

107

**Circular
Técnica**

Campina Grande, PB
Setembro, 2007

Autores

Julita Maria Frota Chaga Carvalho

Eng. agrôn., Dra da Embrapa
Algodão, Rua Osvaldo Cruz, 1143,
Centenário, CEP 58107-720 Campina
Grande, PB, E-mail:
julita@cnpa.embrapa.br

Morganna Pollyne Nóbrega Pinheiro

Universidade Estadual da Paraíba,
Avenida das Baraúnas 351 -
Bodogongó Cep: 58100-753,
Campina Grande - Paraíba
morgannapollynne@yahoo.com.br

Dione Márcia de Souza Silva

Bióloga, Assistente da Embrapa
Algodão, E-mail:
dione@cnpa.embrapa.br

Otimização da Multiplicação de Bulbo de Sisal *In Vitro*



O sisal, originado da América Central, onde se encontrava a maior diversidade de espécies na zona de transição árida e semi-árida do México Central, se expande atualmente em muitos países como: Bolívia, Equador, Colômbia, Panamá, Peru, Venezuela, Itália, Espanha e Brasil, este, o maior produtor mundial da fibra de sisal, cuja exportação chegou a representar, para o País, receita superior a 100 milhões de dólares e 77,1% da população mundial (BARROS et al., 1999). A exploração brasileira

do sisal está concentrada no Nordeste, onde os principais produtores são os estados da Paraíba e Bahia, com produção anual de cerca de 140.000 toneladas, geralmente em áreas de pequenos produtores, cujas condições de clima e solo são pouco favoráveis, com escassa ou nenhuma alternativa para a exploração de outras culturas que ofereçam resultados econômicos satisfatórios. Apesar de tal importância, o que se observa é que a cultura é explorada com baixo índice de modernização e capitalização, fato que originou, nos últimos anos, um acentuado declínio, tanto da área plantada como da produção. (SILVA et al., 1999).

O sisal, ou agave, é um vegetal versátil. A maioria das espécies de Agave é de grande significância econômica em virtude da qualidade de sua fibra; utiliza-se principalmente a fibra das folhas que, após o beneficiamento, é destinada majoritariamente à indústria de cordoaria (cordas, cordéis, tapetes, etc), e também por possuir diferentes saponinas esteroidais, compostos muito utilizados na indústria farmacêutica (VARGAS et al., 1996); além disso, surgem novos usos do sisal destacando-se principalmente os compostos na indústria automotiva, móveis, eletrodomésticos e na construção civil.

A micropropagação *in vitro* tem importância fundamental na obtenção de um grande número de plantas saudáveis e puras em curto período de tempo (POWERS, 1988).

Com base na significância social desta cultura é que se objetivou, com o presente trabalho, definir um protocolo mais eficiente e econômico de multiplicação de sisal *in vitro* utilizando-se como explantes os bulbilhos,

visto que esta técnica pode auxiliar no melhoramento genético e na biotecnologia para obtenção de plântulas livres de microrganismos; plantas com alta produção de fibras; fibras de boa qualidade; plantas rústicas e tipos que facilitem a colheita e sua industrialização.

A Embrapa Algodão tem trabalhado no desenvolvimento de clones de sisal mais produtivos com novos sistemas de produção e no controle da doença do apodrecimento do caule do sisal.

Obtenção de Planta Matriz

Utilizaram-se como explante os bulbos das plantas de sisal do gênero *Agave*, espécie *A. sisalana* desenvolvidas na Embrapa Algodão. No laboratório de cultivo de tecidos os bulbos foram desfolhados, deixando-se apenas a gema apical, depois de desinfestados com NaOCl a 1%, durante quinze minutos, foram lavados três vezes em água bidestilada estéril; posteriormente, e ainda na câmara de fluxo laminar, os bulbos foram transferidos para o meio básico MS (MURASHIGE e SKOOG, 1962), suplemento com sacarose a 3%, ágar a 0,55% e com as seguintes combinações de 6 benzilaminopurina (BAP) e ácido naftalenoacético (ANA): 0,0 mg/l de BAP + 0,0 mg/l de ANA + 10% de água de coco; 0,5 mg/l de BAP + 0,25 mg/l de ANA e 10% de água de coco. A cultura foi incubada no escuro por 72 horas e mantida oito semanas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 16h de luz e intensidade luminosa de $30 \mu\text{mol. m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Indução de múltiplos brotos

