INTEGRIDADE CELULAR E GENÉTICA DE ÁPICES CAULINARES DE EUCALIPTOS CRIOPRESERVADOS POR DROPLET-VITRIFICATION

Chaiane Fernandes Vaz [1]

Marlucia Souza Padua [2]

Leonardo Zebral [3]

Luciano Vilella Paiva [4]

Resumo:

A conservação de genótipos potencialmente importantes é um critério essencial para o melhoramento florestal. Entre as técnicas disponíveis, a criopreservação tem se destacado como a mais promissora, permitindo o armazenamento em longo prazo de células e tecidos vegetais. No entanto, durante o processo, os explantes são submetidos a tensões fisiológicas, físicas e químicas que podem causar criolesões nos tecidos, promovendo danos e perda de viabilidade. Os efeitos da criolesão sobre o genoma da planta podem acarretar variações somaclonais, apresentando diferenças distintas nos seus perfis de genótipo e fenótipo, devido a alterações na estabilidade genética destas. Desta forma, é de suma importância avaliações da integridade celular e genética durante o processo de criopreservação e da regeneração do explante in vitro. O objetivo do trabalho foi realizar análise ultraestrutural e genética de ápices caulinares de Eucalyptus grandis X Eucalyptus urophylla criopreservados por meio da técnica droplet-vitrification. Ápices caulinares foram pré-cultivados em meio MS suplementado com sacarose a 0,2 M e 0,5 M por 24 horas cada. Posteriormente, foram dispostos em papel alumínio contendo uma gota de PVS2 à 0ºC por 60 minutos e imersos em nitrogênio líquido (NL). O reaquecimento ocorreu por 10 minutos em solução de descarregamento a 25ºC. Os ápices caulinares recém excisados, os submetidos à criopreservação e após uma semana de recuperação foram observados no Microscópio Eletrônico de Varredura LEO Evo 40. O conteúdo relativo de DNA foi avaliado em plantas in vitro de eucalipto não criopreservadas (controle total), expostas ao PVS2 sem posterior imersão em nitrogênio líquida (NL-) e criopreservadas (NL+) por citometria de fluxo. Os ápices caulinares que não foram submetidos ao crioprotetor nem expostos à baixa temperatura se mostraram intactos e túrgidos. Os ápices expostos ao PVS2 por 60 min apresentaram algumas células com menor turgidez, porém após a recuperação as células apresentaram-se túrgidas e intactas. O conteúdo estimado de DNA nuclear das plantas de eucalipto em ambos os tratamentos (NL- e NL+), não apresentaram diferenças estatísticas. As amostras do controle total apresentaram valores menores de coeficiente de variação, o que garante maior confiabilidade na estimativa do DNA das plantas submetidas a este tratamento. Tais resultados demonstram que a exposição por 60 min ao crioprotetor juntamente com a técnica droplet-vitrification

possibilitam uma desidratação, osmoproteção e integridade ideal dos ápices de eucalipto preservando as estruturas necessárias à sua regeneração.

Palavras-chave: Citometria de Fluxo, Criolesão, Microscopia Eletrônica

Modalidade de Participação: Pós-Graduação

INTEGRIDADE CELULAR E GENÉTICA DE ÁPICES CAULINARES DE EUCALIPTOS CRIOPRESERVADOS POR DROPLET-VITRIFICATION

[1] Aluno de pós-graduação. chachavaz.cv@gmail.com. Autor principal

[2] Pós-Doutoranda em Ciências Farmacêuticas. marluciabio@yahoo.com.br. Co-autor

[3] Pós Doutorandos em Biotecnologia Vegetal, Universidade Federal de Lavras, Lavras, Brasil/MG. leonardozebral@yahoo.com.br. Co-autor

[4] Outro. luciano@dqui.ufla.br. Orientador

INTEGRIDADE CELULAR E GENÉTICA DE ÁPICES CAULINARES DE EUCALIPTOS CRIOPRESERVADOS POR *DROPLET-VITRIFICATION*

A conservação de genótipos potencialmente importantes é um critério essencial para o melhoramento florestal. Entre as técnicas disponíveis, a criopreservação tem se destacado como a mais promissora, permitindo o armazenamento em longo prazo de células e tecidos vegetais. No entanto, durante o processo, os explantes são submetidos a tensões fisiológicas, físicas e químicas que podem causar criolesões nos tecidos, promovendo danos e perda de viabilidade. Os efeitos da criolesão sobre o genoma da planta podem acarretar variações somaclonais, apresentando diferenças distintas nos seus perfis de genótipo e fenótipo, devido a alterações na estabilidade genética destas. Desta forma, é de suma importância avaliações da integridade celular e genética durante o processo de criopreservação e da regeneração do explante *in vitro*. O objetivo do trabalho foi realizar análise ultraestrutural e genética de ápices caulinares de *Eucalyptus grandis X Eucalyptus urophylla* criopreservados por meio da técnica *droplet-vitrification*. Ápices caulinares foram pré-cultivados em meio MS suplementado com sacarose a 0,2 M e 0,5 M por 24 horas cada. Posteriormente, foram dispostos em papel alumínio contendo uma gota de PVS2 à 0ºC por 60 minutos e imersos em nitrogênio líquido (NL). O reaquecimento ocorreu por 10 minutos em solução de descarregamento a 25ºC. Os ápices caulinares recém excisados, os submetidos à criopreservação e após uma semana de recuperação foram observados no Microscópio Eletrônico de Varredura LEO Evo 40. O conteúdo relativo de DNA foi avaliado em plantas *in vitro* de eucalipto não criopreservadas (controle total), expostas ao PVS2 sem posterior imersão em nitrogênio líquida (NL-) e criopreservadas (NL+) por citometria de fluxo. Os ápices caulinares que não foram submetidos ao crioprotetor nem expostos à baixa temperatura se mostraram intactos e túrgidos. Os ápices expostos ao PVS2 por 60 min apresentaram algumas células com menor turgidez, porém após a recuperação as células apresentaram-se túrgidas e intactas. O conteúdo estimado de DNA nuclear das plantas de eucalipto em ambos os tratamentos (NL- e NL+), não apresentaram diferenças estatísticas. As amostras do controle total apresentaram valores menores de coeficiente de variação, o que garante maior confiabilidade na estimativa do DNA das plantas submetidas a este tratamento. Tais resultados demonstram que a exposição por 60 min ao crioprotetor juntamente com a técnica *droplet-vitrification* possibilitam uma desidratação, osmoproteção e integridade ideal dos ápices de eucalipto preservando as estruturas necessárias à sua regeneração.

Agradecimentos: FAPEMIG, CAPES, CNPq.