
CONSERVAÇÃO DE SEMENTES DE *Coffea arabica* EM BANCOS DE GERMOPLASMA

EIRA, M.T.S.¹; REIS, R.B.¹ e FAZUOLI, L.C.²

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF, <meira@cenargen.embrapa.br>; ²Instituto Agronômico de Campinas, Campinas, SP.

RESUMO: A conservação de sementes de café por longos períodos é dificultada pelo comportamento intermediário no armazenamento. No entanto, estudos recentes relatam que, a partir da combinação de um grau crítico de umidade das sementes para cada temperatura de armazenamento, pode-se prolongar o período de conservação. Neste estudo, sementes de *Coffea arabica* das cultivares Mundo Novo IAC 388-17, Catuaí Vermelho IAC 99 e IAPAR 59 foram armazenadas em câmaras a +5°C e -20°C e em nitrogênio líquido (-196°C) por 90 dias. A viabilidade das sementes das cultivares Mundo Novo e Catuaí Vermelho foi mantida durante o período de testes em todos os ambientes, enquanto para sementes de IAPAR 59 já foi observada perda significativa de viabilidade sob temperaturas de -20°C e -196°C. Os resultados são promissores para a definição do protocolo de conservação das sementes em Bancos de Germoplasma.

Palavras-chave: armazenamento, germinação, viabilidade, banco de germoplasma, criopreservação, *Coffea*.

Coffea arabica SEED CONSERVATION IN GENE BANKS

ABSTRACT: Coffee seeds long term conservation is difficult because of the intermediate storage behavior. Despite of that, in recent studies it was demonstrated that the longevity can be increased with a perfect combination of seed water content and storage temperature. In this study, seeds of *Coffea arabica* cultivars Mundo Novo IAC 388-17, Catuaí Vermelho IAC 99 and IAPAR 59 were stored at +5°C, -20°C and -196°C (liquid nitrogen) for 90 days. Viability was maintained in seeds of cultivars Mundo Novo and Catuaí Vermelho, while germination percentage was lost by seeds of cultivar IAPAR 59 stored at -20°C and in liquid nitrogen. The results are important to the definition of a protocol for the storage of coffee seeds in genebanks.

Key words : storage, germination, viability, genetic resources, genebank, cryopreservation, *Coffea*.

INTRODUÇÃO

O café é considerado um dos mais importantes produtos agrícolas no mercado internacional e muitos países estão envolvidos na sua produção, consumo e comercialização. Existem, descritas atualmente, cerca de cem espécies do gênero *Coffea* (Fazuoli, 1986), mas apenas duas são cultivadas: *Coffea arabica* e *Coffea canephora*. Aproximadamente 70% do café comercializado mundialmente é do tipo arábica e os demais são de café robusta (*C. canephora*). O café produzido no Brasil é em sua maior parte arábica.

O objetivo principal de se conservar sementes de plantas de valor econômico é a manutenção de estoques para o plantio no ano seguinte. O homem aprendeu a necessidade dessa prática e desenvolveu métodos para armazenar pequenas quantidades de sementes para o futuro. Com o desenvolvimento da agricultura, os conhecimentos foram se expandindo tanto com relação às condições de armazenamento quanto às variações ambientais que influem na qualidade da semente armazenada. Já numa fase posterior, o agricultor começou a dar maior importância à manutenção de sementes vivas por períodos mais prolongados, já que em alguns casos era vantajoso conservá-las por dois anos ou mais, diminuindo assim as chances de perdas em anos de baixa produção. Outro objetivo de conservar sementes veio posteriormente, com o aumento do conhecimento em genética e melhoramento de plantas. Passou a ser necessária a conservação por longos períodos de pequenas quantidades de diversos materiais possuidores de uma carga genética especial e que pudessem ser utilizados em futuros trabalhos de melhoramento. Para atender essas necessidades foram criados os Bancos de Germoplasma, que visam a conservação de fonte genéticas para uso futuro em melhoramento e genética de plantas e prevenir e evitar perdas de valiosos recursos genéticos (Ellis et al., 1985).

Para a conservação de sementes a longo prazo é necessário manter a atividade respiratória em níveis baixos, através da redução da temperatura ambiente e do grau de umidade das sementes. Em Bancos de Germoplasma o grau de umidade das sementes é reduzido por equilíbrio em ambiente com baixa umidade relativa. A seguir, as sementes são acondicionadas em embalagens herméticas e armazenadas em temperatura subzero, geralmente -20°C (Cromarty et al., 1985), para conservação a longo prazo, ou a $+5^{\circ}\text{C}$, para conservação por períodos menores. Recentemente, com o avanço da biotecnologia vegetal, a criopreservação passou a ser uma técnica promissora de conservação de germoplasma.

