

Crioterapia em variedades silvestres do gênero *Ananas*

Patrícia Araújo Guerra¹, Neylane Passos Muniz¹, Fernanda Vidigal Duarte Souza²

¹Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Cruz das Almas, patiguerr@hotmail.com, nanepm@gmail.com; ²Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, fernanda.souza@embrapa.com

Procedimentos para a remoção do complexo viral *Pineapple Mealybug Wilt-Associated Virus* (PMWaV) em abacaxi vêm sendo estabelecidos como forma de resgatar plantas livres de contaminação em germoplasma de abacaxi. O cultivo de ápices caulinares é uma dessas estratégias e vem apresentando resultados promissores para muitos acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Abacaxi (BAG), ainda que essa eficiência não seja a mesma para todos os materiais. Assim, a necessidade de uma estratégia complementar vem sendo demandada para aumentar a eficiência da remoção do complexo viral no germoplasma conservado. Neste contexto, a técnica de crioterapia deve ser considerada como alternativa. Esta técnica se baseia no congelamento de tecidos meristemáticos em tamanhos muito reduzidos. O objetivo deste trabalho foi estabelecer um protocolo de crioterapia a fim de tornar mais eficiente a remoção do complexo viral PMWaV em plantas de abacaxi silvestre para posterior incorporação no BAG *in vitro*. Ápices caulinares de dois acessos [*A. comosus* var. *comosus* (BGA-009) e *A. comosus* var. *bracteatus* (BGA-119)] com dimensões aproximadas de 0,5 mm foram extraídos de plantas *in vitro* e cultivados em placas de Petri contendo meio de pré-cultivo (MS + 0,3 M de sacarose) por 48 horas. Após esse período, os ápices foram transferidos para lâminas de alumínio contendo gotas de solução de vitrificação (PVS2) e tratados por 30, 45 e 60 min de exposição. Para o congelamento, as lâminas contendo os ápices foram colocadas em criotubos e imersas em nitrogênio líquido por 24 horas. Para o descongelamento, os ápices foram colocados em solução de lavagem (MS + 1 M de sacarose) por 20 minutos antes de serem inoculados no meio de regeneração (MS + sacarose 30 g L⁻¹ + BAP 0,5 mg L⁻¹). A detecção do complexo viral foi e deve ser realizada por RT-PCR antes e depois do procedimento de congelamento para confirmar a presença e posterior remoção do vírus nos tecidos. Foram utilizados 70 ápices caulinares de cada acesso para a realização do experimento, considerando 10 ápices para cada etapa, incluindo os controles relativos a cada tempo de exposição e pré-cultivo. Para a variedade *A. comosus* var. *comosus* (BGA-009), a taxa de sobrevivência dos ápices caulinares que não foram submetidos ao procedimento de congelamento (controles) foi de 100%, enquanto que para os ápices que passaram pela solução de vitrificação (PVS2) em 30, 45 e 60 min e imersos em nitrogênio líquido por 24 h, as taxas de regeneração foram de 60%, 90% e 40%, respectivamente. Para a variedade *A. comosus* var. *bracteatus* (BGA-119) o controle também apresentou 100% de sobrevivência e regeneração enquanto nos tratamentos 30, 45 e 60 minutos de exposição ao PVS2 e congelamento em nitrogênio líquido, as taxas foram de 40%, 70% e 60%, respectivamente. Esses resultados são considerados promissores para a crioterapia, já que a sobrevivência do material é a premissa básica para o resgate da planta livre do vírus. As plantas de ambos os acessos que sobreviveram ao congelamento estão em meio de crescimento até que tenham massa verde suficiente para se proceder à indexação e confirmar a remoção ou não do complexo viral.

Significado e impacto do trabalho: Grande parte da coleção mantida em campo de abacaxi vem sendo afetada por um vírus associado à cochonilha (PMWaV). Para a limpeza destas plantas podem ser utilizadas várias estratégias, em separado ou de forma complementar. Este trabalho buscou ajustar o uso da crioterapia para complementar o cultivo de ápices caulinares na limpeza do vírus em plantas de abacaxi para incorporação das plantas sadias ao BAG *in vitro*.