



**STEFÂNIA VILAS BOAS COELHO**

**SECAGEM E RESFRIAMENTO DE SEMENTES  
DE *Coffea arabica* L. VISANDO AO  
ARMAZENAMENTO EM TEMPERATURAS  
SUPRA E SUBZERO**

**LAVRAS- MG**

**2014**

**STEFÂNIA VILAS BOAS COELHO**

**SECAGEM E RESFRIAMENTO DE SEMENTES DE *Coffea arabica* L.  
VISANDO AO ARMAZENAMENTO EM TEMPERATURAS SUPRA E  
SUBZERO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de mestre.

Orientadora

Dra. Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa

**LAVRAS- MG**

**2014**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e  
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Coelho, Stefânia Vilas Boas.

Secagem e resfriamento de sementes de *Coffea arabica* L.  
visando o armazenamento em temperaturas supra e sub zero /  
Stefânia Vilas Boas Coelho. – Lavras : UFLA, 2014.

129 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa.

Bibliografia.

1. Armazenabilidade. 2. Dessecação. 3. Sementes de café -  
Conservação. 4. Baixa temperatura. I. Universidade Federal de  
Lavras. II. Título.

CDD – 633.7368

**STEFÂNIA VILAS BOAS COELHO**

**SECAGEM E RESFRIAMENTO DE SEMENTES DE *Coffea arabica* L.  
VISANDO AO ARMAZENAMENTO EM TEMPERATURAS SUPRA E  
SUBZERO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de mestre.

Aprovada em 13 de agosto de 2014.

Dra. Lilian Padilha

EMBRAPA

Dr. Antônio Rodrigues Vieira

EPAMIG

Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho

UFLA

Dra. Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa

Orientadora

**LAVRAS- MG**

**2014**

*Aos meus pais Silvio e Magali,  
pelo confiança e amor incondicional.  
Aos meus tios Silvério, Ana e Vânia,  
pelo exemplo e incentivo.*

*DEDICO*

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus, pelas bênçãos derramadas todos os dias em minha vida, mesmo nos momentos de pouca fé.

Aos meus pais, Silvio Guilherme Coelho e Magali Vilas Bôas; e meu irmão, Silvio Henrique Coelho, pelo amor incondicional;

Aos meus tios Silvério, Ana Lúcia e Vânia, pelas palavras de conforto e incentivo.

Agradeço a minha orientadora, Dra. Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa, pela paciência, dedicação, ensinamento, amizade e confiança.

Aos professores do Setor de Sementes, João Almir Oliveira, Édila Vilela de Resende von Pinho, Renato Mendes Guimarães, Maria Laene Moreira de Carvalho e Heloísa Oliveira dos Santos, pelos esclarecimentos e conhecimentos transmitidos durante o curso.

Ao pesquisador da EPAMIG, Antônio Rodrigues Vieira, pelas contribuições prestadas nos últimos anos.

Aos pós-doutorandos do Setor de Sementes, em especial Aline da Consolação Sampaio Clemente, Polyana Placedino, Hugo Catão e Tanismare Tatiana Almeida da Silva, pela ajuda e amizade.

Aos bolsistas de iniciação científica e aos estagiários do Laboratório, em especial Felipe Coelho e Cristiane Carvalho Pereira, pelo auxílio na execução dos trabalhos.

À doutoranda Madeleine, pelo acompanhamento na pesquisa.

Aos queridos amigos do laboratório, que foram essenciais durante o curso e me proporcionaram momentos de muita alegria e que estarão sempre no meu coração.

Aos familiares, pelo apoio.

Aos funcionários do Laboratório de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, Elenir, Dalva, Elza, Cláudio e Antônio, e à secretária Viviana, pela disposição e paciência em nos auxiliar.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e Departamento de Agricultura, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), pelo financiamento das análises laboratoriais.

À Marli, secretária da pós-graduação do Departamento de Agricultura, pela atenção e ajuda.

A todos que, de algum modo, contribuíram para a realização deste trabalho, MUITO OBRIGADA.

## RESUMO

As sementes de café apresentam limitações com relação à sua conservação, sendo classificadas como intermediárias quanto à dessecação e ao comportamento durante o armazenamento. Uma dificuldade no estabelecimento de metodologia adequada ao armazenamento de sementes intermediárias é a interação entre o conteúdo de água nas sementes e a temperatura do ar de armazenamento. Assim, objetivou-se neste trabalho investigar metodologias de secagem das sementes e de armazenamento em temperaturas abaixo de zero. O trabalho foi realizado no Laboratório Central de Sementes, do Departamento de Agricultura, da Universidade Federal de Lavras. Foram utilizadas sementes de *Coffea arabica* L., cultivar Catuaí Amarelo IAC 62. O trabalho foi desenvolvido em três etapas, sendo que na primeira etapa foi avaliado o efeito da velocidade de secagem na qualidade fisiológica das sementes de café. Na segunda etapa foram investigados os efeitos do resfriamento das sementes de café em temperaturas supra e subzero. E, na terceira verificou-se o efeito do armazenamento sobre a qualidade das sementes de café secadas em diferentes velocidades. Nos estudos de secagem foi utilizada sílica gel para realizar a secagem rápida e soluções salinas saturadas para a secagem lenta, sendo que as sementes foram secadas até teores de água de 40, 30, 20, 15, 10 e 5% (base úmida). Posteriormente, as sementes foram submetidas ao resfriamento até três diferentes temperaturas: em s, câmara fria e seca (10°C e 45% UR), em freezer (-20°C) e em deep-freezer (-86°C). O desempenho fisiológico das sementes foi avaliado antes e após o armazenamento das sementes em câmara fria e seca. O tempo zero foi caracterizado pelo equilíbrio das sementes, durante 24 horas, na temperatura de interesse. A determinação da qualidade fisiológica das sementes foi realizada pelos testes de germinação, plântulas normais fortes, plântulas com folhas cotiledonares expandidas, matéria seca de plântulas, condutividade elétrica e teste de tetrazólio. Para as análises bioquímicas, foram analisados os sistemas enzimáticos: superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), por meio de perfil eletroforético de isoenzimas. Quanto mais rápida é a secagem, menores são os teores de água tolerados pelas sementes. A tolerância das sementes de café a baixas temperaturas depende da taxa em que são secadas e do teor de água das mesmas. O armazenamento por período de quatro meses não afeta a germinação de sementes de café, mas prejudica o vigor.

**Palavras-chave:** Armazenabilidade. Dessecação. Conservação. Baixa temperatura.



## ABSTRACT

The coffee seeds have limitations regarding conservation, being classified as intermediate to desiccation and storage. One difficulty in establishing methodologies to storage intermediate seeds is the interaction between the water content in the seeds and the storage air temperature. The aim of this study is to investigate storage methodologies at temperatures below freezing. The study was conducted at the Central Seed Laboratory of the Department of Agriculture, Federal University of Lavras with *Coffea arabica* L., Catuaí Yellow IAC 62 seeds. The study was conducted in three stages, the first phase aimed to evaluate the effect of drying rate on seed vigor of coffee. In the second step, evaluate the cooling effect of coffee beans at temperatures above and subzero, the third step was to determine the storage effect on coffee seeds dried at different speeds. Silica gel was used for quickly drying and saturated salt solutions to slow drying, and the seeds were dried to water contents of 40, 30, 20, 15, 10 and 5% (wet basis). Then the seeds were stored in three different environments, cold room (10 ° C, 45% RH), freezer (-20 ° C) and deep-freezers (-86°C) and analyzed at zero and four months. Zero time was marked by the balance of the seeds for 24 hours at temperatures of interest. Germination, strong normal seedlings, seedlings with expanded cotyledons, dry matter of seedling, electrical conductivity and tetrazolium were used to access the physiological quality of seeds. For the biochemical analyzes, the enzymatic systems were analyzed: superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) by means of electrophoretic profile of isoenzymes. The faster is the drying, the lower the water content tolerated by seeds. The tolerance of coffee beans at low temperature depends on the rate at which they are dried and water content thereof. The storage for four months does not affect the germination of coffee, but affects their vigor.

**Keywords:** Storability. Drying. Storage. Low temperature.

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 2

Tabela 1 Soluções salinas saturadas utilizadas na secagem lenta de sementes de <i>Coffea arábica</i> L.....	53
Tabela 2 Valores médios de teor de água das sementes de café, obtidas durante a secagem rápida em sílica gel e lenta em solução salina saturada.....	59

### CAPÍTULO 3

Tabela 1 Soluções salinas saturadas utilizadas na secagem lenta de sementes de <i>Coffea arábica</i> L.....	76
---	----

### CAPÍTULO 4

Tabela 1 Soluções salinas saturadas utilizadas na secagem lenta de sementes de <i>Coffea arábica</i> L.....	107
Tabela 2 Teores médios de água, em %, em sementes de café antes e após quatro meses de armazenamento em câmara fria e seca, nas diferentes velocidades de secagem.....	112
Tabela 3 Porcentagem média de plântulas normais de sementes de café, em função das diferentes velocidades de secagem e umidade para cada tempo de armazenamento em câmara fria e seca .....	113
Tabela 4 Dados médios de embriões viáveis pelo teste de tetrazólio (%) e de matéria seca de hipocótilo (g) de sementes de café em função da umidade e tempo de armazenamento.....	116
Tabela 5 Dados médios, em porcentagem, de plântulas normais fortes aos 30 dias e de folhas cotiledonares expandidas aos 45 dias, em	

	função da velocidade de secagem, grau de umidade e tempo de armazenamento de sementes de café.....	117
Tabela 6	Dados médios de condutividade elétrica, em $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ , em função da velocidade de secagem, umidade e tempo de armazenamento em sementes de café.....	119
Tabela 7	Dados médios, em gramas, de matéria seca de raiz aos 45 dias, em função da velocidade de secagem, umidade e tempo de armazenamento em sementes de café.....	121