No gênero *Coffea*, as sementes apresentam comportamento intermediário entre ortodoxo e recalcitrante, e os estudos de armazenamento desenvolvidos até o momento não viabilizam a conservação

das sementes por longo prazo. No entanto, Eira et al. (1999a) sugerem que o armazenamento é possível desde que as sementes estejam com grau de umidade apropriado para a conservação sob a temperatura desejada. Assim, o nível crítico de água para a conservação de sementes de *C. arabica* a +5°C seria de 0,10g H₂O/ g massa da matéria seca, 0,12 g/g a -20°C e 0,20 g/g em criopreservação (-196°C, em nitrogênio líquido). Dussert et al. (1997, 1998) também demonstraram que sementes de *Coffea* com graus semelhantes de umidade toleram a criopreservação.

O objetivo deste estudo foi monitorar a viabilidade das sementes armazenadas sob temperaturas de +5°C, -20°C e -196°C para o estabelecimento de protocolos que permitam a conservação de sementes a longo prazo em Bancos de Germoplasma.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas sementes de duas cultivares de *Coffea arabica*, Mundo Novo IAC 388-17 e Catuaí Vermelho IAC 99, procedentes do Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas-SP, e IAPAR 59, do IAPAR-Pr, derivada do cruzamento de *C. arabica* x *C. canephora*.

O grau de umidade ideal para armazenamento das sementes em cada ambiente (Eira et al., 1999a) foi ajustado sobre soluções de cloreto de magnésio (umidade relativa=33%), nitrato de cálcio (UR=56%) e cloreto de sódio (UR=75,5%) a 15°C, de acordo com protocolo sugerido por Vertucci & Roos (1993). As soluções foram escolhidas a partir das isotermas determinadas para a espécie por Eira et al. (1999b).

A seguir, as sementes foram embaladas hermeticamente em sacos trifoliados de papel-alumínio-polietileno e armazenadas em câmaras a +5°C e -20°C ou imersas em nitrogênio líquido (-196°C). Amostras foram retiradas após 7, 30 e 90 dias de armazenamento para monitoração da viabilidade das sementes, através de teste de germinação a 25°C, em rolos de papel.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grau de umidade atingido pelas sementes sobre cada solução está relatado na Tabela 1. Observa-se que as sementes atingiram o grau de umidade ideal para armazenamento a +5°C (0,10 g/g), -20°C (0,12 g/g) e -196°C (0,20 g/g).

Tabela 1 – Grau de umidade das sementes de *Coffea arabica* e IAPAR 59 antes e após equilíbrio sobre soluções saturadas

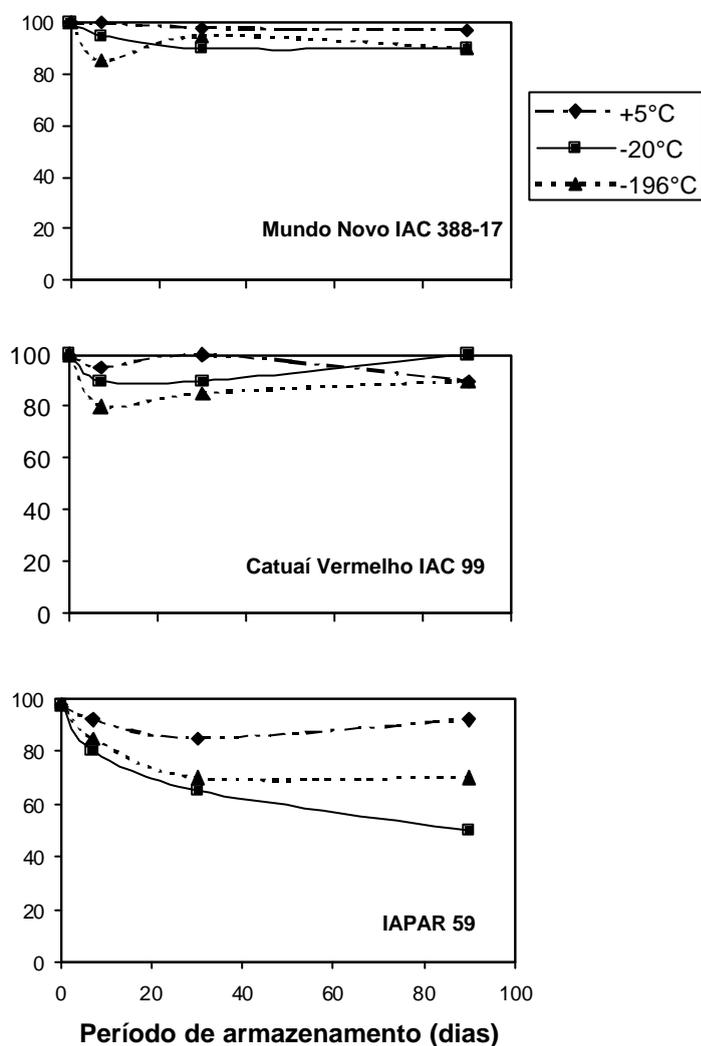
Cultivar	Grau de umidade inicial (g/g)	Grau de umidade final / Solução saturada (g/g)		
		MgCl ₂	Ca(NO ₃) ₂	NaCl
<i>C. arabica</i>				
Mundo Novo IAC 388-17	0,24	0,10	0,12	0,20
Catuai Vermelho IAC 99	0,28	0,11	0,12	0,21
<i>C. arabica</i> x <i>C. canephora</i>				
IAPAR 59	0,20	0,10	0,12	0,20

