

## INTRODUÇÃO

O Brasil é conhecido por sua produção de cacau de alta qualidade, tendo sido reconhecido como exportador de cacau 100% fino e de aroma em 2019 pela Organização Mundial do Cacau. No entanto, desde a década de 90, o país perdeu sua posição de destaque na produção mundial de cacau, principalmente devido a doenças causadas pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*, que afetam a produção. Para enfrentar esse problema, a embriogênese somática tem sido considerada uma solução viável, permitindo a clonagem de genótipos resistentes ou imunes ao fungo, além de superar desafios associados à propagação tradicional. Este estudo tem como objetivo avaliar o potencial embriogênico de explantes florais da variedade PH16 de cacau, que é de alto valor econômico no Brasil.

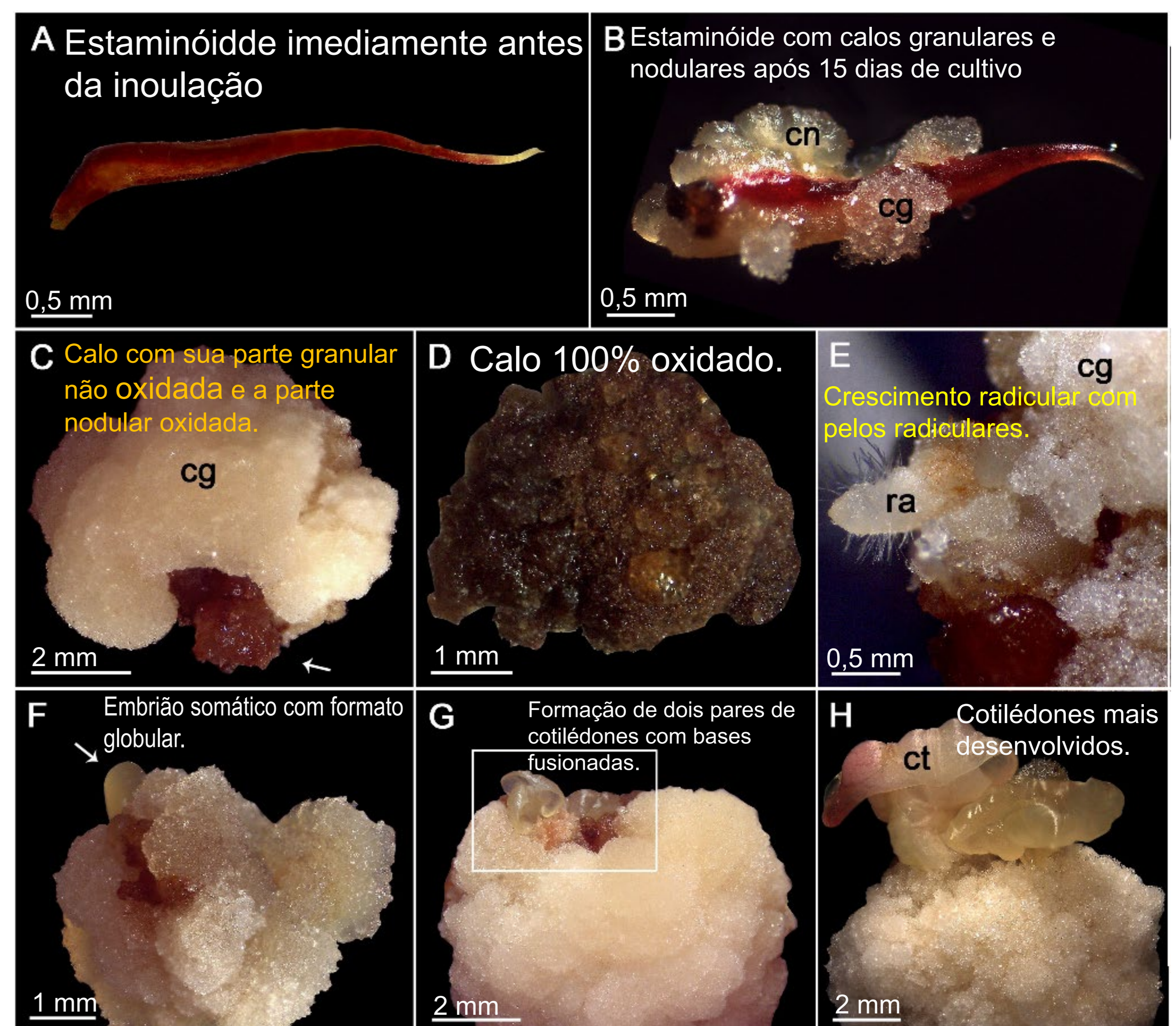
## METODOLOGIA

Foram utilizados como explantes estaminóides oriundos de botões florais ainda não abertos, coletados de plantas matrizes de *cacau*, variedade PH16. Para tanto, inicialmente os botões florais foram coletados e esterilizados em solução de hipoclorito de sódio 4-6% por 3 minutos, seguido de imersão, por 10 minutos, em solução de álcool 70%, e, por fim, tríplice lavagem em água destilada e autoclavada, por 5 minutos. Os cinco estaminóides presentes em cada botão floral foram separados e inoculados em placas de Petri (15 x 90 mm) com o meio de cultura específico, conforme Li et al. (1998). Após 14 dias de indução, os explantes foram transferidos para o meio de indução de calo secundário. Neste meio, os calos permaneceram pelo mesmo período da etapa de indução, até serem transferidos para o último meio, o de desenvolvimento de embriões somáticos por tempo adicional de 4 meses, com subcultivos realizados a cada 14 dias. Foram realizadas avaliações antes das trocas de meio conforme tabela 01.

**Tabela 01.** Avaliação da formação de calos, percentual de oxidação e formação de embriões somáticos a partir de estaminóides de cacau, variedade PH16, após 140 dias de cultivo.

| Avaliação após 140                     | (%)                              |
|--|----------------------------------|
| Formação de calos                      | 94                               |
| Formação de embriões somáticos         | 4                                |
| Taxa de oxidação do explante           | (% da área total do estaminóide) |
| N° de estaminóide com 25% de oxidação  | 59                               |
| N° de estaminóide com 50% de oxidação  | 17                               |