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 2

- Figura 1 Curvas de secagem para sementes de *Coffea arabica* L., submetidas à secagem rápida em sílica gel e lenta em soluções salinas saturadas..... 58
- Figura 2 Porcentagem média de plântulas normais aos 30 dias e de embriões viáveis no teste de tetrazólio de sementes de café submetidas à secagem lenta e rápida..... 59
- Figura 3 Porcentagem média de plântulas normais fortes, folhas cotiledonares expandidas, matéria seca de raiz, matéria seca de hipocótilo aos 45 dias, e condutividade elétrica de sementes de café submetidas à secagem lenta e rápida..... 60

### CAPÍTULO 3

- Figura 1 Porcentagem média de plântulas normais aos 30 dias de sementes de café secadas em diferentes velocidades de secagem e equilibradas em temperaturas supra e subzero..... 83
- Figura 2 Porcentagem média de embriões viáveis pelo teste de tetrazólio de sementes de café secadas em diferentes velocidades de secagem e equilibradas em temperaturas supra e subzero..... 85
- Figura 3 Porcentagem média de folhas cotiledonares expandidas aos 45 dias e de plântulas normais fortes aos 30 dias de sementes de café secadas em diferentes velocidades de secagem e equilibradas em temperaturas supra e subzero. .... 87
- Figura 4 Dados média em g, de matéria seca de hipocótilo e matéria seca de raiz de sementes de café secadas em diferentes velocidades de secagem e equilibradas em temperaturas supra e subzero ..... 88

Figura 5 Dados médios de condutividade elétrica de sementes de café secadas em diferentes velocidades e equilibradas em temperaturas supra e subzero.....	90
Figura 6 Padrões isoenzimáticos de sementes de café revelados para a enzima catalase (CAT), em duas velocidades de secagem, rápida (A) e lenta (B), e equilibradas em três diferentes temperaturas, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014.....	92
Figura 7 Padrões isoenzimáticos de sementes de café revelados para a enzima Superóxido dismutase (SOD), em duas velocidades de secagem, rápida (A) e lenta (B), e equilibradas a três diferentes temperaturas, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014.....	93

#### **CAPÍTULO 4**

Figura 1 Porcentagem média de plântulas normais aos 30 dias de sementes de café submetidas à secagem lenta e rápida, antes e após o armazenamento em câmara fria. ....	114
Figura 2 Dados médios de embriões viáveis pelo teste de tetrazólio e de matéria seca de hipocótilo de sementes de café em função da umidade e tempo de armazenamento .....	115
Figura 3 Porcentagem média de plântulas normais fortes aos 30 dias e de folhas cotiledonares expandidas aos 45 dias de sementes de café submetidas à secagem lenta e rápida, antes e após o armazenamento em câmara fria .....	118
Figura 4 Dados médios de condutividade elétrica e matéria seca de raiz, de sementes de café submetidas à secagem lenta e rápida, antes e após o armazenamento em câmara fria.....	120

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	16
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	21
<b>2.1 Cenário econômico do café</b> .....	21
<b>2.2 Caracterização e germinação de sementes de café (<i>Coffea arabica</i> L.)</b> ....	22
<b>2.3 Níveis de hidratação e comportamento fisiológico das sementes</b> .....	25
<b>2.4 Secagem e armazenamento das sementes de café</b> .....	27
<b>2.5 Atividade enzimática e deterioração de sementes</b> .....	33
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	36
<b>CAPÍTULO 2. QUALIDADE DE SEMENTES DE CAFÉ SUBMETIDAS À SECAGEM RÁPIDA E LENTA</b> .....	46
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	49
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	52
<b>2.1 Local e espécie utilizada</b> .....	52
<b>2.2 Colheita, seleção e processamento das sementes</b> .....	52
<b>2.3 Secagem das sementes</b> .....	53
<b>2.4 Avaliações</b> .....	54
<b>2.4.1 Determinação do teor de água</b> .....	54
<b>2.4.2 Análises fisiológicas</b> .....	55
<b>2.5 Delineamento experimental e análises estatísticas</b> .....	56
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	58
<b>4 CONCLUSÕES</b> .....	64
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	65
<b>CAPÍTULO 3 QUALIDADE DE SEMENTES DE CAFÉ SUBMETIDAS A TEMPERATURAS SUPRA E SUBZERO</b> .....	69
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	72

<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	75
<b>2.1</b>	<b>Local e espécie utilizada</b> .....	75
<b>2.2</b>	<b>Colheita, seleção e processamento das sementes</b> .....	75
<b>2.3</b>	<b>Secagem e resfriamento das sementes</b> .....	76
<b>2.4</b>	<b>Avaliações</b> .....	78
<b>2.4.1</b>	<b>Determinação do teor de água</b> .....	78
<b>2.4.2</b>	<b>Análises fisiológicas</b> .....	78
<b>2.4.3</b>	<b>Análises Bioquímicas</b> .....	80
<b>2.5</b>	<b>Delineamento experimental e análises estatísticas</b> .....	80
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	82
<b>3.1</b>	<b>Resultados das avaliações fisiológicas</b> .....	82
<b>3.2</b>	<b>Resultados das avaliações bioquímicas</b> .....	91
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	95
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	96
<b>CAPÍTULO 4 ARMAZENAMENTO EM CÂMARA FRIA DE</b>		
<b>SEMENTES DE CAFÉ SUBMETIDAS A DIFERENTES</b>		
<b>VELOCIDADES DE SECAGEM</b> .....		
		100
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	103
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	106
<b>2.1</b>	<b>Local e espécie utilizada</b> .....	106
<b>2.2</b>	<b>Colheita, seleção e processamento das sementes</b> .....	106
<b>2.3</b>	<b>Secagem e armazenamento das sementes</b> .....	107
<b>2.4</b>	<b>Avaliações</b> .....	109
<b>2.4.1</b>	<b>Determinação do teor de água</b> .....	109
<b>2.4.2</b>	<b>Análises Fisiológicas</b> .....	109
<b>2.5</b>	<b>Delineamento experimental e análises estatísticas</b> .....	111
<b>3.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	112
<b>4.</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	123

<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>124</b>
<b>APÊNDICE A.....</b>	<b>127</b>
<b>APÊNDICE B.....</b>	<b>128</b>



**CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO GERAL**

## 1 INTRODUÇÃO

O café é um importante produto da balança comercial brasileira, sendo o Brasil o maior produtor e exportador mundial desta *commodity*. Em 2013 o Brasil produziu aproximadamente 53 milhões de sacas (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2014), sendo que Minas Gerais destaca-se como principal estado produtor. Entre as várias espécies de café conhecidas, apenas duas são cultivadas e de interesse ao mercado, *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre. O café arábica possui maior importância econômica, representando 70% do café comercializado no mundo (INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION - ICO, 2014).

Entre as etapas de produção de sementes, a secagem e o armazenamento são, possivelmente, os fatores mais importantes na obtenção de sementes de café de qualidade e, conseqüentemente na obtenção de mudas vigorosas. Isso se deve às limitações apresentadas pelas sementes de café com relação à conservação, com perdas significativas de germinação e de vigor após o armazenamento em curto prazo. A baixa longevidade das sementes de café está relacionada com a sensibilidade à dessecação, sendo classificadas como intermediárias em relação à secagem e ao armazenamento, ou seja, toleram relativa perda de água, até 10-13% de umidade (base úmida) e não toleram armazenamento a baixas temperaturas (ELLIS; HO; ROBERTS, 1990).

As sementes que toleram desidratação quase completa podem suportar, conseqüentemente, temperaturas extremamente baixas, o que supostamente não ocorre com as sementes intolerantes à dessecação. Contudo, ainda não foram estabelecidos os limites de redução da temperatura para essas sementes. A aquisição da tolerância à dessecação é um fenômeno complexo, envolvendo a interação de ajustes metabólicos e estruturais, permitindo que as células resistam a perdas consideráveis de água sem a ocorrência de prejuízos. A maior ou menor

eficiência desses fatores poderia, dessa forma, acarretar a formação de sementes com diferentes níveis de tolerância à dessecação (MARCOS FILHO, 2005). Possivelmente, tal fato poderia ocorrer, também, em relação à tolerância à redução da temperatura.

Em diversos trabalhos de pesquisa, tem sido demonstrado que a qualidade de sementes de café é influenciada pelas condições de secagem e de armazenamento (DUSSERT et al., 2001, 2003, 2006; ROSA et al., 2005; VIEIRA et al., 2007). No entanto, não existem trabalhos conclusivos sobre o melhor método de secagem e grau de umidade, pois as metodologias empregadas geralmente são diferentes. Além disso, são escassas as investigações sobre os efeitos do armazenamento a temperaturas abaixo de zero.

Tal fato se torna um entrave principalmente para a conservação em bancos de germoplasma de sementes de café, tendo em vista as desvantagens de preservação de acessos *in situ*. Portanto, o resfriamento de sementes em temperaturas subzero é uma alternativa para conservar a viabilidade de sementes de várias espécies cultivadas no mundo por longos períodos de tempo. Entretanto essa técnica ainda não é totalmente segura para espécies de comportamento intermediário, a exemplo do café.

O grande desafio em armazenar sementes a baixas temperaturas é realizar um congelamento sem a formação de cristais de gelo no interior das células. A formação de gelo no meio intracelular causa ruptura do sistema de membranas celulares, resultando em perda da semipermeabilidade e da compartimentação celular; em consequência disso, as células entram em colapso e morrem (FUJIKAWA, 1980).

