

Adequação de protocolo de criopreservação de germoplasma de *Musa* spp. por vitrificação em gotas

Adinael Santos Silva¹; Pedro Cesar Gonçalves de Jesus Santos¹; Fernanda Vidigal Duarte Souza²; Janay Almeida dos Santos-Serejo².

¹Estudante de Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, adinael_10@hotmail.com, cesargoncalves995@gmail.com

²Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura, janay.serejo@embrapa.br, fernanda.souza@embrapa.br

O Banco de Germoplasma de Banana (BGB) mantido em condições de campo na Embrapa Mandioca e Fruticultura possui cerca de 369 acessos. A manutenção de acessos em campo está sujeita a perda de diversidade genética devido a perdas causadas por condições ambientais adversas. Uma cópia de segurança do BGB está sendo estabelecida *in vitro*, sob condições de crescimento mínimo. Entretanto, esta técnica é laboriosa, pois, a depender do acesso, tem-se necessidade de vários subcultivos anualmente, além do risco de contaminação por fungos e bactérias. Uma alternativa para a conservação de germoplasma por longos períodos de forma segura é a criopreservação, realizada a temperaturas ultrabaixas em nitrogênio líquido. Na criopreservação o metabolismo das células é quase totalmente paralisado e o risco de contaminação por microrganismos é extremamente baixo. Uma vez que a resposta ao congelamento em nitrogênio líquido varia entre genótipos, são necessários ajustes que permitam a conservação de diferentes acessos do banco de germoplasma. Assim, o presente estudo teve por objetivo adequar um protocolo para a criopreservação de acessos do banco de germoplasma de banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Foram utilizados os acessos diploides de *Musa acuminata* BGB046 (Sowmuk) e BGB048 (Tjau Lagada) para testar a técnica de criopreservação de ápice caulinar em bananeiras. As plantas foram cultivadas *in vitro* por 30 dias antes da retirada dos ápices caulinares para uso nos seguintes tratamentos para criopreservação pela técnica de vitrificação em gotas (*droplet vitrification*): 1) controle geral – excisão dos ápices caulinares e cultivo *in vitro*; 2) imersão em solução de osmoproteção durante 5 horas, lavagem por 15 minutos e cultivo *in vitro*; 3) imersão em solução de osmoproteção durante 5 horas, seguida de imersão em PVS2 (*plant vitrification solution 2*) por 45 minutos, lavagem por 15 minutos e cultivo *in vitro*; 4) imersão em solução de osmoproteção durante 5 horas, seguida de imersão em PVS2 por 45 minutos, congelamento em nitrogênio líquido por 24 horas, descongelamento rápido em solução de lavagem por 15 minutos e cultivo *in vitro*. Cada tratamento foi composto por 10 ápices caulinares. Os ápices caulinares foram cultivados em meio de cultura MS, em sala de crescimento, mantidos no escuro por 5 dias e em seguida transferidos para condições de luminosidade, com luz de LED. Foram avaliadas a sobrevivência e regeneração. A regeneração de plantas no controle do acesso BGB048 foi de 100% enquanto que o BGB046 apresentou oxidação e regenerou 90%. A osmoproteção em solução com alta concentração de sacarose mostrou ter um efeito de toxicidade nos ápices caulinares, pois, embora os ápices caulinares tenham permanecido intactos, não houve nenhum desenvolvimento. Como consequência, após o congelamento dos ápices em nitrogênio líquido, após a osmoproteção, não foi observada nenhuma regeneração de plantas. São necessários novos estudos para adequar o processo de osmoproteção dos ápices caulinares de bananeira de forma eficiente, a fim de permitir a regeneração de plantas.

Significado e impacto do trabalho: A criopreservação de ápice caulinar a temperaturas ultrabaixas (-196°C), em nitrogênio líquido permite a conservação de tecidos vegetais por longos períodos de forma segura e com um custo reduzido, sem a necessidade de subcultivos, além de diminuir os riscos de contaminação por bactérias e/ou fungos aos acessos. O presente estudo busca adequar condições de criopreservação para o estabelecimento de uma cópia de segurança do banco de germoplasma de banana.