períodos de avaliação		
	3 dias após cultivo	6 dias após cultivo	9 dias após cultivo
93778	1,30aB	1,40aAB	1,41aA
93192	1,19abB	1,37aA	1,39aA
93398	1,10bB	1,31aA	1,37aA
93239	1,31aB	1,41aA	1,41aA
93387	1,31aA	1,39aA	1,39aA
<b>Embrapa</b>	1,19abB	1,35aA	1,35aA

<sup>1</sup> Dados transformados em  $\sqrt{x+1}$  ;

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, pelo teste de tukey a 5% de probabilidade.

A embebição das sementes de sisal em água por 24 horas é suficiente para induzir a germinação *in vitro* .

O período de germinação *in vitro* das sementes de sisal é de seis dia.

## Referências Bibliográficas

BINH, L.T.; MUOI, L.T.; OANH, H.T.K.; THANG, T.D.; PHONG, D.T. Rapid propagation of agave by *in vitro* tissue culture. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, v.23, p. 67-70, 1990.

CARVALHO, J.M.F.C.; MORAES, A M. de.; ANDRADE, W.F. de; NÓBREGA, M.B. de M.; SANTOS, J.W.dos. **Melhoria da germinação das sementes de mamoneira (*Ricinus communis* L.) *in vitro*, através da quebra de dormência e desinfestação**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2000. 7p. (Embrapa Algodão. Comunicado Técnico, 125).

MOREIRA, J.de A N.; SILVA, O R.R.R.; NETO, M. da S. A.; BELTRÃO, N.E. de M.; VALE, L.V.; SANTOS, R. F. dos. **Declínio do sisal e medidas**

**para seu soerguimento no Nordeste Brasileiro**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 1996. 19p. (Embrapa Algodão. Documento, 45.)

MUÑIZ, J.F.V.; BECERRIL, J.M.C. **Práticas de mejora vegetal**. [S.l.: s.n.], 1996.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco culture. **Physiologia Plantarum**, v.15. p. 473-497, 1962.

ORONÓZ, M. R.; ROARO, D. N.; RODRÍGUEZ, I. L. **Tratado elemental de Botánica**. México : Científica Latino Americano Larios, 1983.

SAS/STAT User's Guide. In: **SAS INSTITUTE. SAS Online Doc**: version. Cary, 2000. CD ROM.

TOWILL, L.E. Germplasm preservation. IN: TRIGIANO, R.N.; GRAY, D.J. ed. **Plant tissue culture concepts and laboratory exercises**. Boca Raton: CRC Press, 2000. p.337-353.

VIEIRA, M.L.C. Conservação de germoplasma *in vitro*. **Biotecnologia Ciência & Tecnologia**, n.14, p.18-20, 2000.

### Comunicado Técnico, 169

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na: Embrapa Algodão  
Rua Osvaldo Cruz, 1143 Centenário, CP 174  
58107-720 Campina Grande, PB  
Fone: (0XX) 83 3315 4300  
Fax (0XX) 83 3315 4367  
e-mail algodão@cnpa.embrapa.br  
1ª Edição  
Tiragem: 1.000



### Comitê de Publicações

Presidente: Alderi Emidio de Araújo  
Secretária Executiva: Nivia M.S. Gomes  
Membros: Demóstenes M.P. de Azevedo  
José Welington dos Santos  
Lúcia Helena A. Araújo  
Márcia Barreto de Medeiros  
Maria Auxiliadora Lemos Barros  
Maria José da Silva e Luz  
Napoleão Esberard de M. Beltrão  
Rosa Maria Mendes Freire

### Expedientes:

Supervisor Editorial: Nivia M.S. Gomes  
Revisão de Texto: Nisia Luciano Leão  
Tratamento das ilustrações: Maria do Socorro A. de Sousa  
Editoração Eletrônica: Maria do Socorro A. de Sousa