

CRIOPRESERVAÇÃO DE SUSPENSÃO CELULAR DE BANANEIRA POR CONGELAMENTO LENTO

Janay Almeida dos Santos Serejo¹; Lucymeire Souza Morais Lino¹; Fernanda Vidigal Duarte Souza¹

¹Embrapa Mandioca e Fruticultura. *E-mail do autor apresentador: janay.serejo@embrapa.br.

A obtenção de suspensões celulares embriogênicas (SCE) de bananeira a partir de calos embriogênicos é um processo lento e laborioso. Uma vez obtidas, as SCE são mantidas com subcultivos semanais, o que demanda cuidados para evitar contaminações e perda da qualidade e viabilidade das células. A criopreservação é uma estratégia que permite a conservação de SCE de qualidade por longos períodos. Entre as técnicas de criopreservação, o congelamento lento é uma técnica utilizada com sucesso para suspensões celulares. Durante o congelamento lento, as soluções extracelulares são nucleadas e as células são criodesidratadas durante o resfriamento controlado, como consequência do gelo extracelular, até o ponto em que seus fluidos intracelulares vitrificarão quando transferidas para nitrogênio líquido. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a resposta à criopreservação por congelamento lento de suspensão celular da cultivar bananeira Prata Anã. A SCE na fase de crescimento exponencial, ou seja, 7 dias após o último subcultivo, foi diluída para concentração de 30% de volume celular estabilizado em meio de pré-cultivo ($\frac{1}{2}$ MS, 5 μ M 2,4-D, 1 μ M zeatina, 10 mg.L⁻¹ ácido ascórbico, 180 g.L⁻¹ de sacarose. pH 5.8). Em seguida um volume igual de meio contendo sacarose 180 g/l + 15% de dimetilsulfóxido (DMSO) foi gradualmente transferido para a suspensão celular. Assim, a solução crioprotetora final continha 7,5% de DMSO e 180 g.L⁻¹ de sacarose. Após 30 minutos os criotubos contendo as SCE em solução crioprotetora foram transferidos para o recipiente de congelamento "Mr Frosty", colocados dentro de um freezer a -80°C e a temperatura monitorada até atingir -40°C. Em seguida os criotubos foram submersos em nitrogênio líquido por 30 minutos e depois rapidamente descongelados em um Becker contendo água estéril a 40°C por 2 minutos. Amostras foram retiradas em cada etapa para teste de viabilidade com diacetato de fluoresceína (FDA) e cultivo em meio líquido. O teste de viabilidade mostrou que as SCE permaneceram viáveis em todas as etapas do processo. O cultivo em meio líquido das SCE, após o congelamento em nitrogênio líquido, permitiu a obtenção de culturas de células embriogênicas de excelente qualidade, indicando que o congelamento lento é uma técnica eficiente para criopreservação de suspensões celulares de bananeira impactando positivamente na redução de tempo laboral e custo de manutenção.

Palavras-chave: *Musa* sp.; germoplasma; conservação.