IX ENEPEX/ XIII EPEX-UEMS E XVII ENEPE-UFMG

EFEITO DA VITRIFICAÇÃO E CRIOPRESERVAÇÃO EM NITROGÊNIO LÍQUIDO NA REGENERAÇÃO DE CALOS DE SCHOMBURGKIA CRISPA LINDL.

Mariana Chaves Candido (maryana_chaves@hotmail.com)

Jônatas Bonato Asato (jbonatoasato@gmail.com)

Claudia Roberta Damiani (claudiadamiani@ufgd.edu.br)

A criopreservação é uma opção eficaz para a conservação a longo prazo de recursos genéticos vegetais. A criopreservação envolve a aplicação de um ou mais compostos, que permitem à célula tolerar as mudanças físicas e químicas que ocorrem durante o congelamento e descongelamento. Durante o congelamento ocorrem danos celulares que inviabilizam o processo de regeneração, devido ao rompimento do protoplasto pela formação de cristais de gelo, seguido da morte celular. Visando aprimorar técnicas de cultivo in vitro, bem como a conservação de germoplasma por criopreservação, este projeto foi executado com o objetivo de avaliar a capacidade regenerativa de calos produzidos in vitro da orquídea nativa e ameaçada de extinção em alguns Estados brasileiros, *Schomburgkia crispa* Lindl. após tratamento com solução de vitrificação (PVS2) e congelamento em nitrogênio líquido – NL (-196°C) por diferentes períodos de criopreservação. Os tratamentos consistiram no efeito de diferentes períodos de congelamento em nitrogênio líquido (0 – 1h, 4, 8, 16 e 32 dias) de calos tratados com solução de vitrificação PVS2 - Plant Vitrification Solution 2 a 0°C por 10 min e pré-resfriamento em etanol à -20 °C por 40 min, sendo então avaliado a capacidade de regeneração pós vitrificação e congelamento sendo os tratamentos controle, calos que não passaram por nenhum tratamento (vitrificação/congelamento) e calos tratados somente com a solução de vitrificação, porém sem congelamento em NL, totalizando 7 tratamentos. Para cada tratamento foram realizadas cinco repetições, sendo

IX ENEPEX/ XIII EPEX-UEMS E XVII ENEPE-UFGD

cada repetição constituída de um tubo criogênico com capacidade de 2,0 mL e contendo várias massas de calo. Como meio de regeneração utilizou-se o WPM (Wood Plant Medium) formulado com 1,0 g L-1 de carvão ativo e sem adição de regulador de crescimento. Os frascos de cultivo foram mantidos no escuro em sala de crescimento, com temperatura controlada de 25 ± 2 °C. Aos 110 dias de cultivo realizou-se a avaliação da sobrevivência dos calos (coloração verde – calos clorofilados), regeneração (multiplicação das massas de calos) e desenvolvimento de brotações. Calos de *S. crispa* tratados com solução de vitrificação PVS2 e criopreservados por diferentes períodos, não apresentaram capacidade regenerativa, de multiplicação, de desenvolvimento de pigmentos fotossintetizantes e de emissão de brotações em comparação com os calos não tratados, neste caso, clorofilados, com alta multiplicação e emissão de brotos. Calos tratados somente com a solução de vitrificação e que não foram submetidos ao congelamento apresentaram efeitos inibitórios semelhantes aos vitrificados e criopreservados. Conclui-se que a perda da capacidade regenerativa dos calos de *S. crispa* pode estar correlacionada ao efeito tóxico dos compostos químicos da solução de vitrificação, como exemplo o dimetilsulfoxido (DMSO) e o etilenoglicol, bem como o rompimento dos protoplastos durante o congelamento, pois, calos que não passaram pelo processo de vitrificação apresentaram capacidade de regeneração.