

## DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE DESCONGELAMENTO DE EMBRIÕES ZIGÓTICOS DE *Coffea arabica* CRIOPRESERVADOS.

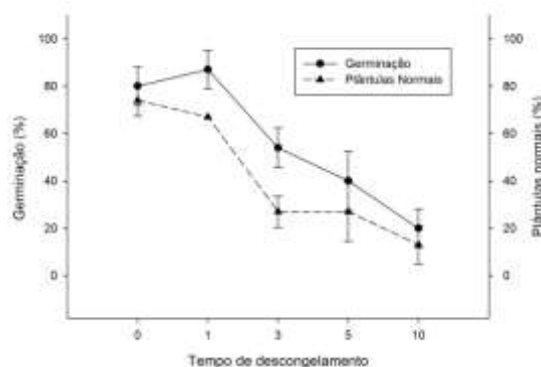
RT Freitas<sup>1</sup>; R Paiva<sup>2</sup>; AC Souza<sup>3</sup>; TS Sales<sup>4</sup>; DPC Silva<sup>5</sup>; MV Reis<sup>5</sup>; SDVF Rosa<sup>6</sup> - <sup>1</sup>Doutorando em Fisiologia e Bioquímica de Plantas ESALQ-USP; <sup>2</sup>Professor Titular Departamento de Biologia/Setor Fisiologia Vegetal-UFLA; <sup>3</sup>Doutoranda em Fitotecnia UFLA; <sup>4</sup>Doutoranda em Produção Vegetal-UFVJM; <sup>5</sup>Pós-doutorado/Setor de Fisiologia Vegetal-UFLA; <sup>6</sup> Pesquisadora Embrapa Café

O Brasil tem o café como um dos principais produtos agrícolas e é considerado mundialmente como o principal produtor e exportador dessa *commodity*. Contudo, a sustentabilidade da cafeicultura depende principalmente da disponibilidade de diversidade genética. Por isso, alternativas biotecnológicas tal como a criopreservação tem sido requerida para a conservação de germoplasma do cafeeiro. Entretanto, o descongelamento após a criopreservação é uma etapa crítica para o restabelecimento dos embriões *in vitro* devido a possibilidade de formação de cristais de gelo durante essa etapa. Neste contexto, objetivou-se testar o tempo de descongelamento de embriões zigóticos de *Coffea arabica* L. cv. Catuaí Vermelho (IAC 144) anteriormente criopreservados por vitrificação.

Para a determinação do tempo de descongelamento os embriões foram descongelados em banho-maria à  $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por diferentes tempos (0, 1, 3 e 5 minutos). O tempo zero (controle) foi descongelado em *Recovery solution* (RS) por 15 minutos em temperatura ambiente. Os demais tratamentos foram descongelados primeiramente em banho-maria e posteriormente imersos por 15 min em RS. Após o descongelamento, os embriões foram mantidos na sala de crescimento no escuro por 3 dias, e na seqüência, foram transferidos para fotoperíodo de 16 horas, temperatura de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e com irradiância de fótons de  $36 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ . Após 30 dias do descongelamento, foi avaliada a porcentagem de sobrevivência dos embriões criopreservados e de seus respectivos controles e a porcentagem de plântulas normais. Foi considerado sobrevivente quando o embrião apresentou tecidos vivos, com visível crescimento, e considerado plântula normal quando tanto os cotilédones quanto o eixo hipocótilo apresentaram crescimento aparente.

### Resultados e conclusões

A porcentagem de germinação e de formação de plântulas normais dos embriões descongelados por 1 min em banho-maria não diferiu estatisticamente dos embriões que foram descongelados diretamente em RS (tempo 0) por 15 minutos em temperatura ambiente ( $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ). Entretanto, ambos diferiram estatisticamente dos demais tempos avaliados (3, 5 e 10 min). Observou-se que com o aumento do tempo em banho-maria houve uma diminuição na porcentagem de germinação e na formação de plântulas normais (Figura 1).



**Figura 1:** Porcentagem de germinação e plântulas normais obtidos de embriões zigóticos criopreservados submetidos a diferentes tempos de descongelamento (0, 1, 3, 5 e 10 min) aos 30 dias de cultivo. As barras representam o erro padrão da média de acordo com o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

A diminuição da porcentagem de germinação bem como a de plântulas normais esta relacionado a exposição desses embriões a alta temperatura em banho-maria após o congelamento por período prolongado, uma vez que a germinação e a formação de plântulas normais diminuiu com o aumento do tempo de descongelamento.

O alto potencial osmótico da solução de RS pode evitar um rápido influxo de água no embrião, diminuindo a possibilidade de danos na célula. Por isso, não havendo diferença estatística no descongelamento em RS e 1 min em banho-maria, o descongelamento pode ser diretamente em RS por 15 min em temperatura ambiente ( $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), pois a RS diminui a possibilidade de toxicidade das células e elimina a necessidade de uso do banho-maria.