A formação de cristais de gelo intracelular irá ocorrer caso esses tecidos sejam congelados no estado hidratado. Portanto, a água precisa ser removida antes do congelamento, para evitar danos causados pelos cristais de gelo. Entretanto, a desidratação não é um processo trivial, porque a água tem muitas

funções biológicas fundamentais nas células de organismos vivos. Os efeitos do conteúdo de água e temperatura são interdependentes e o teor de água crítico sempre aumenta com a diminuição da temperatura (DUSSERT et al., 1997, 1998; EIRA et al., 1999; EIRA; WALTERS; CALDAS, 1999).

A resposta das espécies consideradas de comportamento intermediário à secagem depende da velocidade com que a água é perdida (CADDAH; ANDRADE; MEDEIROS, 2005; CARVALHO, 2006; JOSÉ et al., 2011; ROSA et al., 2005). Em geral, as sementes que são secadas mais rapidamente podem sobreviver a menores teores de água. Quando a desidratação é rápida, não há tempo suficiente para o acúmulo de danos que ocorrem durante a secagem. No entanto, independentemente da taxa de secagem, há um limite absoluto inferior abaixo do qual as sementes recalcitrantes e intermediárias não vão sobreviver (DUSSERT et al., 2006).

Na secagem lenta a conteúdos altos de água, o dano acumula e leva a perda de viabilidade das sementes. Se a secagem for suficientemente rápida, o tecido passa através do conteúdo de água em que ocorrem os processos de degradação de base aquosa, antes que os danos podem acumular a níveis letais.

Em estudos sobre os efeitos das velocidades de secagem e da temperatura sobre o desempenho de sementes de *C. canephora* no armazenamento, foram observados efeitos significativos da velocidade de secagem. Há evidências de que a secagem rápida permite alcançar menores teores de água nas sementes sem que haja perda na sua qualidade fisiológica (FARRANT; BERJAK; PAMMENTER, 1993; PAMMENTER; BERJAK, 1998).

Uma dificuldade no estabelecimento de metodologia adequada ao armazenamento de sementes intermediárias é a interação entre o conteúdo de água nas sementes e a temperatura do ar de armazenamento (DUSSERT et al., 2003, 2006; EIRA et al., 2002). Contudo, na literatura são indicados valores

muito discrepantes em relação ao teor de água e temperatura de armazenamento de sementes de café, sendo necessários trabalhos de pesquisa para elucidar os mecanismos de tolerância e sensibilidade à dessecação dessas sementes, para proporcionar o correto armazenamento.

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho investigar as alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de café submetidas à secagem em diferentes velocidades, ao resfriamento a temperaturas supra e subzero e ao armazenamento.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Cenário econômico do café

O café é uma planta dicotiledônea da família Rubiaceae e do gênero *Coffea*. Dentre as várias espécies conhecidas, as mais comercializadas são a *Coffea arábica L.* e a *Coffea canephora Pierre*. Exportado por diversos países, o café é um dos produtos de maior importância no agronegócio mundial, proporcionando, aos países produtores, renda média anual de oito bilhões de dólares (CONAB, 2014). Por ser uma bebida com aromas e sabores distintos, é um dos produtos mais difundidos no mundo, sendo os Estados Unidos da América, Brasil, União Europeia e Japão os maiores consumidores (CONAB, 2014).

No Brasil o café é um produto de grande importância, sendo o país o maior produtor e exportador mundial de café. No desenvolvimento socioeconômico, a cafeicultura tem participação, pela geração de emprego nas diferentes etapas do processo produtivo. Em 2014, o Brasil deve colher 50 milhões de sacas de 60 Kg de café beneficiado, sendo 75,1% de arábica. Em Minas Gerais está concentrada a maior área plantada da cultura no país, com 1.238.270 mil hectares, predominando a espécie arábica com 98,87% no estado (CONAB, 2014).

Nos últimos anos, as instituições de pesquisa visando garantir a alta produtividade, têm buscado o aprimoramento de técnicas de cultivo e processamento pós-colheita, introdução de cultivares resistentes, dentre outros fatores. Apesar de intensos programas de pesquisa em sementes de café nos últimos anos, a definição das melhores metodologias de secagem e armazenamento das sementes dessa espécie ainda não foi elucidada.

## 2.2 Caracterização e germinação de sementes de café (*Coffea arábica* L.)

O fruto da espécie *Coffea arábica* L. é uma drupa elipsoide que possui exocarpo (casca), mesocarpo (mucilagem) e o endocarpo coriáceo (pergaminho). O exocarpo é a camada mais externa e pode ser vermelho ou amarelo, no fruto maduro, dependendo da cultivar. O mesocarpo é uma substância gelatinosa rica em açúcares e água, existente entre o exocarpo e o endocarpo. O endocarpo ou pergaminho, por sua vez, é coriáceo, quando maduro (RENA; MAESTRI, 1986). O fruto contém, normalmente, dois *locus* e duas sementes envolvidas individualmente pelo pergaminho.

As sementes de café são plano-convexas, elípticas ou ovais, e na face plana dessas sementes encontra-se um sulco longitudinal, sendo constituída de embrião, endosperma e um envoltório, também conhecido como película prateada ou espermoderma. Essa película prateada contém 70 micras de espessura e é constituída de inúmeras células esclerenquimatosas dispersas em diversas direções, sendo a maioria disposta paralelamente à superfície da semente (RENA; MAESTRI, 1986).

Segundo Pimenta (2003), o endosperma é o principal tecido de reserva nas sementes de café, representando 95% da massa seca da semente, contendo cerca de 10 a 14% de proteínas e 0,5 a 2% de aminoácidos. A semente de café arábica apresenta teores entre 55 a 65,5% de carboidratos; 8 a 11% de ácidos, entre os quais se destaca: ácido cítrico, málico, clorogênico, acético, butírico e valérico; 1 a 3% de lignina; 15 a 18% de lipídeos; 11 a 15% de compostos nitrogenados; 8,5 a 12% de proteína; 0,8 a 1,4% de cafeína; 3 a 5,4% de minerais. O embrião do cafeeiro é pequeno (3 a 4 mm) e se localiza na base da semente, na sua face convexa, apresentando um hipocótilo (eixo embrionário) e dois cotilédones.

A qualidade de sementes pode ser expressa pela interação de quatro componentes: genético, físico, sanitário e fisiológico. A qualidade genética refere-se à constituição da semente; a física diz respeito à ausência de contaminação por matérias estranhas; a qualidade fisiológica é a capacidade potencial da semente de produzir uma plântula normal; e a qualidade sanitária consiste na ausência de patógenos, incluindo fungos, bactérias, vírus e insetos que influenciam negativamente a emergência (MARCOS FILHO, 2005).

A qualidade fisiológica de sementes de café é avaliada principalmente pelos testes de germinação e de tetrazólio, sendo que no primeiro é avaliada a germinação das sementes sob condições ideais de temperatura e umidade, e no segundo, o potencial germinativo das sementes. Esses testes não refletem o desempenho das sementes no campo e por isso torna-se necessário o uso de testes de vigor (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). Sob o aspecto fisiológico, o monitoramento da deterioração das sementes durante o armazenamento é realizado por meio de testes de germinação e de vigor (MARCOS FILHO, 2005) e ainda, por observações e determinações de modificações bioquímicas nas atividades enzimáticas e nas organelas do sistema de membranas (BEWLEY; BLACK, 1994).

Aspectos como germinação lenta, desuniforme e baixa velocidade no processo de retomada do crescimento do embrião de sementes de café têm sido investigados por meio de diversos estudos (MEIRELES, 2004; MEIRELES et al., 2007; REIS et al., 2010; RUBIM et al., 2010; ZONTA et al., 2010), e têm sido sugeridos como prováveis causas, a presença do endocarpo, a baixa absorção de água e O<sub>2</sub>, a presença de inibidores naturais, ou ainda o balanço hormonal.

Silva et al. (2004) relatam que a degradação hidrolítica das paredes celulares resulta em um enfraquecimento no endosperma micropilar, permitindo que a radícula supere essa resistência e promova a germinação. Esse



enfraquecimento da região micropilar no endosperma é apenas um pré-requisito para a protrusão da radícula e ainda pouco conhecido.

Pereira et al. (2002) concluíram que o espermoderma pode contribuir para a lenta germinação da semente de café, possivelmente devido à presença de cafeína. Rosa et al. (2003) estudaram o efeito da cafeína exógena sobre a germinação e desenvolvimento de embriões das sementes de café e observaram que a germinação e o desenvolvimento de embriões de *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre foram afetados, sendo esse efeito mais drástico nas radículas do que nos cotilédones, com menor sensibilidade da espécie *Coffea canephora* Pierre aos efeitos inibidores da cafeína exógena.

Embora seja de extrema importância para a proteção das sementes contra microrganismos e danos físicos, o endocarpo ou “pergaminho” representa um entrave aos processos de germinação na semente, emergência e crescimento de plântulas de café. Isso pode estar relacionado, dentre outros fatores, a um impedimento à entrada de água durante as etapas iniciais da germinação. A remoção do endocarpo é eficaz no aumento da velocidade de germinação das sementes de café, contudo é de difícil emprego, podendo ser onerosa e pouco prática.

As sementes de café apresentam sérias limitações com relação à germinação, dentre as quais se destaca a rápida perda do vigor e da viabilidade, devido ao comportamento intermediário das sementes, não tolerando a dessecação a níveis baixos de umidade. Por isso, torna-se importante o estudo dos níveis de hidratação das sementes durante a secagem e o comportamento fisiológico das mesmas, para a melhor compreensão dos mecanismos ligados à degradação e a consequente perda de qualidade das sementes de café.

### 2.3 Níveis de hidratação e comportamento fisiológico das sementes

A água apresenta diversas funções fisiológicas e bioquímicas nas sementes, dentre elas a organização das membranas celulares e a regulação dos processos bioquímicos. O comportamento fisiológico das sementes pode ser entendido pelo estudo das relações hídricas, pois o teor de água modifica com a fase de maturação das sementes (MARCOS FILHO, 2005).