Os explantes estudados neste trabalho constavam de plântulas originadas de gemas apicais com oito semanas de cultivo em meio MS básico suplementado com 0,5 mg/l de BAP + 0,25 mg/l de ANA e 10% de água de coco. Na câmara de fluxo laminar com auxílio de instrumentos cirúrgicos esterilizados, os bulbos foram inoculados em frascos contendo 25 ml de meio MS básico sem regulador de crescimento e meio MS suplementação com 1,5 mg/L de BAP, designado de MSBap; utilizaram-se 10 frascos para o tratamento, cada um com um bulbo; o delineamento foi inteiramente casualizado, com 10 repetições que foram mantidas durante oito semanas, a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, com fotoperíodo de 16h de luz e intensidade luminosa de $30 \mu\text{mol. m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Após a avaliação, os brotos foram separados e inoculados em meio básico MS, sem reguladores de crescimento, e mantidos por oito semanas para que se conseguisse seu enraizamento, em seguida estes foram aclimatados (Figura 1.B) e transferidos para a casa-de-vegetação, a fim de completar o seu ciclo de desenvolvimento.

Os resultados da indução de superbrotamento a partir de bulbos de sisal em meio MS suplementado com 1,5 mg/L de BAP, estão representados na Figura 1A e na Figura 2, observando-se efeito significativo quando a este meio de cultivo foi adicionada a citocinina, enquanto que no meio sem regulador de crescimento, apenas 10% de água de coco, lhe foram adicionados e não se observou a formação de brotos.

Moore et al. (1992) recomendam a utilização de meio MS suplementado com 2 mg/L de BAP para a micropropagação do abacaxizeiro *in vitro*. Kiss et al. (1995) constataram que a utilização de BAP no meio de cultivo aumentou o número de brotos de abacaxizeiro cultivados *in vitro*.

Carvalho et al. (2004) induziram a multiplicação de brotos de sisal na combinação dos reguladores de crescimento BAP e ANA mais água de coco e verificaram comportamento diferente em relação ao número de brotos induzidos entre as espécies *Agave lechuguila* e *Agave palmieri*.

Vários reguladores de crescimento têm sido testados para iniciação e manutenção das plântulas no meio de cultivo, especialmente combinações de auxina/citocinina (MOORE et al., 1992); entretanto, para a multiplicação do sisal *in vitro* a citocinina BAP se

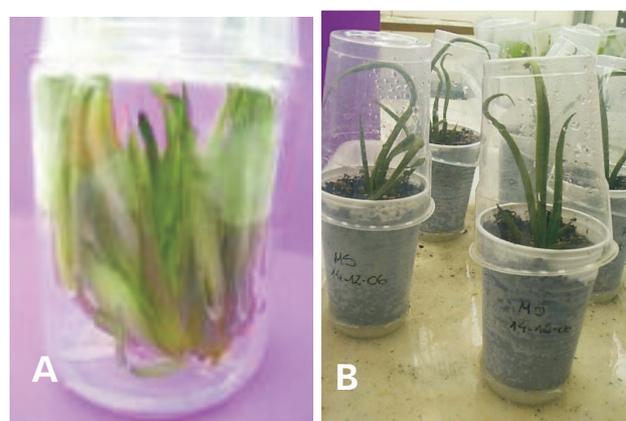


Fig. 1. A- Brots originados do tratamento MSBap (1,5 mg/l de BAP); B- Plantas em processo de aclimação (turfa + vermiculita).