| N° de estaminóide com 75% de oxidação  | 24                               |
| N° de estaminóide com 100% de oxidação | 49                               |

## RESULTADOS E CONCLUSÕES



**Fig. 1** Caracterização da embriogênese somática a partir de estaminóides em cacau, variedade PH16. Abreviações: cn, calo nodular; cg, calo granular; ct, cotilédone; ra, raiz.

Antes da inoculação dos estaminóides, a Figura 1A mostra sua aparência inicial. Após 15 dias no meio de indução de calos, a maioria dos explantes desenvolveu calos granulares e nodulares, principalmente na base, e alguns também no meio e ápice (Figura 1B). Após 40 dias, com 14 dias em meio de desenvolvimento de embriões somáticos, as massas calogênicas aumentaram consideravelmente, apresentando calos semelhantes aos relatados por Garcia et al. (2016), além de uma oxidação mais significativa (Figura 1D) e a formação de embriões somáticos do tipo globular (Figura 1F). Notavelmente, os calos nodulares mostraram maior tendência à oxidação, como visto nas Figuras 1C e 1E.

Aos 50 dias de cultivo, a maioria das placas apresentou calos envolvendo todo o explante, principalmente do tipo granular, mas não houve formação de novos embriões somáticos, apenas organogênese (raízes) ocorreu (Figura 1E). Após 60 dias, não ocorreram mudanças significativas em relação aos tipos de calos e à oxidação, mas novos embriões somáticos em estágio mais avançado, com cotilédones e fusão, foram observados (Figura 1G, H). A avaliação aos 90 dias revelou mais calos com múltiplos embriões fusionados na porção mais oxidada, sugerindo uma possível influência positiva do estresse oxidativo na morfogênese do cacau. No entanto, após 140 dias, embora a taxa de formação de calos fosse alta (94%), a formação de embriões somáticos permaneceu baixa (4%), possivelmente devido às características genéticas ou à inadequação dos meios de cultivo utilizados, baseados no protocolo de Li et al. (1998), para o genótipo em estudo.

A variedade de cacau PH16 apresenta alta formação de calos granulares com baixo potencial embriogênico, resultando em uma taxa de formação de embriões somáticos frequentemente anormal, indicando a necessidade de otimizações futuras no protocolo utilizado.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a oportunidade de trabalhar em um laboratório com bastante recurso, a partir oportunidade concedida pelo Dr. Jonny Everson. E a todos do laboratório de cultura de tecidos da Embrapa, principalmente a Dra. Inaê Mariê de Araújo que me acompanhou e orientou diariamente durante o período do experimento.