O estado da água interfere nas reações metabólicas, sendo que cada grau de hidratação da semente durante o armazenamento se relaciona diretamente aos mecanismos de deterioração (VILLELA; MARCOS FILHO, 1998). Sementes ortodoxas toleram níveis de desidratação próximos de 2 a 5%; intermediárias entre 10 e 13%, enquanto que as sementes recalcitrantes não toleram a desidratação a níveis baixos de água, variando entre espécies de 20 a 30% (HONG; ELLIS, 1996; ROBERTS, 1973).

A análise das propriedades da água nas sementes é complexa, sendo que, conforme suas propriedades termodinâmicas são observados diferentes tipos de água que podem representar estados de equilíbrio (líquido e cristalino) e não equilíbrio (vítreo) e caracterizar fases distintas (VERTUCCI, 1990). A fase vítrea ou estado vítreo representa um líquido superviscoso, cuja reversão ao estado de equilíbrio ocorre de forma lenta, o que caracteriza a estabilidade cinética, mas não termodinâmica (FRANKS, 1982).

Vertucci (1990, 1993) e Vertucci e Farrant (1995) descrevem cinco tipos de água nas sementes, de acordo com o modelo de múltiplos sítios de sorção de água pelas macromoléculas. A água do tipo I é caracterizada por estar ligada quimicamente por grupos iônicos, sendo importante para a manutenção da integridade estrutural das macromoléculas. Esse tipo de água também é conhecido por água estrutural, a qual não apresenta propriedade de solvente e ocorre em teores de água inferiores a 7,5% (bu). Nessa faixa de umidade, a

atividade enzimática é pequena e observa-se a aceleração da deterioração pela desestabilização da estrutura proteica; o acúmulo de subprodutos do metabolismo vegetal (radicais livres), bem como a peroxidação de lipídeos e perda da função da membrana celular (BRUNI; LEOPOLD, 1992; ROCKLAND, 1969; VERTUCCI; LEOPOLD, 1987; VERTUCCI; ROOS, 1990).

A água tipo 2 passa a ter papel de solvente e adquire propriedades mais próximas às de seu estado livre do que a do tipo 1. Nesse nível, a água interage com sítios hidrofílicos de proteínas, apresenta características do estado vítreo e ocorre entre teores de água de 7,5% a 20% (bu). As reações químicas mediadas por sistemas enzimáticos simples começam a ser observadas, enquanto as atividades oxidativas se relacionam às taxas de deterioração (MARCOS FILHO, 2005).

Os tipos 1 e 2, conhecidos como água ligada, em princípio, não sofre solidificação, em razão da formação dos estados vítreos, em temperaturas abaixo do ponto de congelamento da água pura (VILLELA; MARCOS FILHO, 1998).

A água tipo 3 (20 a 33% de umidade) tem capacidade para umedecer as macromoléculas e formar pontes com sítios hidrofóbicos de macromoléculas. Nos teores correspondentes à água tipo 3 ocorrem atividades catabólicas significativas, havendo consumo de substâncias de reserva e produção de toxinas, como os radicais livres. Sementes recalcitrantes, quando desidratadas até este nível, exibem mecanismos de deterioração semelhantes aos das ortodoxas expostas a níveis elevados de umidade relativa do ar. A água se torna congelável quando atinge níveis mais próximos do limite superior estabelecido para o nível 3 de hidratação (MARCOS FILHO, 2005).

A água tipo 4 apresenta propriedades similares a uma solução concentrada de água e pode ser identificada pela baixa temperatura de solidificação. Verifica-se sua ocorrência entre os teores de água de 33 a 41%,

ocupando poros capilares e não interagindo diretamente com a superfície das proteínas. Nesse nível de hidratação ocorrem determinados processos de biossíntese, necessários à germinação, como a síntese proteica. Esse nível de hidratação inclui os teores de água favoráveis ao armazenamento de várias espécies com sementes recalcitrantes e ao desenvolvimento das sementes durante grande parte do período de maturação (MARCOS FILHO, 2005).

A água tipo 5 tem comportamento semelhante a uma solução diluída de água e pode ser considerada água livre. Sua ocorrência é observada em teores de água superiores a 41%.

O estado da água afeta a cinética e a natureza das reações metabólicas e os mecanismos da deterioração de sementes diferem para cada nível de hidratação durante a secagem e o armazenamento (VILLELA; MARCOS FILHO, 1998).

#### **2.4 Secagem e armazenamento das sementes de café**

São vários os fatores que influenciam na qualidade das sementes de café. Dentre esses fatores, a secagem e o grau de umidade parecem influenciar a qualidade durante o armazenamento, principalmente em função da sensibilidade das sementes à dessecação. Não existem trabalhos conclusivos sobre o melhor tipo de secagem e sobre o melhor grau de umidade, pois as metodologias não são facilmente comparáveis. Vieira et al. (2007) observaram que o processo de secagem lenta resulta em sementes de melhor qualidade fisiológica; enquanto Rosa et al. (2005) observaram que a secagem lenta resultou em sementes de pior qualidade.

A resposta das espécies consideradas de comportamento intermediário à secagem depende da velocidade com que a água é perdida (CADDAH; ANDRADE; MEDEIROS, 2005; CARVALHO, 2006; JOSÉ et al., 2011). Em

geral, as sementes que são secadas mais rapidamente podem sobreviver a menores teores de água. Quando a desidratação é rápida, não há tempo suficiente para o acúmulo de danos que ocorrem durante a secagem. No entanto, independentemente da taxa de secagem, há um limite absoluto inferior abaixo do qual as sementes recalcitrantes e intermediárias não vão sobreviver.

Para as sementes ortodoxas, a secagem lenta promove melhor tolerância à dessecação, provavelmente devido ao tempo suficiente que é concedido para a indução e a operação dos mecanismos de proteção. Para sementes de café, Dussert et al. (2012) sugeriram que a secagem rápida impede os processos de recuperação e é necessário mais tempo para que os mecanismos de reparos ativem durante a reidratação.

A secagem lenta pode induzir tolerância à dessecação em sementes ortodoxas e em embriões somáticos (BLACK et al., 1999; BOCHICCHIO et al., 1996; SANHEWE; ELLIS, 1996) ou induzir tolerância à alta temperatura de secagem em sementes ortodoxas (ROSA et al., 2004). Dessecação lenta em sementes ortodoxas é um evento que ocorre naturalmente no final da maturação e em alguns casos é um pré-requisito para a germinação, como observado em sementes de ervilha (ROGERSON; MATTHEWS, 1997) e em sementes de milho (HERTER; BURRIS, 1989).

Em contraste, as sementes recalcitrantes não passam por secagem no final da etapa de maturação e aparentemente não adquirem tolerância à dessecação (FARRANT; BERJAK; PAMMENTER, 1985; PAMMENTER; BERJAK, 1998). De acordo com esses autores, algumas sementes sensíveis à desidratação podem tolerar alguma perda de água e a quantidade varia com a velocidade em que a água é removida (KUNDU; KACHARI, 2000; WALTERS et al., 2001). A melhor qualidade fisiológica atingida com a secagem rápida de sementes sensíveis à dessecação foi atribuída ao fato de que essas sementes permanecem menos tempo numa fase especial de hidratação, onde os

mecanismos de defesa contra os danos de dessecação não são eficientes (PAMMENTER; BERJAK, 1998).

O teor de água mínimo seguro em sementes sensíveis, ou seja, abaixo do qual as sementes não podem ser secadas sem perder a viabilidade, depende de vários fatores, tais como o método de secagem, o tamanho das sementes, o estágio de desenvolvimento das sementes e a natureza química do material de reserva (FARRANT; PAMMENTER; BERJAK, 1993; FINCH-SAVAGE, 1992; KUNDU; KACHARI, 2000; PRITCHARD, 1991; TOMPSETT, 1984). O método de secagem define a velocidade com que a perda de água ocorre e consequentemente o tipo de dano ocasionado pela desidratação.

A sílica gel é uma alternativa para a secagem rápida em sementes de café, uma vez que ela retira a umidade de materiais higroscópicos, pelo processo de adsorção física, pelo qual as moléculas de água ficam retidas na superfície dos poros do dessecante. A sílica gel tem normalmente capacidade de adsorção de água de, no máximo, 30% do seu próprio peso e pode ser regenerada quando submetida a temperaturas superiores a 100°C e inferiores a 200°C, por um período mínimo de 40 minutos (JOSÉ et al., 2011).

O controle da umidade relativa em pequenos espaços fechados, contendo soluções salinas saturadas tem sido utilizado para a dessecação de sementes. Segundo Kundu e Kachari (2000), as soluções salinas mantêm constante a umidade relativa na atmosfera ao seu redor, porque qualquer solução aquosa de uma substância não volátil produz uma pressão de vapor de água definida em determinada temperatura, quando a fase de vapor está em equilíbrio com o líquido. Sun, Motangu e Verbruggen (2002) relataram que em um recipiente fechado, uma solução salina saturada produz uma pressão de vapor de água constante, em uma determinada temperatura.

A capacidade de conservação das sementes de uma espécie ou cultivar depende dos fatores que definem a qualidade inicial das sementes a serem

armazenadas e as condições ambientais de armazenagem, uma vez que, devido às suas propriedades higroscópicas, a água dentro das sementes está sempre em equilíbrio com a umidade relativa do ar. Alto grau de umidade nas sementes, juntamente com altas temperaturas, aceleram os processos naturais de degeneração dos sistemas biológicos, de maneira que, sob essas condições, as sementes perdem vigor rapidamente e, posteriormente, a sua capacidade de germinação.

