Conservation a Long Terme des Ressources Génétiques de Caféier par Cryoconservation d'Embryons Zygotiques et Somatiques et de Cultures Embryogènes

B. FLORIN, H. TESSEREAU, V. PÉTIARD

FRANCERECO, 101, Avenue Gustave Eiffel, 37390 Notre-Dame-D'Oé, France

SUMMARY

Coffee germplasm is maintained in field genebanks because of the short life of seeds and their sensitivity to conventional seed storage methods. Cryopreservation or storage in liquid nitrogen (–196°C) provides a unique alternative for maintaining genetic stability for virtually indefinite periods of time. This method offers the possibility of safe and genetically stable long-term preservation of germplasm avoiding drawbacks such as high cost, pests, diseases and adverse environments. The ability of zygotic (*C. arabica*) and somatic (*C. canephora*) embryos to withstand the temperature of liquid nitrogen was evaluated using several freezing methods. Contrary to seeds, mature zygotic embryos can be cryopreserved after a controlled drying under 43% relative humidity at 18°C. After thawing, direct regrowth of zygotic embryos was observed. With this same method or with a simple method based on a sucrose pretreatment followed by prefreezing at –20°C, the regrowth of somatic embryos was expressed by secondary embryogenesis. Coffee plants have been obtained from frozen zygotic embryos and embryos formed from frozen somatic embryos or embryogenic strains of various coffee species (*C. arabica* cvs. catuai and caturra, *C. canephora* and arabusta hybrid). The simplicity of these methods could stimulate the establishment of liquid nitrogen genebanks for long-term preservation and exchanges of coffee germplasm.

RÉSUMÉ

La sauvegarde des ressources génétiques de caféier est réalisée au champ en raison de la courte durée de vie des graines et leur sensibilité aux méthodes conventionnelles de stockage. La cryoconservation dans l'azote liquide (–196°C) est donc une alternative pour assurer la stabilité et la conservation à long terme du matériel génétique de façon saine, économique et éliminant les problèmes liés aux aléas climatiques, aux maladies et aux insectes. L'aptitude d'embryons zygotiques (*C. arabica*) et somatiques (*C. canephora*) à résister à la température de l'azote liquide a été évaluée en développant deux techniques de congélation. Contrairement à la graine entière, l'embryon zygotique mature excisé peut être cryoconservé consécutivement à un séchage contrôlé sous 43% d'humidité relative à 18°C. Les embryons zygotiques reprennent leur développement bipolaire après réchauffement (70%), contrairement aux embryons somatiques. Pour ces derniers, la survie après cryoconservation suite à un traitement de déshydratation par séchage ou encore par imprégnation dans une solution enrichie en saccharose et un prérefroidissement à –20°C s'exprime par embryogenèse secondaire (100%). Des plantes de caféier ont été obtenues à partir des embryons zygotiques congelés et des embryons issus d'embryons somatiques et de lignées embryogènes de *C. arabica* (cvs. catuai et caturra), *C. canephora* et d'hybride arabusta (*C. arabica x C. robusta*) congelés. Par leur simplicité, la mise en oeuvre de ces techniques devrait favoriser la mise en place de collection de génotypes d'espèces autogame et allogame dans l'azote

liquide en vu de la conservation à long terme des ressources génétiques ainsi que faciliter les échanges internationaux de germplasme de caféier.