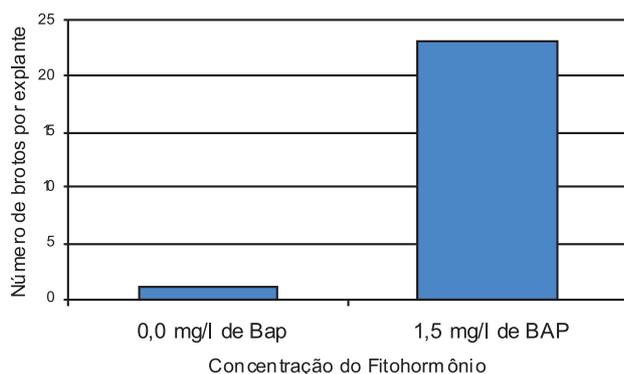


Fig. 2. Resposta da multiplicação de brotos à aplicação do BAP

mostrou bastante eficiente na concentração utilizada; este regulador de crescimento tem a função de estimular a divisão celular e, em concentrações elevadas, induz a formação de brotos adventícios inibindo a formação de raízes.

O número de estudos já realizados demonstra grande avanço na biotecnologia vegetal, visto que, uma vez determinado o meio adequado para cada cultivar, se tornam mais fáceis os trabalhos a serem realizados visando à transgenia, ou mesmo ao melhoramento genético, pois a partir de um explante se obtém várias plantas geneticamente idênticas, resultando em uma área menor de cultivo, com menores gastos e maior número de plantas a serem testadas, de muita valia no ramo do agronegócio.

Verificou-se, através do presente estudo, grande vantagem de se empregar a citocinina 6 benzilaminopurina (BAP) na multiplicação da cultura do sisal *in vitro*.

Referências Bibliográficas

BARROS, M. A. L. CARVALHO, O. S.; SILVA, O. R. R. F. da. Importância econômica e situação da cultura do sisal. In SILVA, O. R. R. F. da; BELTRÃO, N. E. de M. (Eds.). **O agronegócio do sisal no Brasil**.

Brasília: Embrapa - SPI; Campina Grande: Embrapa - CNPA, 1999. p. 13-24.

CARVALHO, J. M. F. C.; GISELLI, C.; JOAQUIM, N. C. da; VIDAL, M. S.; SANTOS, J. W. dos. Indução de superbrotamento em gemas de espécies do gênero *Agave* *in vitro*. **Revista Brasileira de Óleo e Fibra**, v. 8, p. 871-875, 2004.

DAS, T. Micro propagation of *Agave sisalana*. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**. 1992. v. 31, p. 253-255.

KISS, E.; KISS, J.; GYULA, L.; HESZKY, L. E. A novel method for rapid micropropagation of pineapple. **Hort Science**, Alexandria, v. 30, n.1, p. 127-129, 1995.

MOORE, G. A.; DEWALD, M. G.; EVANS, M. H. Micro propagation of pineapple (*Ananas comosus* L.). In: BAJAJ, Y. P. S. (Ed.). **Biotechnology in Agriculture and Forestry**. Springer-Verlag: New York, 1992. v. 18, p. 461-470.

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

POWERS, D.; RALPH, Y. B. *In vitro* propagation of *Agave froncroydes* Lem (Henequen). **Plant Cell Tissue and Organ Culture**. v.16, p. 57-60, 1988.

SILVA, O. R. R. F. da; BELTRÃO, N. E. de M. (Eds.). **O agronegócio do sisal no Brasil**. Brasília: Embrapa-SPI; Campina Grande: Embrapa-CNPA, 1999. p. 205.

VARGAS, T. E.; GARCIA, E. Propagação clonal massiva de *Agave sisalana* (sisal) clonal mass propagatin of *Agave sisalana* (sisal). **Acta Biológico Venez.** v.16, n.3, p. 34-44, 1996.

Circular Técnica, 107

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

1ª Edição
Tiragem: 500

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento



Comitê de Publicações

Presidente: Nair Helena Castro Arriel
Secretária Executiva: Nivia M.S. Gomes
Membros: Demóstenes Marcos Pedroza de Azevêdo
Everaldo Paulo de Medeiros
Fábio Aquino de Albuquerque
Francisco das Chagas Vidal Neto
João Luiz da Silva Filho
José Wellington dos Santos
Luiz Paulo de Carvalho
Nelson Dias Suassuna

Expedientes: Supervisor Editorial: Nivia M.S. Gomes
Revisão de Texto: Nisia Luciano Leão
Tratamento das ilustrações: Geraldo F. de S. Filho
Editoração Eletrônica: Geraldo F. de S. Filho