O grau de umidade mais adequado à conservação das sementes de café ainda não foi devidamente definido em virtude das divergências entre os resultados obtidos nas pesquisas. Van der Vossen (1979) conservou sementes de café com 41% de umidade em polietileno hermeticamente fechado a 15 °C. Miranda (1987) armazenou durante 9 meses sementes com umidades de 9,9; 31,1 e 36,3%, em polietileno. Sguarezi et al. (2001) sugeriram o armazenamento de sementes de café com 35% de umidade e acondicionadas em embalagens de polietileno a 85% de UR a 20° C.

Dias e Barros (1993) observaram que o polietileno foi a embalagem mais eficiente para armazenar sementes com 37% por até 11 meses. Gentil (2001) constatou que as reduções do grau de umidade até 10% e da temperatura até 10°C são favoráveis à manutenção da qualidade fisiológica das sementes de café arábica. Resultados semelhantes foram relatados por Miglioranza (1982), quando concluiu que para o sucesso do armazenamento, sementes de *Coffea arábica L.* devem ser acondicionadas em embalagens herméticas com graus de umidade próximos a 9,0%. Esse autor ainda observou que, nessas condições, umidades entre 24% e 50% induziram as sementes à morte, em tempo inferior a 6 meses. Araújo (1988) armazenou sementes de café arábica com 48,3%; 21,6%; 15,8% e 13,1% de umidade em embalagens de pano e de polietileno, em câmara fria (3 a 4 °C e 80 a 85% de UR) e em condições de laboratório, concluindo que a umidade de 48,3% e acondicionamento no pano foi o melhor tratamento em

condições de laboratório, e em polietileno, os melhores resultados foram sempre obtidos para sementes com menor umidade.

Assim, observa-se uma grande divergência entre os resultados dos diferentes trabalhos de pesquisa com sementes de café, encontrados na literatura. Dos resultados de vários trabalhos realizados na década de oitenta, as sementes de café foram classificadas como intermediárias, ou seja, toleraram dessecação até níveis próximos a 10% de umidade e não toleraram o armazenamento a baixas temperaturas (ELLIS; HO; ROBERTS, 1990; ELLIS; HONG; ROBERTS, 1991; HONG; ELLIS, 1992). O maior obstáculo em armazenar sementes de comportamento intermediário é o conhecimento do limite de água o qual as sementes podem ser secadas, e a interação com temperatura de armazenamento.

Durante o armazenamento, a temperatura é um dos fatores ambientais que afeta a longevidade da semente. Devido às dificuldades encontradas para a conservação das sementes de café, estudos para compreensão dos mecanismos envolvidos na tolerância à exposição em temperaturas subzero progrediram significativamente nos últimos anos.

O grande desafio em armazenar sementes a baixas temperaturas é realizar um congelamento sem a formação de cristais de gelo no interior das células. A formação de gelo no meio intracelular causa ruptura do sistema de membranas celulares, resultando em perda da semipermeabilidade e da compartimentação celular; em consequência disso, as células entram em colapso e morrem (FUJIKAWA, 1980). Sementes com elevados teores de água, ortodoxas ou recalcitrantes, são suscetíveis a danos causados por temperaturas negativas, devido à formação de cristais de gelo nos tecidos, provocando perda na viabilidade. Danos mecânicos sofridos pelas células advêm de dois fenômenos: o comportamento peculiar da água, que se expande ao congelar-se, e a conformação dos cristais de gelo (FUJIKAWA, 1980; GUY, 2003).



A formação intracelular de cristais de gelo irá ocorrer caso os tecidos celulares sejam congelados no estado hidratado. Portanto, a água precisa ser removida antes do congelamento, para evitar o dano causado pelos cristais de gelo. Entretanto, a desidratação não é um processo trivial, porque a água tem muitas funções biológicas fundamentais nas células de organismos vivos, como a organização das membranas celulares e a regulação dos processos bioquímicos.

Segundo Ellis et al. (1991), Ellis, Ho e Roberts (1990) e Ellis, Hong e Roberts (1991), sementes de mamão, café e dendê, quando desidratadas entre 8% e 10% graus de umidade e armazenadas sob temperaturas próximas e abaixo de zero, apresentam perda do poder germinativo durante armazenagem, mesmo sendo classificadas como intermediárias quanto ao comportamento.

Van der Vossen (1979) relatou que armazenar sementes de café a 5 ° C, resulta em uma perda imediata de viabilidade. Porém, há relatos de sobrevivência de sementes de café em temperaturas abaixo de zero. Tem sido comprovado em trabalhos de pesquisas que as sementes de *Coffea arabica* L. com conteúdo de água ajustado entre 0,11 e 0,12 g H<sub>2</sub>O. g<sup>-1</sup> dw , sobrevivem a temperaturas de -10 ou -16 ° C por 10 dias (WELLMAN; TOOLE ,1960). Ellis, Ho e Roberts (1990) estudando diversas cultivares de *Coffea arabica*, observaram a sobrevivência das sementes após o armazenamento a -20 °C, apenas se o teor de água das sementes estiver entre 0,10 e 0,12 g H<sub>2</sub>O. g<sup>-1</sup> dw . Resultados semelhantes foram obtidos por Eira et al. (1999) para *C. racemosa* , *C. arabica* , *C. canephora* , *C. congensis* e *C. Dewevrei*.

Hong e Ellis (1992) estudando dezessete lotes de sementes de café observaram que apenas dois lotes germinaram após o armazenamento a -20°C, independente do tempo de exposição a essa temperatura. Eira et al. (1999) relataram que a grande maioria de sementes das seis cultivares de café estudadas sobreviveram ao armazenamento a -20°C durante 30 dias, com teor de água de

0,12 g H<sub>2</sub>O. g<sup>-1</sup> dw. Porém, se o teor de água é aumentado, as sementes perdem rapidamente sua viabilidade.

Os efeitos do conteúdo de água e temperatura são interdependentes e o teor de água crítico sempre aumenta com a diminuição da temperatura (DUSSERT et al., 1997,1998; EIRA; WALTERS; CALDAS, 1999).

## **2.5 Atividade enzimática e deterioração de sementes**

Nas sementes, as principais alterações relacionadas ao processo de deterioração são degradação e inativação de enzimas (COPELAND; MCDONALD, 2001), redução da atividade respiratória (VIDIGAL et al., 2006, 2008) e perda de integridade das membranas celulares (McDONALD, 1999). Copeland e McDonald (2001) destacaram que para detectar o início da deterioração das sementes, as avaliações mais sensíveis são aquelas relacionadas à atividade de enzimas associadas à biossíntese em tecidos novos, uma vez que, com o processo de deterioração das sementes, as enzimas tornam-se menos eficientes para exercer sua atividade catalítica.

Tem sido sugerido que a perda de viabilidade durante a secagem e o armazenamento de sementes de diversas espécies sensíveis à dessecação é acompanhada por um acúmulo de radicais livres. Esses radicais livres podem reagir com peróxidos de hidrogênio, produzindo oxigênio singleto e radical hidroxil (OH), tóxicos às células (HENDRY, 1993) e capazes de danificar constituintes celulares, tais como, proteínas, DNA's e membranas (HOEKSTRA et al., 1996).

Os radicais livres acumulam porque sistemas removedores não são efetivos em organismos desidratados (HENDRY, 1993). Segundo Hoekstra et al. (1996), a atividade de radicais livres pode ser atenuada por removedores e pela presença do citoplasma no estado vítreo em sementes. As sementes, de uma

maneira geral, são bem providas de moléculas antioxidantes e sistemas removedores, tais como, os solúveis em lipídios (isômeros de tocoferol-vitamina E e  $\beta$ -caroteno) ou os solúveis em água (ácido ascórbico-vitamina C e glutathione).

A oxidação é uma parte fundamental da via aeróbica e do metabolismo e, assim, os radicais livres são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica. Esses radicais livres, cujo elétron desemparelhado encontra-se centrado nos átomos de oxigênio ou nitrogênio são designados como espécies reativas de oxigênio (EROs) ou espécies reativas de nitrogênio (ERNS), ambas com um ou mais elétrons desemparelhados (HENDRY, 1993).

Os marcadores isoenzimáticos têm sido empregados em estudos de viabilidade de sementes, pois são eficientes para o conhecimento de eventos importantes do tempo de vida, das mudanças deteriorativas e da morte das sementes (BASU, 1995). A análise de isoenzimas tem possibilitado o desenvolvimento de métodos rápidos, sensíveis e específicos na determinação da qualidade fisiológica de sementes (CHAUHAN; GOPINATHAN; BABU, 1985; ROSA, 2011).

Segundo Nkang, Omokaro e Egbe (2000), é possível que a atividade e estrutura de certas enzimas ou proteínas estruturais, em sementes sensíveis à dessecação, sejam permanentemente alteradas pela secagem, resultando em perda de atividade biológica. Enzimas removedoras de radicais livres, como superóxido dismutase e catalase podem reduzir os produtos tóxicos resultantes do ataque de radicais livres, antes que os danos possam ocorrer, segundo os mesmos autores.

A superóxido dismutase (SOD) são um grupo de enzimas que catalisam a reação de dismutação de radicais livres ( $O_2^-$ ) produzidos em diferentes locais na célula, para oxigênio molecular ( $O_2$ ) e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). Essas isoenzimas estão localizadas no citoplasma celular e matriz mitocondrial

(SCANDÁLIOS, 1974). Halliwell e Gutteridge (1989) descreveram que a SOD exerce um importante papel em proteger a célula contra os efeitos deletérios de radicais superóxidos livres, sendo considerada chave na regulação de concentrações intracelulares de radicais superóxidos e peróxidos.

