

156 - DILUIÇÃO CELULAR, CARACTERÍSTICAS DO MEIO DE CULTURA E BIORREATORES DE IMERSÃO TEMPORÁRIA NA DIFERENCIAÇÃO E REGENERAÇÃO DE CÉLULAS EM SUSPENSÃO DE BANANEIRA

TATIANE ROSA MONTEIRO¹, ZANDERLUCE GOMES LUIS², ELÍNEA DE OLIVEIRA FREITAS³, KAZUMITSU MATSUMOTO⁴, JONNY EVERSON SCHERWINSKI-PEREIRA⁴

Resumo: Altos custos de produção geralmente limitam o uso comercial da micropropagação. O uso de meios de cultura líquidos é considerado uma solução para a automação e redução de custos. Entretanto, dependendo da variedade, esse processo pode mostrar diferentes níveis de dificuldade, e adaptações nos protocolos são necessárias. Neste estudo, experimentos de diferenciação celular e regeneração de plantas foram desenvolvidos em células, em suspensão de banana, pela avaliação da densidade inicial de células, meios de cultura e sistemas de imersão temporária. Para tanto, uma sequência de três experimentos foi realizada: o primeiro avaliou os efeitos da densidade celular (0,5; 1 e 2 ml), meios de cultura (M1: 1/2MS, 100 mg.L⁻¹ de ácido ascórbico, 100 mg.L⁻¹ de L-prolina, 30 g.L⁻¹ de sacarose e 10 µM de 2iP; M2: MS, 30 g.L⁻¹ de sacarose, 2,2 µM de BAP e 11,4 µM de AIA) e períodos de diferenciação celular (40 e 130 dias). O segundo experimento analisou o efeito do tamanho dos propágulos diferenciados em meio líquido (aprox. 2,5; 5 e 10 mm em diâmetro), na formação de embriões somáticos ou regeneração de plantas. Finalmente, um terceiro experimento, avaliou o efeito de sistemas de cultivo com papel-filtro cobrindo o meio de cultura semissólido e os sistemas de imersão temporários na diferenciação dos propágulos e regeneração de plantas. Não foram observadas diferenças significativas entre os meios de diferenciação, e a melhor densidade de células para a diferenciação foi de 1 e 2 mL/30mL de meio de cultura, enquanto diluições de 2 mL/30 mL de meio aumentaram a oxidação celular. A extensão do período de diferenciação de 40 para 130 dias foi importante para produzir maior número de propágulos uniformes e com pelo menos 10 mm de diâmetro, que puderam ser usados em sistemas de imersão temporária (bioreatores) para a diferenciação de embriões somáticos e regeneração de plantas. Considerando todos os sistemas de regeneração, verificou-se que o uso de meios de regeneração de consistência semissólida com papel-filtro na superfície do meio são os mais responsivos para a diferenciação de embriões somáticos e regeneração de plantas.

Termos para indexação: *Musa* spp., cultura de células, diluição celular, embriogênese somática, micropropagação.

Summary: High production costs generally limit the commercial use of the *in vitro* micropropagation. The use of liquid media is considered to be the ideal solution for the automation and the production costs reduction. However, depending on the variety, this process can show different levels of difficulty and adaptations in protocols are needed. In this study experiments on cell differentiation and plant regeneration were carried out from banana cell suspension culture, by evaluating the initial cell density, the culture media and the temporary immersion systems. A sequence of three experiments was performed: the first one evaluated the effects of cell density (0.5; 1 and 2), culture media (M1: 1/2MS, 100 g.L⁻¹ ascorbic acid, 100 mg.L⁻¹ L-proline, 30 g.L⁻¹ sucrose and 10 µM 2iP; M2: MS, 30 g.L⁻¹ sucrose, 2,2 µM BA and 11,4 µM IAA) and the period of cells differentiation (40 and 130 days). The second one analyzed the effect of propagules size differentiated in liquid media (approx. 2.5; 5 and 10 mm diameter) on somatic embryo formation or plant regeneration. Finally, a third experiment analyzed the effects of culture systems with filter-

^{1,2}Biólogas, Pós-Graduandas em Botânica - Universidade de Brasília - Instituto de Biologia, Câmpus Universitário Darcy Ribeiro, CEP 70910-900 – Brasília-DF; tatianemonteiro1@gmail.com; zanbio@hotmail.com

³Bióloga, estagiária da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF; elineaofreitas@yahoo.com.br

⁴Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Av. W5 Norte (final), CEP 70770-917 – Brasília-DF; jonny@cenargen.embrapa.br.

paper-covered medium and temporary immersion systems, on propagules differentiation or plant regeneration. The results showed that no differences were found between both differentiation media, and the better cells densities for differentiation were 1 ml and 2 mL/30 mL medium, whereas dilutions of 2 mL/30 mL medium increased cell oxidation. Extending the period in the differentiation medium from 40 to 130 days was important to produce a higher number of uniform embryogenic propagules with 10 mm diameter, which can be used in temporary immersion systems (bioreactors) for embryo and plant regeneration. Considering all the regeneration systems, the semi-solid regeneration medium covered by filter-paper significantly increased the somatic embryo differentiation and plants regeneration.

Key Words: *Musa* spp., cell culture, cellular dilution, somatic embryogenesis, micropropagation.