Zygotic and Somatic Embryo Cryopreservation on Coffee (*Coffea arabica*, *C. canephora* and Arabusta)

A. ABDELNOUR[1], F. ENGELMANN[2], C. HIBJAN[1], V. VILLALOBOS[1], D. GRAY[3], M. DUFOUR[4]

[1]CATIE, 7170 Turrialba, Costa Rica
[2]ORSTOM, B.P. 5045, Montpellier, France
[3]IFAS, Univ. of Florida, Leesburg, Florida, USA
[4]CIRAD-CP/CATIE, 7170 Turrialba, Costa Rica

ABSTRACT

Coffee can successfully be conserved in the field but this method is very expensive and presents high risks of loosing some material through biotic or abiotic events. Therefore we investigated the possibilities of conserving zygotic and clonal (somatic) embryos in liquid nitrogen (LN; at a temperature of –196°C).

First, several pretreatments designed to avoid chilling injury were evaluated on both zygotic and somatic embryos of *C. arabica*, var. catimor and *C. canephora* var. Robusta. Those genotypes were chosen due to their responsiveness in producing embryogenesis. Cultures were initiated by placing 1.5 cm^2 leaf sections on induction medium. Somatic embryos appeared after 10 weeks.

For example, prolonged exposure to high sucrose levels caused the embryos to develop more normally after the cold treatment.

Three cryopreservation protocols were tested.

Treatments included either rapid freezing by direct immersion in LN or slow freezing at either 0.5, 0.8 or 1°C/mn to –40°C prior to immersion in LN. Samples were either slow-thawed for 30 mn or rapid-thawed in a 40°C water bath.

Results from some of these experiments are very promising. The embryos survived freezing but did not germinate directly. Instead, they produced embryogenic calli and somatic embryos. Robusta embryos showed the higher percentage of survival (71%).

RÉSUMÉ

Les caféiers peuvent facilement être conservés sous forme de collections au champ, mais cette méthode est onéreuse et représente des risques élevés de perte de matériel par cause biotique ou abiotique. Nous avons donc recherché la possibilité de conserver des embryons zygotiques et clonaux (somatiques) dans de l'azote liquide ("LN"; à une température de –196°C).

Tout d'abord, plusieurs prétraitements destinés à éviter les dégâts dus au froid ont été essayés à la fois sur les embryons somatiques et zygotiques de *C. arabica* var. catimor et *C. canephora* var. Robusta. Ces génotypes ont été choisis pour leur bonne capacité embryogène. Les cultures sont initiées en plaçant des sections foliaires de l.5 cm^2 sur un milieu d'induction. Les embryons somatiques apparaissent après 10 semaines. Par exemple, une

culture prolongée sur de fortes concentrations en saccharose a permis un meilleur développement des embryons.

Trois protocoles de cryoconservation ont été essayés. Les traitements ont consisté en, d'une part, une congélation rapide par immersion directe dans LN, ou, d'autre part en une congélation lente à des rythmes de 0.5, 0.8 ou 1°C/mn jusqu'à –40°C avant immersion dans LN. Les échantillons ont été soit décongelés lentement pendant 30 mn, soit rapidement par trempage dans un bain-marie à 40°C. Les résultats de certaines de ces expériences sont très prometteurs. Les embryons ont survécu à la congélation, mais n'ont pas germé directement. Au contraire, ils produisent des cals embryogènes, puis des embryons somatiques. Les embryons de Robusta ont montré le meilleur pourcentage de survie (71%).