As sementes apresentaram alta viabilidade inicial, cerca de 100% de germinação, que não foi alterada durante o período de ajuste do grau de umidade. A Figura 1 mostra a percentagem de germinação durante todo o período de testes.

No gênero *Coffea*, as sementes apresentam comportamento intermediário entre ortodoxo e recalcitrante (Ellis et al., 1990, 1991; Eira et al., 1999a). No entanto, não foi observada perda significativa de viabilidade das sementes das cultivares Mundo Novo IAC 388-17 e Catuai Vermelho IAC 99 em qualquer dos ambientes de conservação durante o período de tempo estudado. Já para a cultivar IAPAR 59, observou-se redução do grau de umidade de 98% para 70% após 30 dias de armazenamento em nitrogênio líquido e de 98% para 50% após 90 dias de conservação a -20°C . A explicação para esse fato está relacionada à origem da cultivar IAPAR 59, que é derivada de Villa Sarchi com Híbrido de Timor CIFIC 832/2. A cultivar Villa Sarchi pertence à espécie *C. arabica* e o Híbrido de Timor é derivado do cruzamento natural da cultivar Típica com a espécie *C. canephora*. Sementes de diferentes cultivares, apesar de derivadas de uma mesma espécie, podem apresentar diferenças de longevidade, uma vez que a carga genética é um dos fatores que interferem no processo de deterioração.

Os resultados obtidos são promissores para a definição do protocolo de conservação das sementes de café em Bancos de Germoplasma. A manutenção da viabilidade das sementes em nitrogênio líquido pode ser considerada um grande avanço no estudo de criopreservação, uma vez que nos resultados anteriormente relatados na literatura sempre foi verificada redução do poder germinativo após alguns dias de armazenamento (Dussert et al., 1997, 1998; Eira et al., 1999a).

Figura 1 - Percentagem de germinação de sementes de *Coffea arabica* (Mundo Novo IAC 388-17 e Catuaí Vermelho IAC 99) e de IAPAR 59 (*C. arabica* x *C. canephora*) armazenadas a +5°C, -20°C e -196°C.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CROMARTY, A.S.; ELLIS, R.H. & ROBERTS, E.H. (1985). **The design of seed storage facilities for genetic conservation**. Rome, IBPGR.100p.
- DUSSERT, S.; CHABRILLANGE, N.; ENGELMANN, F.; ANTHONY, F.; HAMON, S. (1997) Cryopreservation of coffee (*Coffea arabica* L.) seeds: importance of precooling temperature. **Cryo-Letters**, 18:269-276.
- DUSSERT, S.; CHABRILLANGE, N.; ENGELMANN, F.; ANTHONY, F.; LOUARN, J.; HAMON, S. (1998) Cryopreservation of seeds of four coffee species (*Coffea arabica*, *C. costatifructa*, *C.*

racemosa and *C. sessiliflora*): importance of water content and cooling rate. **Seed Science Research**, 8:9-15.

EIRA, M.T.S., WALTERS, C., CALDAS, L.S., FAZUOLI, L.C., SAMPAIO, J.B. AND DIAS, M.C.L.L. (1999a) Tolerance of *Coffea* spp. seeds to desiccation and low temperature. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, 11:97-105.

EIRA, M.T.S., WALTERS, C., CALDAS, L.S. (1999b) Water sorption isotherms in *Coffea* spp. seeds and embryos. **Seed Science Research** 9:321-330.

ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H. (1985). **Handbook of seed technology for genebanks**. Vol. II. Rome, IBPGR.

ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H. (1990) An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. **Journal of Experimental Botany**, 41:1167-1174.

ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H. (1991) An intermediate category of seed storage behaviour? II. Effects of provenance, immaturity and imbibition on desiccation-tolerance in coffee. **Journal of Experimental Botany**, 42:653-657.

FAZUOLI, L.C. (1986) Genética e melhoramento do cafeeiro. In: RENA,A.B.; MALAVOLTA,E.; ROCHA,M.; YAMADA,T. (eds). **Cultura do cafeeiro** – fatores que afetam a produtividade. Piracicaba, Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato. pp. 87-113.

VERTUCCI, C.W.; ROOS, E.E. (1993) Theoretical basis of protocols for seed storage. II. The influence of temperature on optimal moisture levels. **Seed Science Research**, 3:201-213.