

## AVALIAÇÃO DE UM PROTOCOLO PARA A CRIOPRESERVAÇÃO DE CALOS DE CACAU (*Theobroma cacao* L.) VIA *DROPLET VITRIFICATION*

Mila Cristine Almeida Dos Santos<sup>1</sup>; Inaê Mariê de Araújo Silva-Cardoso<sup>2</sup>; Frederico Henrique da Silva Costa<sup>3</sup>; Jonny Everson Scherwinski-Pereira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade de Brasília. <sup>2</sup>Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. <sup>3</sup>Universidade do Acre. \*inaemarie@hotmail.com

A produção global de chocolate é dependente do cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.). Para garantir o aumento no rendimento e qualidade de suas sementes, é vital o desenvolvimento de estratégias de uso e conservação de recursos genéticos da espécie. As sementes de cacauzeiro são recalcitrantes, logo, sua conservação deve ser realizada em coleções em campo ou via criopreservação. Este trabalho objetivou avaliar um protocolo de criopreservação de calos a partir de explantes florais de cacauzeiro via *Droplet Vitrification*. Para tanto, dois tipos de explantes (estaminódios inteiros com calo e somente a parte basal dos estaminódios com calo), oriundos de um genótipo não comercial, foram imersos inicialmente em solução de LS (*Loading Solution*), por 20 min e, posteriormente, em PVS2 (*Plant Vitrification Solution*) resfriada por 40 min. Um controle adicional foi utilizado (sem imersão em soluções crioprotetoras e nitrogênio líquido - NL). Os explantes foram então alocados sobre tiras de papel alumínio em uma gota de PVS2 (20-25  $\mu$ L), as quais foram imersas em NL dentro de criotubos. Após 48 h, os materiais foram descongelados em solução de RS (*Rewarming Solution*) por 20 min. Os explantes foram então cultivados em meio de indução de calos (MIC), com 3 mg/L de 2,4-D, por 21 dias. Em seguida, foram cultivados em meio desenvolvimento de embriões somáticos (MDE), sem regulador de crescimento. Avaliaram-se o recobrimento dos explantes com novos calos (%) e área do explante coberta por calos (%), após 21 dias em MIC, além do número de embriões somáticos (ESs), após 30 dias em MDE. O delineamento foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial (2x2), com 2 tipos de explantes e 2 tratamentos de imersão em NL (com e sem imersão), mais 1 controle adicional. Verificou-se que a imersão em NL promoveu uma redução significativa na formação de calos para ambos os explantes, principalmente para o explante do tipo parte basal com calo (30%). O tratamento sem imersão em soluções crioprotetoras e em NL proporcionou uma maior área de cobertura com calos (87,5%) e ESs foram observados somente nesse último tratamento (25%). Não se verificaram diferenças entre os tipos de explantes quanto à área de cobertura do calo (58,75%) e taxa de formação de ESs (8,35%). Diante do exposto, ajustes nesse protocolo devem ser realizados, especialmente nos tempos de imersão nas soluções crioprotetoras, para garantir a eficiência do processo de criopreservação calos oriundos de explantes florais de cacauzeiro.

**Palavras-chave:** Cacau; conservação; nitrogênio líquido.

**Agradecimentos:** MAPA, UnB, CNPq.