

TÉCNICAS DE CRIOPRESERVAÇÃO EM SEMENTES DE *COFFEA CANEPHORA* PIERRE

SVB Coelho, SDVF da Rosa, LS Coutinho, TB Fantazzini, JL Baúte, FAS Ribeiro

O café é umas das principais *commodities* agrícolas do país, sendo importante a conservação do material vegetal para os programas de melhoramento genético. A criopreservação é uma alternativa promissora para conservar à longo prazo e de forma segura, o germoplasma de espécies consideradas recalcitrantes, a exemplo de *Coffea canephora* Pierre. Entretanto, estudos devem ser conduzidos para alcançar a máxima sobrevivência de plântulas após imersão em nitrogênio líquido.

Dentre os métodos de criopreservação existentes atualmente, dois principais são utilizados para sementes. O método clássico consiste no resfriamento lento do material vegetal até uma certa temperatura, seguido de rápida imersão em nitrogênio líquido (ENGELMANN, 2011). O método mais moderno é baseado na vitrificação, em que o material é imerso diretamente em nitrogênio líquido, após uma desidratação controlada (WALTERS et al., 2013). Até o momento, não há uma metodologia eficiente e segura para conservação das sementes de *Coffea canephora* Pierre a longo prazo, e os trabalhos de criopreservação envolvendo a espécie estão defasados. Objetivou-se neste trabalho encontrar um protocolo de criopreservação seguro e eficiente para armazenar sementes de *Coffea canephora* Pierre, estudando dois métodos de criopreservação, resfriamento lento e rápido.

As sementes de *Coffea canephora* foram submetidas à secagem em sílica gel, até o teor de água de 0,25 g.g⁻¹ (base seca). Para o resfriamento rápido, as sementes foram, depois de secas, imersas diretamente em nitrogênio líquido, onde permaneceram durante 24 horas. Posteriormente, foi realizado o descongelamento em banho maria, durante dois minutos a 40°C. As sementes foram submetidas ao tratamento de resfriamento lento na velocidade de -5 °C min.⁻¹ até a temperatura final de -40 °C, por meio de um biocongelador. Posteriormente, as sementes foram imersas em tanque contendo nitrogênio líquido, onde permaneceram durante 24 horas. Foi realizado o mesmo procedimento do descongelamento das sementes que foram criopreservadas pelo resfriamento rápido. A avaliação da qualidade das sementes após criopreservação foi realizada por meio de testes de germinação (BRASIL, 2009), vigor e tetrazólio.

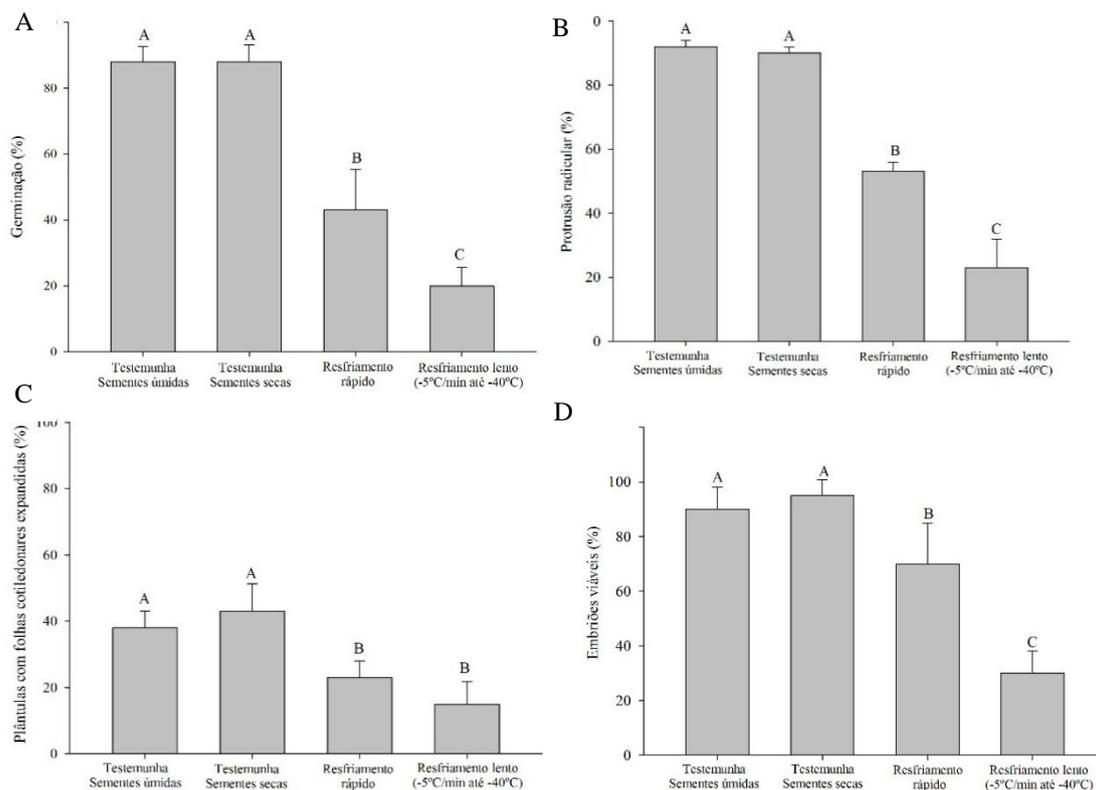
Os protocolos de criopreservação de resfriamento lento e rápido foram comparados à testemunha (semente úmida com 0.72 g.g⁻¹) e às sementes secas até 0,25 g.g⁻¹, em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições.

Os dados foram submetidos à análise de variância no programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2014), sendo as médias comparadas por meio do teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados e Conclusões

Foi observado que, de um modo geral, a secagem até 0,25 g.g⁻¹ não prejudica à qualidade fisiológica das sementes de *Coffea canephora* Pierre (Figura 1), quando comparamos esses resultados com as semente úmidas.

Figura 1. Dados médios de germinação (A), protrusão radicular (B), plântulas com folhas cotiledonares expandidas (C), e embriões viáveis pelo teste de tetrazólio (D), de sementes de *Coffea canephora* Pierre úmidas, com 0.72 g.g⁻¹ e secas com 0.25 g.g⁻¹ (base seca), e submetidas aos protocolos de criopreservação por resfriamento rápido e lento. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade



De acordo com a Figura 1, observa-se, também, que os dois protocolos de criopreservação, seja por resfriamento lento ou por imersão direta (resfriamento rápido) são prejudiciais às sementes de *Coffea canephora*. No

entanto, o protocolo de criopreservação por congelamento rápido proporciona maior sobrevivência, com resultados de 43% de plântulas normais, quando comparado às sementes criopreservadas por congelamento lento. Esta maior sobrevivência foi confirmada em todas as variáveis respostas analisadas e, muito embora este não seja o percentual de sobrevivência ideal, o protocolo investigado, de criopreservação de sementes desta espécie é promissor e estudos estão sendo conduzidos para a sua otimização.

Assim, pode ser concluído que as sementes de *Coffea canephora* respondem melhor a criopreservação por resfriamento rápido, ou seja, imersão direta em nitrogênio líquido, quando comparado ao resfriamento lento. Além disto, a secagem das sementes de *Coffea canephora* até o teor de água de $0,25 \text{ g.g}^{-1}$ não prejudica a viabilidade das sementes.