Em milho, a atividade de SOD e peroxidase é severamente prejudicada por dessecação imposta a radículas intolerantes à dessecação (LEPRINCE et al., 1990). Uma diminuição da proteção enzimática contra ataque oxidativo também foi associada à perda de viabilidade em sementes durante a secagem (HENDRY, 1993).

Nos glioxissomos e peroxissomos (WILLEKENS et al., 1995) está localizada a catalase (CAT), que é conhecida como removedora de radicais livres, pois desempenha o papel de desintoxicação de  $H_2O_2$  (tóxico para a planta), transformando a  $H_2O_2$  em  $H_2O$  e  $O_2$ . Esses radicais livres liberados danificam as membranas, o que culmina nas reações destrutivas. Assim, o funcionamento das mitocôndrias, nas quais as reações químicas da respiração acontecem, fica comprometido, juntamente com o fornecimento de energia e compostos secundários para a síntese de proteínas (LENINGHER et al., 1995).

## REFERÊNCIAS

ARAÚJO, R. F. **Influência do teor de umidade, da embalagem e do ambiente de armazenamento na conservação de sementes de café (*C. arabica* L.)**. 1988. 56 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1988.

BASU, R. N. Seed viability. In: BASRA, A. S. **Seed quality**: basic mechanisms and agricultural implications. New York: The Haworth, 1995. p. 1-42.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds**: physiology of development and germination. New York: Plenum, 1994. 445 p.

BLACK, M. et al. Water content, raffinose and dehydrins in the induction of desiccation tolerance in immature wheat embryos. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 120, p. 463-471, 1999.

BOCHICCHIO, A. et al. Desiccation tolerance in immature embryos of maize: sucrose, raffinose and the aba-sucrose relation. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON SEEDS: BASIC AND APPLIED ASPECTS OF SEED BIOLOGY, 15., 1996, Reading. **Proceedings...** Reading: University of Reading, 1996. p. 1-12.

BRUNI, F. B.; LEOPOLD, A. C. Cytoplasmic glass formation in maize embryos. **Seed Science Research**, New York, v. 2, n. 4, p. 251-253, 1992.

CADDAH, M. K.; ANDRADE, B. O.; MEDEIROS, A. C. S. Efeitos da desidratação e do armazenamento em sementes de *Magnolia ovata* St. Hil. Magnoliaceae. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v. 15, n. 1/3, p. 285, 2005.

CARVALHO, L. R. **Conservação de sementes de espécies dos gêneros *Nectandra*, *Ocotea* e *Persea* (Lauraceae)**. 2006. 75 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: Funep, 2000. 588 p.

CHAUHAN, K. P. S.; GOPINATHAN, M. C.; BABU, C. R. Electrophoretic variations of proteins and enzymes in relation to seed quality. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 13, p. 629-641, 1985.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira**. Brasília, 2014.

COPELAND, L. D.; MCDONALD, M. B. **Principles of seed science and technology**. 4th ed. New York: Chapman & Hall, 2001. 467 p.

DIAS, M. C. L. L.; BARROS, A. S. R. Conservação de sementes de café (*Coffea arabica* L.) em diferentes embalagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 15, n. 2, p. 197-202, 1993.

DUSSERT, S. et al. Basis of coffee seed sensitivity to liquid nitrogen exposure: oxidative stress or imbibitional damage? **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 119, p. 534–543, 2003.

DUSSERT, S. et al. Biologie de la conservation des semences de caféiers : aspects fondamentaux et conséquences pratiques: une revue. **Cahiers Agricultures**, Montpellier, v. 21, n. 8, p. 2–3, mars-avril/ mai-juin 2012.

DUSSERT, S. et al. Cryopreservation of coffee (*Coffea arabica* L.) seeds: importance of the precooling temperature. **CryoLetter**, Montpellier, v. 18, p. 269–276, 1997.

DUSSERT, S. et al. 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**, Wallingford, v. 8, p. 9-15, 1998.

DUSSERT, S. et al. Oxidative stress, phospholipid loss and lipid hydrolysis during drying and storage of intermediate seeds. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 127, n. 1, p. 192-204, 2006.

DUSSERT, S. et al. Tolerance of coffee (*Coffea* spp.) seeds to ultralow temperature exposure in relation to calorimetric properties of tissue water, lipid composition and cooling procedure. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 112, p. 495–504, 2001.

EIRA, M. T. S. et al. Conservation of genetic resources of *Coffea* using cryopreservation. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON SEED BIOLOGY, 7., 2002, Salamanca. **Proceedings...** Salamanca: [s. n.], 2002. p. 191.

EIRA, M. T. S. et al. Tolerance of *Coffea* spp. seeds to desiccation and low temperature. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 11, p. 97–105, 1999.

EIRA, M. T. S.; WALTERS, C.; CALDAS, L. S. Water sorption properties in *Coffea* spp. seeds and embryos. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 9, p. 321–330, 1999.

ELLIS, R. H. et al. Seed storage behaviour in *Elaeis guineensis*. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 1, p. 99-104, 1991.

ELLIS, R. H.; HO, G. T. D.; ROBERTS, E. H. An intermediate category of seed storage behaviour? **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 41, n. 230, p. 1167-1174, 1990.

ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. Effect of temperature and moisture content on the germination of papaya seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 1, p. 69-72, 1991.

FARRANT, J. M.; BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. The effect of drying rate on viability retention of recalcitrant propagules of *Avicennia marina*. **South African Journal of Botany**, Pretoria, v. 51, p. 432-438, 1985.

FARRANT, J. M.; PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. Seed development in relation to desiccation tolerance: a comparison between desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds of *Avicennia marina* and desiccation-tolerant types. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, p. 1-13, 1993.

FINCH-SAVAGE, W. E. Seed development in the recalcitrant species *Quercus robur* L.: germinability and desiccation tolerance. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 2, p. 17-22, 1992.

FRANKS, F. The properties of aqueous solutions at subzero temperatures. In: FRANKS, F. (Ed.). **Water: a comprehensive treatise**. Nova York: Plenum, 1982. p. 215-338.

FUJIKAWA, S. Freeze-fracture and etching studies on membrane damage on human erythrocytes caused by formation of intracellular ice. **Cryobiology**, San Diego, v.17, p. 351-362, 1980.

GENTIL, D. F. O. Conservação de sementes do cafeeiro: resultados discordantes ou complementares? **Bragantia**, Campinas, v. 60, n. 3, p. 333-338, 2001.  
GUY, C. L. Freezing tolerance of plants: current understanding and selected emerging concepts. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 81, p. 1216-1223, 2003.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. Oxford: Clarendon, 1989. 543 p.

HENDRY, G. A. F. Oxygen, free radical processes and seed longevity. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, n. 2, p. 141-153, 1993.



HERTER, U.; BURRIS, J. S. Preconditioning reduces the susceptibility to drying injury in corn seed. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v. 69, p. 775-789, 1989.

HOEKSTRA, F. A. et al. Desiccation tolerance and long term structural stability. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON SEEDS: BASIC AND APPLIED ASPECTS OF SEED BIOLOGY, 5., 1995, Reading. **Proceedings...** Reading: University of Reading, 1996. p. 1-12.

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. **A protocol to determine seed storage behaviour**. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 1996. 55 p. (Technical Bulletin, 1).

HONG, T. D.; ELLIS, R. H. Optimum air-dry seed storage environments for *Arabica coffee*. **Seed Science and Technology**, Zurich, n. 20, p. 447-560, 1992.

INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION. **Monthly coffee market report**. Disponível em: <<http://www.ico.org>>. Acesso em: 22 jul. 2014.

JOSÉ, A. C. et al. Effects of drying rate and storage time on *Magnolia ovate* Spreng: seed viability. **Seed Science and technology**, Zurich, v. 39, n. 2, p. 425-434, July 2011.

KUNDU, M., KACHARI, J. Desiccation sensitivity and recalcitrant behavior of seeds of *Aquilaria agallocha* Roxb. **Seed Science and Technology**, Zurich, n. 28, p. 755-760, 2000.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L. **Princípios de bioquímica**. New York: Sarvier, 1995.

LEPRINCE, O. et al. The role of free radicals and radical processing systems in loss of desiccation tolerance in germinating maize (*Zea mays* L.). **New Phytologist**, London, v. 116, n. 4, p. 573-580, Dec. 1990.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, 2005. 495 p.

MCDONALD, M. B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 27, n. 1, p. 177-237, 1999.

MEIRELES, R. C. **Efeito do hipoclorito de sódio e da embebição em água na germinação de sementes de café (Coffea arabica L.)**. 2004. 67 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2004.

MEIRELES, R. C. et al. Secafé: metodologia para acelerar a germinação das sementes de café. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 3, p. 90-96, jun. 2007.

MIGLIORANZA, E. **Conservação de sementes de café (Coffea arabica L. cv. Catuai) com diferentes teores de umidade, armazenadas em embalagens hermeticamente fechadas**. 1982. 60 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 1982.

MIRANDA, J. M. **Estudo de alguns fatores que influenciam a duração da viabilidade de sementes de café (Coffea arabica L. cv. Catuai)**. 1987. 60 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1987.

NKANG, A.; OMOKARO, D.; EGBE, A. Effects of desiccation on the lipid peroxidation and activities of peroxidase and polyphenoloxidase in seeds of *Telfairia occidentalis*. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 28, n. 1, p. 1-9, 2000.

PAMMENTER, N. W.; BERJAK, P. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 9, p. 13-37, 1998.

PEREIRA, C. E. et al. Determinação de inibidores da germinação no endosperma de sementes de café (*Coffea arabica* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 24, n. 1, p. 306-311, 2002.

PIMENTA, C. J. **Qualidade de café**. Lavras: UFLA, 2003. 304 p.

