



## PRÉ-CONDICIONAMENTO DE ACESSOS DE *SACCHARUM* PARA CRIOPRESERVAÇÃO

Ana da Silva Léo<sup>1\*</sup>; Maria Jenderek<sup>2</sup>; Elise Staats<sup>2</sup>; Dianne Skogerboe<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Tabuleiros Costeiros; <sup>2</sup>USDA-ARS. \*E-mail do autor apresentador: ana.ledo@embrapa.br

A criopreservação é importante técnica de conservação de germoplasma, devido à possibilidade de manutenção de recursos genéticos por longo prazo. No complexo *Saccharum* observa-se uma alta variação nas respostas em função do genótipo. O objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência do pré-condicionamento de culturas *in vitro* de dois acessos à duas condições de incubação na sobrevivência de meristemas apicais antes e após a vitrificação. Culturas dos acessos PI 184794 (*S. officinarum*) e PI 29109 (*S. sinensis*), mantidas em sala de crescimento foram transferidas por 15 dias para BOD sob duas condições de incubação, C1: 16 hs 22 °C/8 hs 5 °C e C2: 16 hs 20 °C/ 8 hs -1 °C. Após o pré-condicionamento, brotações foram reduzidas a 0,5-0,8 mm e mantidas em meio de uniformização por três dias. Meristemas apicais foram excisados e transferidos para meio de pré-cultivo MS com 0,625 M de sacarose por 24 horas em sala de crescimento com 27±2 °C/ 16 hs de fotoperíodo (50 mol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>). Em seguida, sob superfície de gelo os meristemas foram transferidos para solução PVS2 por 30 minutos em gotas com 5-8 µL da solução/meristema em tiras de alumínio estéreis (10 meristemas/tira de alumínio). Após essa etapa, as tiras de alumínio foram acondicionadas em criotubos e inseridos em nitrogênio líquido -196°C por 24 hs. Os meristemas foram descongelados em solução MS + 1,2 M de sacarose por 30 minutos a temperatura ambiente e inoculados em meio de recuperação MS + 0,1 mg.L<sup>-1</sup> de BAP + 20 g.L<sup>-1</sup> de sacarose + 3 g.L<sup>-1</sup> de carvão ativado + 1,25 g.L<sup>-1</sup> de Gelrite, na ausência de luz. Foram avaliadas a porcentagem de sobrevivência e de regeneração no controle 1 (após excisão), controle 2 (após pré-condicionamento + PVS2) e após a permanência por 24 horas em nitrogênio líquido -196 °C (LN+). Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância. Não houve diferença entre os acessos para o controle 1 (após excisão), a porcentagem de sobrevivência e de regeneração, em média para os acessos, foi de 100 % e 80 %, respectivamente. Houve diferença significativa entre as condições de incubação na sobrevivência após o controle 2 (pré-condicionamento + PVS2, LN-). As culturas mantidas em BOD ajustadas nas condições C1 apresentaram maior sobrevivência (75%) quando comparada com C2 (55%) aos cinco dias após a inoculação no meio de recuperação. Entretanto, não houve regeneração dos meristemas no meio de recuperação. O pré-condicionamento por 15 dias em 12 hs a 5 °C + 12 hs a 22 °C, apresenta potencial para aplicação em protocolos de vitrificação. Ajuste no meio de recuperação deverá ser alvo de pesquisa para regeneração de ápices caulinares.

**Palavras-chave:** Conservação; Cana-de-açúcar; PVS2.

**Agradecimentos:** USDA-ARS, Embrapa.