

## **CRIOPRESERVAÇÃO DE ÁPICES DE BATATA (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) 'BRS CLARA' POR ENCAPSULAMENTO-VITRIFICAÇÃO**

Daniele de Souza Masiero<sup>1</sup>; Daiane Peixoto Vargas<sup>2</sup>; Liana Viviam Ferreira<sup>3</sup>; Rafaela Silva Formoso<sup>4</sup>; Juliana Hey Coradin<sup>5</sup>; Leonardo Ferreira Dutra<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Biotecnologista, mestranda no PPG em Fisiologia Vegetal, UFPel, Pelotas, RS, Brasil, dsmasiero@gmail.com.

<sup>2</sup> Bióloga, Pós doutoranda CNPQ/Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil, dvbio@hotmail.com.

<sup>3</sup> Bióloga, Doutoranda em Fisiologia Vegetal, UFPel, Pelotas, RS, Brasil, lianavferreira@gmail.com.

<sup>4</sup> Biotecnologista, mestranda no PPG em Fisiologia Vegetal, UFPel, Pelotas, RS, Brasil, rafaelasformoso@gmail.com

<sup>5</sup> Eng. de Bioprocessos e Biotecnologia, Analista Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil, juliana.coradin@embrapa.br

<sup>6</sup> Eng. Agrônomo, Doutor, pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil, leonardo.dutra@embrapa.br

Uma das técnicas de protocolos de criopreservação de batata é o encapsulamento-vitrificação, no qual as cápsulas que contém os explantes são submetidas a tratamento com solução de vitrificação de plantas (PVS2). No entanto, esta apresenta certa toxicidade aos explantes, havendo necessidade de testes para cada espécie e/ou cultivar. O presente trabalho objetivou estabelecer um protocolo para conservação de germoplasma via encapsulamento-vitrificação de ápices de batata 'BRS Clara', testando tempos de exposição ao PVS2 antes do congelamento por vitrificação. O material vegetal foi proveniente da 'BRS Clara', pré-cultivada in vitro em meio nutritivo MS durante 26 dias em incubadora B.O.D., com fotoperíodo de 16 horas a 4°C ± 2°C. Deste foram excisados ápices em condições assépticas e transferidos para pré-tratamento durante 39 horas em meio de cultura MS com metade da concentração de sais, acrescido de 0,3 M de sacarose. Para o encapsulamento os ápices foram submetidos à solução de alginato de sódio 5% (p/v) formando unidades individualmente resgatadas e gotejadas em solução de Cloreto de Cálcio (0,1M), na qual permaneceram por 30 minutos para complexação. Após lavagem em água esterilizada as cápsulas foram expostas a solução de crioproteção 0,8 M sacarose, juntamente com 2 M de glicerol e então submetidas a 6 tratamentos: cápsulas inoculadas diretamente em meio de recultivo MS, cápsulas congeladas sem a presença de PVS2, cápsulas imersas em PVS2 em criotubo de 2 mL e passadas diretamente para o nitrogênio líquido e cápsulas submetidas a 20, 30 e 40 minutos a solução de PVS2 antes da vitrificação. O congelamento foi realizado em nitrogênio líquido durante 1 hora, as cápsulas foram submetidas à solução contendo 1M de sacarose e transferidas para o meio de recultivo MS durante cinco dias em ausência de luminosidade a 24°C. Finalmente, foram submetidas à fotoperíodo de 16 h. A maior porcentagem de sobrevivência (100%) foi observada nas cápsulas em que o congelamento foi imediatamente após a imersão em PVS2, não diferindo significativamente do tratamento em que houve imersão dos explantes por 20 minutos antes do congelamento em nitrogênio líquido (97,33%) e do controle, no qual as cápsulas não passaram por vitrificação (92%). Todos os explantes do tratamento controle rebrotaram após duas semanas, evidenciando que o protocolo de encapsulamento foi satisfatório. A menor média (48%) foi obtida no tratamento em que as cápsulas foram submetidas a congelamento sem uso de PVS2 e não diferiu estatisticamente do tratamento onde as cápsulas foram imersas por 40 minutos pré-congelamento (52%). Já a imersão em PVS2 por 30 minutos diferiu dos demais, proporcionando 73% de sobrevivência.

Agradecimentos: A Embrapa, UFPel. CAPES e CNPq pelo apoio financeiro e concessão de bolsa.