

Resumo

FERREIRA, Liana Viviam. **Conservação in vitro de morangueiro via crescimento lento e criopreservação**. 2017. 143f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

A conservação in vitro proporciona opções de armazenamento a curto e médio prazo mediante a redução do metabolismo da planta (chamado crescimento lento) ou a longo prazo pela inibição das reações metabólicas (chamado criopreservação) ao qual, ambos aumentam ao máximo o intervalo entre os subcultivos, evitando a variação somaclonal, como ocorre no morangueiro após sucessivos subcultivos. Neste contexto, avaliou-se o efeito de diferentes reguladores osmóticos, temperaturas, tipos de explante e períodos de avaliação na conservação in vitro de morangueiro 'Benícia' via crescimento lento e a adaptação de protocolos de criopreservação por diferentes métodos em diferentes cultivares. Foram utilizados explantes oriundos de plantas de morangueiro 'Benícia' pré-estabelecidos in vitro e mantidos em meio MS de multiplicação. O meio usado nos experimentos foi o MS básico suplementado com 20g L⁻¹ ou 40g L⁻¹ de manitol ou sorbitol. No tratamento controle não houve adição de regulador osmótico. Dois tipos de explantes foram inoculados nos meios: explante somente com a parte aérea formada (PA) e planta inteira (PI), mantidos por 6 meses a 24±2°C em sala de crescimento e 12 meses em B.O.D com temperatura de 4±2°C, ambos com fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 45-55µmol m⁻² s⁻¹. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x2x5 (meio de cultura, tipo de explante e períodos de avaliação), com três repetições de 10 explantes, totalizando 30 explantes por tratamento. Parâmetros de crescimento, bioquímicos e fisiológicos foram avaliados. De acordo com os resultados obtidos pode-se concluir que a temperatura de 4°C, a planta inteira e o uso do sorbitol proporcionam redução do crescimento de explantes de morangueiro 'Benícia' durante 12 meses de conservação in vitro sem afetar os parâmetros de crescimento, fisiológicos e bioquímicos da espécie. Em todos os protocolos testados de criopreservação as gemas de morangueiro não sobreviveram ao nitrogênio líquido, porém foi significativa a temperatura de 4°C durante o período de pré-aclimação por 2-8 semanas. A solução de sacarose a 0,75M ocasionou maior taxa de sobrevivência. Os tempos de dessecação não foram eficientes e o uso da prolina aumentou a tolerância das gemas a dessecação.

Palavras-chave: *Fragaria X ananassa* Duch.; redução do crescimento; baixa temperatura; nitrogênio líquido.

Abstract

FERREIRA, Liana Viviam. **In vitro conservation of strawberry via slow growth and cryopreservation.** 2017. 143f. Thesis (Doctoral in Plant Physiology) – Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

In vitro conservation provides short and medium term storage options by reducing plant metabolism (called slow growth) or long-term inhibition of metabolic reactions (called cryopreservation), both of which maximize the interval between subcultures, avoiding the somaclonal variation, as occurs in the strawberry after successive subcultures. In this context, the effect of different osmotic regulators, temperatures, explant types and evaluation periods on the in vitro conservation of 'Benicia' strawberry by slow growth and the adaptation of cryopreservation protocols by different methods in different cultivars were evaluated. Explants from 'Benicia' strawberry plants were used in vitro and maintained in MS medium of multiplication. The medium used in the experiments was the basic MS supplemented with 20g L⁻¹ or 40g L⁻¹ of mannitol or sorbitol. In the control treatment there was no addition of osmotic regulator. Two types of explants were inoculated in the media: explant only with aerial part (PA) and whole plant (PI), maintained for 6 months at 24±2°C in growth room and 12 months in BOD with temperature of 4±2°C, both with photoperiod of 16 hours and luminous intensity of 45-55 μmol m⁻² s⁻¹. The experimental design was completely randomized in a 5x2x5 factorial scheme (culture medium, explant type and evaluation periods), with three replicates of 10 explants, totaling 30 explants per treatment. Growth parameters, biochemical and physiological parameters were evaluated. According to the results obtained, it can be concluded that the temperature of 4°C, the whole plant and the use of sorbitol provide a reduction in the growth of 'Benicia' strawberry explants during 12 months of in vitro conservation without affecting growth parameters, physiological and biochemical characteristics of the species. In all tested cryopreservation protocols the strawberry buds did not survive liquid nitrogen, but the temperature of 4°C during the pre-acclimation period for 2-8 weeks was significant. The sucrose solution at 0.75M resulted in a higher survival rate. The desiccation times were not efficient and the use of proline increased the tolerance of the egg yolks.

Keywords: *Fragaria X ananassa* Duch.; growth reduction; low temperature; liquid nitrogen.