PRITCHARD, H. W. Water potential and embryonic axis viability in recalcitrant seeds of *Quercus rubra*. **Annals of Botany**, Oxford, v. 67, p. 43-49, 1991.

REIS, L. S. et al. Lercafé: novo teste para estimar o potencial germinativo de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 32, n. 1, p. 9-16, 2010.

RENA, A. B.; MAESTRI, M. Fisiologia do cafeeiro. In: RENA, A. B. et al. **Cultura do cafeeiro: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: Potafos, 1986. p. 13-85.

ROBERTS, E. H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, p. 499-514, 1973.

ROGERSON, N. E.; MATTHEWS, S. Respiratory and carbohydrate changes in developing pea (*Pisum sativum* L.) seeds in relation to their ability to withstand desiccation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 28, p. 304-313, 1977.

ROSA, S. D. V. F. et al. Cafeína exógena inibe o desenvolvimento In Vitro de embriões de *Coffea arabica* L. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 28., 2002, Caxambu. **Anais...** Caxambu: [s. n.], 2003. p. 164-166.

ROSA, S. D. V. F. et al. Effects of diferente drying rates on the physiological quality of *Coffea canephora* Pierre seeds. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v. 17, n. 2, p. 199-205, Mar./Apr. 2005.

ROSA, S. D. V. F. et al. Indução de tolerância à alta temperatura de secagem em sementes de milho por meio de pré-condicionamento à baixa temperatura. **Revista Brasileira do Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, p. 290-310, 2004.

ROSA, S. D. V. F. et al. Perfil isoenzimático em sementes de café produzidas sob manejo orgânico. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 7, 2011, Araxá. **Anais...** Araxá: [s. n.], 2011. 1 CD ROM.

RUBIM, R. F. et al. Tratamento com hipoclorito de sódio para remoção do pergaminho e aceleração da germinação de sementes de café conilon. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 32, n. 4, p. 88-98, 2010.

SANHEWE, A. J.; ELLIS, R. H. Seed development and maturation in *Phaseolus vulgaris*. I. Ability to germinate and to tolerate desiccation. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 47, p. 949-958, 1996.

SCANDÁLIOS, J. G. Isozymes in development and differentiation. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 25, n. 1, p. 225-258, 1974.

SGUAREZI, C. N. et al. Avaliação de tratamentos pré-germinativos para melhorar o desempenho de sementes de café (*Coffea arabica* L.). II processo de umidificação. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 162-170, 2001.

SILVA, E. A. A. et al. Abscisic acid controls embryo growth potential and endosperm cap weakening during coffee (*Coffea arabica* cv. Rubi) seed germination. **Planta**, Wageningen, v. 220, p. 251-261, Mar./June 2004.

SUN, W.; MOTANGU, M. V.; VERBRUGGEN, N. Small heat shock proteins and estresse tolerance in plants. **Biochimica Biophysica Acta**, Paris, v. 1577, n. 1, p. 1-9, Aug. 2002.

TOMPSETT, P. B. Desiccation studies in relation to the storage Araucaria seed. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 105, n. 3, p. 581-586, 1984.

VAN DER VOSSEN, H. A. M. Methods of preserving the viability of coffee seed in storage. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 7, p. 65-74, 1979.

VERTUCCI, C. W.; FARRANT, J. M. Acquisition and loss of desiccation tolerance. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: M. Dekker, 1995. p. 237-271.

VERTUCCI, C. W.; LEOPOLD, A. C. Water binding in legume seeds. **Plant Physiology**, Rockville, v. 85, n. 1, p. 224-231, 1987.

VERTUCCI, C. W. Predicting the optimum storage conditions for seeds using thermodynamic principles. **Journal Seed Technology**, Lansing, v. 17, n. 2, p. 41-53, 1993.

VERTUCCI, C. W.; ROOS, E. E. Theoretical basis of protocols for seed storage. **Plant Physiology**, Rockville, v. 94, n. 3, p. 1019-1023, 1990.

VIDIGAL, D. S. et al. Qualidade fisiológica de sementes de tomate em função da idade e do armazenamento pós-colheita dos frutos. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 3, p. 87-93, 2006.

VIDIGAL, D. S. et al. Teste de condutividade elétrica para sementes de pimenta. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 30, n. 1, p. 168-174, 2008.

VIEIRA, A. R. et al. Armazenamento de sementes de cafeeiro: ambientes e métodos de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 1, 2007.

VILLELA, F. A.; MARCOS FILHO, J. Estados energéticos e tipos de água na sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, p. 317-321, 1998.

WALTERS, C. et al. Desiccation damage, accelerated ageing and respiration in desiccation tolerant and sensitive seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 11, p. 135-148, 2001.

WELLMAN, F. L.; TOOLE, V. K. Coffee seed germination as affected by species, diseases and temperature. **Proceedings of the Society for Horticultural Science**, Geneva, v. 4, p. 1-6, 1960.

WILLEKENS, H. et al. Catalases in plants. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 1, p. 207-288, 1995.

ZONTA, J. B. et al. Teste lercafé para sementes de cafeeiro com diferentes teores de água. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 32, n. 1, p. 17-23, ago. 2010.

**CAPÍTULO 2 QUALIDADE DE SEMENTES DE CAFÉ SUBMETIDAS À  
SECAGEM RÁPIDA E LENTA**

## RESUMO

Sementes de café têm alta sensibilidade à dessecação, o que tem dificultado o armazenamento e a obtenção de mudas com padrão de qualidade. São vários os fatores que influenciam na qualidade das sementes de café e, entre esses fatores, a secagem e o grau de umidade parecem influenciar a qualidade, principalmente em função da sensibilidade das sementes à dessecação. Secagem lenta pode induzir tolerância à dessecação de sementes ortodoxas, mas em contraste, em sementes sensíveis resulta em menor tolerância, sendo que quanto mais rápida a secagem, menor é o teor de água, no qual as sementes podem ser secadas sem perder a viabilidade. Nesta pesquisa, objetivou-se investigar as alterações fisiológicas em sementes de café recém-colhidas e submetidas à secagem em soluções salinas saturadas e em sílica gel. O trabalho foi realizado no Laboratório Central de Sementes da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Foram utilizadas sementes da safra 2012/2013, da espécie *Coffea arabica* L., cultivar Catuaí Amarelo IAC 62, submetidas a diferentes taxas de secagem rápida em sílica gel e, secagem lenta em solução salina saturada. A perda de água durante a secagem foi monitorada por pesagens contínuas até que as sementes atingissem os teores de água de interesse de 40, 30, 20, 15, 10, 5% (base úmida). A determinação da qualidade fisiológica das sementes foi realizada por meio da porcentagem de germinação, plântulas normais fortes, plântulas com folhas cotiledonares expandidas, bem como matéria seca de plântulas, condutividade elétrica e teste de tetrazólio. Pode-se concluir que a secagem é prejudicial às sementes de café, independentemente da taxa em que são secadas. Teor de água de 5% é altamente prejudicial à qualidade das sementes de café e teores próximos de 30% causam redução da viabilidade e do vigor das sementes. A melhor qualidade fisiológica foi obtida em sementes com 40% e secadas lentamente até 20% de umidade; e em sementes submetidas à secagem rápida, até 10 e 15% de umidade.

**Palavras-chave:** dessecação, deterioração, germinação.



## ABSTRACT

Coffee seeds have high sensitivity to desiccation, which has hindered the storage and the obtainment of seedlings with standard quality. There are several factors that influence the quality of coffee seeds and, among these factors, the drying and the moisture content seem to influence the quality, mainly due to the sensitivity of seeds to desiccation. Slow drying can induce desiccation tolerance of orthodox seeds, but in contrast, in sensitive seeds results in less tolerance, and faster drying, lower the water content at which seeds can be dried without losing viability. This research aimed to investigate the physiological changes in coffee seeds dried in saturated salt solutions and silica gel. The study was conducted at the Central Seed Laboratory of the Federal University of Lavras (UFLA). Seeds of 2012/2013 crop of *Coffea arabica* L. Catuaí Yellow IAC 62 were used, submitted to different drying rates, rapid silica gel and slow drying in brine. The loss of water during drying was monitored by weighing continuing until the seeds reach the water content of interest, 40, 30, 20, 15, 10, 5% (wet basis). The physiological quality of seeds was performed by means of germination, strong normal seedlings, seedlings with expanded cotyledons, seedling dry, electrical conductivity and tetrazolium. It can be concluded that the drying is detrimental to coffee beans regardless of the rate at which they are dried. Content of 5% water is highly detrimental to the quality of coffee seeds and levels close to 30% because of reduced viability and seed vigor. The best physiological seed quality was obtained with 40% and slowly dried to 20% moisture; and seeds subjected to rapid drying, to 10 and 15% of humidity.

**Keywords:** drying, decay, germination.

## 1 INTRODUÇÃO

O café é um importante produto da balança comercial brasileira, sendo o Brasil o maior produtor e exportador. Em 2013 o Brasil produziu aproximadamente 53 milhões de sacas (CONAB, 2014), e Minas Gerais destaca-se como principal estado produtor. Diante disso, há uma grande demanda por mudas dessa espécie, e sendo as mudas formadas a partir de sementes tornam-se necessários estudos para elucidar os problemas referentes à qualidade das sementes do cafeeiro.

Sementes de café têm germinação lenta e desuniforme, além do baixo potencial de armazenamento e da sensibilidade à dessecação, o que tem dificultado a obtenção de mudas com padrão de qualidade desejado e no momento climático ideal ao plantio, dentro do mesmo ano de colheita.

São vários os fatores que influenciam na qualidade das sementes de café e dentre esses fatores, a secagem e o grau de umidade parecem influenciar a qualidade, principalmente em função da sensibilidade das sementes à dessecação. Dessa forma, conhecer o comportamento fisiológico e bioquímico das sementes quanto à capacidade de tolerar a secagem é de fundamental importância para proporcionar condições adequadas que garantem a manutenção da viabilidade das sementes (BRANDÃO JÚNIOR, 1999), principalmente para programas de conservação de germoplasma.

