

DESIDRATAÇÃO, ENCAPSULAMENTO E ULTRA-CONGELAMENTO EM GEMAS AXILARES DE MANDIOCA

LÍVIA DE JESUS VIEIRA¹, JOSÉ RANIERE FERREIRA DE SANTANA², ALFREDO AUGUSTO ALVES CUNHA³, MÔNICA LANZONI ROSSI⁴ e FERNANDA VIDIGAL DUARTE SOUZA³.

¹ Aluna de doutorado Biotecnologia - Universidade Estadual de Feira de Santana, Avenida Transnordestina, S/N, 44036-900, Feira de Santana, BA Brasil. E-mail: liviabiol@gmail.com

² Professor da Universidade Estadual de Feira de Santana, Avenida Transnordestina, S/N, 44036-900, Feira de Santana, BA Brasil. jose.ranieri@gmail.com

³ Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, Rua da Embrapa, S/N, 44380-000, Cruz das Almas, BA, Brasil. fernanda@cnpmf.embrapa.br, alfredoalves3@gmail.com

⁴ Analista do Centro de Energia Nuclear na Agricultura- CENA/USP, Piracicaba, SP, Brasil. monicalr@cena.usp.br

A criopreservação é definida como a conservação de material biológico em nitrogênio líquido por longos períodos de tempo. Entretanto, a utilização rotineira desta técnica para a preservação da biodiversidade vegetal ainda é limitada já que a sobrevivência e a regeneração de material criopreservado dependem de numerosos fatores tais como o tamanho e estágio de desenvolvimento do material, desidratação, congelamento, descongelamento e regeneração. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da desidratação, encapsulamento e do ultra-congelamento sobre a integridade celular de gemas axilares da variedade Piriquita mandioca mediante o uso de imagens geradas em microscopia eletrônica de varredura. As gemas foram desidratadas em câmara de fluxo laminar durante 20 minutos e encapsuladas em gel de alginato de sódio 3%. O ultracongelamento foi realizado pela imersão das gemas em nitrogênio líquido por uma hora, seguido do cultivo das mesmas em meio 4E por 12 dias. Após este período as gemas foram colocadas em tubos *ependorf* contendo solução fixadora de Karnovsky. As amostras foram desidratadas em série etílica crescente (35%, 50%, 60%, 75%, 85%, 95% e 100%). A secagem das amostras foi realizada ao ponto crítico utilizando CO₂ líquido. Em seguida, foram depositadas diretamente sobre suportes metálicos (STUBS), metalizadas com ouro e observadas ao microscópio eletrônico de varredura Zeiss LEO 435 VP, e as imagens foram digitalizadas. Foram avaliados nove tratamentos distintos: 1. Gema lateral sem encapsular, sem desidratar e sem congelamento. 2. Gema lateral sem encapsular e desidratada. 3. Gema lateral, sem pré-cultivo, sem encapsular, desidratada e armazenada em nitrogênio líquido. 4. Gema lateral encapsulada sem pré-cultivo, sem desidratar e sem congelamento.

5. Gema lateral encapsulada sem pré-cultivo e desidratada. 6. Gema lateral encapsulada sem pré-cultivo, desidratada e armazenada em nitrogênio líquido. 7. Gema lateral encapsulada após oito dias de pré-cultivo, sem desidratar e sem congelamento. 8. Gema lateral encapsulada após oito dias de pré-cultivo e desidratada. 9. Gema lateral encapsulada após oito dias de pré-cultivo, desidratada e armazenada em nitrogênio líquido. As eletrofotografias mostraram que a desidratação e o encapsulamento não provocaram mudanças nas estruturas celulares das gemas axilares. Os resultados observados mostraram que o pré-cultivo das gemas antes do encapsulamento confere maior resistência celular. Já o ultra-congelamento, independente dos pré-tratamentos provocou alterações e rupturas nas células, deixando evidente a necessidade de ensaios com soluções crioprotetoras. Estes resultados subsidiarão os trabalhos a serem realizados com criopreservação de germoplasma do gênero *Manihot*.

Agradecimentos: Os autores agradecem à fundação de Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão da bolsa de doutorado concedida a LJV.