

DESENVOLVIMENTO DE TÉCNICA HISTOLÓGICA PARA ESTUDO DE CALOS EMBRIOGÊNICOS DE CUPUAÇUZEIRO

Graziela S. dos S. GUIMARÃES¹, Giselle Costa LIMA², Pamela HARADA³, Regina QUISEN^{3*}

A aplicação de técnicas biotecnológicas na cultura do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*), tal como a propagação *in vitro*, permite grandes avanços nos programas de melhoramento genético desta espécie, principalmente na clonagem de mudas de materiais selecionados. Entretanto, o entendimento do processo morfogênico desta cultura *in vitro* ainda é limitado, principalmente no que diz respeito à compreensão dos estímulos e condições necessárias para a indução e controle das rotas morfogênicas. O desenvolvimento de estudos histológicos de estruturas obtidas via cultura de tecidos podem fornecer informações essenciais para a compreensão da morfogênese *in vitro*, sejam estas rotas de desenvolvimento organogênicas ou embriogênicas. Neste sentido, este trabalho teve como objetivo definir condições para o preparo de lâminas histológicas permanentes de calos embriogênicos de cupuaçuzeiro. Para tal, calos embriogênicos de cupuaçuzeiro mantidos *in vitro* foram submetidos a diferentes condições de técnicas histológicas. Após fixação em FAA50% por 24 ou 48 horas, pequenas porções de calos embriogênicos foram imersos em séries alcoólicas crescentes com etanol/butanol ou etanol/xilol e embebidas em parafina em cassetes para posterior emblocamento ou em recipientes de vidro, sendo neste último caso, acrescida a parafina aquecida aos poucos em solução de butanol/clorofórmio contendo a amostra. Após microtomia, as fitas foram imersas em banhos de xilol ou éter de petróleo, hidratados e a coloração realizada com azul de toluidina ou safranina. A qualidade dos cortes histológicos obtidos foram bastante contrastantes entre si, demonstrando a necessidade de melhoria no processo de infiltração e desparafinização. Ainda assim, observou-se que a impregnação lenta em recipiente de vidro em estufa em parafina aquecida da amostra em solução butanol/clorofórmio permitiu uma melhor infiltração. Também a sequência de banhos em xilol foi superior à utilização de éter de petróleo para estas amostras. A sequência metodológica realizada é a primeira aproximação para cortes histológicos em parafina para estudos de tecidos calogênicos de cupuaçuzeiro, necessitando ainda de maior detalhamento deste processo.

Palavras-chave: *Theobroma grandiflorum*, Lâminas permanentes, Morfogênese *in vitro*, Fruteiras tropicais.

Créditos de financiamento: Agências de fomento FAPEAM e CNPq

¹ Graduanda em Biologia, Bolsista PAIC/FAPEAM. Uninorte, Rua 10 de Julho, 873. Manaus, Amazonas.

² Graduanda em Biologia, Bolsista PIBIC/CNPq. Uninorte, Rua 10 de Julho, 873. Manaus, Amazonas.

³ Embrapa Amazônia Ocidental, Caixa postal 319, CEP 69010-970, Manaus, Amazonas.

*autor para correspondência: regina.quisen@embrapa.br