De modo geral, as sementes são classificadas em três grupos em relação à capacidade de tolerar a secagem e o armazenamento. Sementes de comportamento ortodoxas suportam a secagem a teores de água próximos a 5% e podem ser armazenadas em baixas temperaturas (sub zero) por longos períodos de tempo. As sementes recalcitrantes não apresentam tais características e perdem rapidamente a qualidade quando submetidas a essas condições (ROBERTS, 1973).

Sementes de comportamento intermediário suportam parcialmente a desidratação (cerca de 10 a 13 % de umidade), mas perdem a viabilidade quando armazenadas em temperaturas baixas (subzero) por longos períodos de tempo (DUSSERT, 2006, 2012; BRANDÃO JUNIOR, 2000; GENTIL, 2001). Porém, nem todas as espécies se comportam de forma semelhante, havendo um gradiente contínuo de sensibilidade à dessecação entre espécies ortodoxas e recalcitrantes (KERMODE; FINCH-SAVAGE, 2002).

A água apresenta diversas funções fisiológicas e bioquímicas nas sementes, dentre elas a organização das membranas celulares e a regulação dos processos bioquímicos. O comportamento fisiológico das sementes pode ser entendido pelo estudo das relações hídricas, pois o teor de água modifica com a fase de maturação das sementes (MARCOS FILHO, 2005).

O estado da água interfere nas reações metabólicas, sendo que cada grau de hidratação da semente durante o armazenamento se relaciona diretamente aos mecanismos de deterioração (VILLELA; MARCOS FILHO, 1998). A análise das propriedades da água nas sementes é complexa, sendo que, conforme suas propriedades termodinâmicas são observados os diferentes tipos de água que podem representar estados de equilíbrio (líquido e cristalino) e não equilíbrio (vítreo) e caracterizar fases distintas (VERTUCCI, 1990).

Em geral, as sementes que são secadas mais rapidamente podem sobreviver a menores teores de água. Quando a desidratação é rápida, não há tempo suficiente para o acúmulo de danos que ocorrem durante a secagem. No entanto, independentemente da taxa de secagem, há um limite absoluto inferior abaixo do qual as sementes recalcitrantes e intermediárias não vão sobreviver. Na secagem lenta a conteúdos altos de água, o dano acumula e leva a perda de viabilidade das sementes.

Em estudos sobre os efeitos das velocidades de secagem e da temperatura sobre o desempenho de sementes de *C. canephora* no

armazenamento foram observados efeitos significativos da velocidade de secagem. Há evidências de que a secagem rápida permite alcançar menores teores de água nas sementes sem que haja perda na sua qualidade fisiológica (BERJAK et al., 1990; FARRANT; BERJAK; PAMMENTER, 1986; PAMMENTER E BERJAK, 1998).

Pammenter e Berjak (2000) relataram que a remoção de água da semente pode causar danos físicos nos tecidos, desordenando o metabolismo e consequentemente afetando a capacidade de germinação.

Não existem trabalhos conclusivos sobre o melhor tipo de secagem e comparáveis. A conservação de sementes de café tem sido objeto de estudo de muitos pesquisadores, porém, verifica-se uma grande controvérsia nos resultados obtidos em trabalhos que visam encontrar condições favoráveis que permitam prolongar a viabilidade das sementes dessa espécie. Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho investigar as alterações fisiológicas em sementes de café submetidas a diferentes velocidades de secagem, em soluções salinas saturadas e em sílica gel.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local e espécie utilizada**

O trabalho foi realizado no Laboratório Central de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Foram utilizadas sementes da safra 2012/2013, da espécie *Coffea arábica L.*, cultivar Catuaí Amarelo IAC 62.

### **2.2 Colheita, seleção e processamento das sementes**

Os frutos de café foram colhidos na Fazenda Experimental do Procafé, em Varginha, localizada a aproximadamente 110 Km de Lavras. Varginha apresenta como características geográficas uma altitude de 980 m, sendo o clima classificado como Tropical de altitude Cwb.

Os frutos no estágio de maturação cereja foram seletivamente colhidos nos ramos médios das plantas e nas partes medianas dos ramos. Após a colheita dos frutos, esses foram selecionados mais uma vez para uniformização do estágio de maturação e descascados mecanicamente. Após o descascamento, as sementes foram desmuciladas por fermentação em água por 24 horas. Após a desmucilagem, as sementes foram mantidas na sombra para uma pré-secagem, para retirada da umidade superficial. Para uniformização do tamanho foram utilizadas as sementes retidas na peneira de crivo circular nº20/64 x ¾, antes de serem submetidas aos tratamentos de secagem e armazenamento.

### 2.3 Secagem das sementes

As sementes de café foram secadas até diferentes teores de água em ambientes com temperatura e umidades relativas controladas. Foram realizados dois tipos de secagem, rápida e lenta, utilizando-se caixas de acrílico do tipo gerbox, devidamente lacradas com papel filme, para que não ocorresse mudança de umidade relativa dentro do recipiente, por meio de trocas gasosas com o meio externo.

Para a secagem rápida as sementes foram colocadas sobre um telado em camada única em recipiente hermético contendo sílica gel ativada. A sílica foi trocada antes que houvesse mudança na coloração do seu indicador de umidade. Na secagem lenta, utilizaram-se soluções salinas saturadas capazes de manter a umidade relativa interna estável. As soluções salinas foram colocadas no fundo do recipiente, e as sementes em camada única sobre uma tela sem tocar nas soluções. A solução salina foi preparada dissolvendo-se o sal específico em água. Para a retirada da primeira umidade de 40% foi utilizado o sal cloreto de lítio. Para a umidade de 30% foi utilizado o cloreto de sódio e para as demais umidades, 20, 15, 10 e 5%, o sal cloreto de magnésio hexahidratado. Os sais, as concentrações e as umidades relativas proporcionadas pelas soluções salinas saturadas estão sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1 Soluções salinas saturadas utilizadas na secagem lenta de sementes de *Coffea arabica* L

Sal para Solução salina	Concentração	Umidade relativa de equilíbrio a 25°C
LiCl	50g/1000 mL H <sub>2</sub> O	95%
NaCl	Solução saturada	75%
MgCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	Solução saturada	35%

Os recipientes contendo as soluções salinas, a sílica gel e as sementes foram acondicionados em câmaras do tipo B.O.D, sob temperatura constante de 25°C. A perda de água durante a secagem foi monitorada por pesagens contínuas em balança de precisão de 0,001 g, até que as sementes atingiram os teores de água de interesse, de 40, 30, 20, 15, 10, 5% (base úmida). As sementes foram, então, acondicionadas em embalagem impermeável e colocadas em câmara fria e seca, até que todas as umidades foram obtidas. Depois de obtidas as sementes com os seis diferentes teores de água foram realizados os testes fisiológicos. O cálculo das umidades foi realizado por meio da equação 1 descrita por Cromarty et al. (1985):

$$M_f = M_i (100 - U_i) / (100 - U_f) \quad (1)$$

Onde:

$M_f$  = Massa da amostra(g) após a secagem;

$M_i$  = Massa da amostra (g) antes da secagem;

$U_i$  = Grau de umidade (%) antes da secagem;

$U_f$  = Grau de umidade (%) desejado após a secagem.

## 2.4 Avaliações

Foram realizados teste para verificar a qualidade fisiológica das sementes de café, bem como a determinação do teor de água das mesmas.

### 2.4.1 Determinação do teor de água

A determinação do teor de água foi realizada pelo método de estufa a 105°C, durante 24 horas. Os resultados foram expressos em porcentagens com

base no peso úmido das sementes, de acordo com as Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009).

#### 2.4.2 Análises fisiológicas

Para avaliar a qualidade fisiológica das sementes, foram realizados os testes de germinação, porcentagem de plântulas normais fortes, de folhas cotiledonares expandidas aos 45 dias, matéria seca de plântulas, viabilidade pelo teste de tetrazólio e teste de condutividade elétrica.

- a. **Teste de germinação** - quatro repetições de 25 sementes sem os pergaminhos foram colocadas para germinar em folhas de papel do tipo germitest, umedecidas com água em quantidade igual a 2,5 vezes o peso do papel seco. As sementes foram mantidas em germinador, regulado à temperatura de 30°C e a porcentagem de plântulas normais foi avaliada após 30 dias, segundo as prescrições das RAS (BRASIL, 2009).
- b. **Plântulas normais fortes** – ao final do teste de germinação, foram também avaliadas as plântulas normais em fortes, de acordo com o comprimento do eixo hipocótilo. Foram consideradas como normais fortes as plântulas com eixo hipocótilo radícula de comprimento igual ou maior a 3 cm.
- c. **Plântulas com folhas cotiledonares expandidas** – aos 45 dias do início do teste de germinação, foram computadas as plântulas que apresentaram as folhas cotiledonares totalmente expandidas (estádio orelha de onça) e os resultados foram expressos em porcentagem.
- d. **Matéria seca de plântulas** – aos 45 dias do início do teste de germinação, o eixo hipocótilo-radícula das plântulas normais foi isolado, acondicionados em sacos de papel e colocados em estufa de circulação de ar a 60°C, durante cinco dias, ou até massa constante. Após esse



período foi determinada a matéria seca de raízes e de partes aéreas das plântulas, e os resultados expressos em miligramas por plântula.

- e. **Teste de tetrazólio** – foi realizado com quatro repetições de 10 sementes sem pergaminhos. As sementes foram colocadas em recipiente contendo água destilada para embebição por período de 48 horas, a 30°C (CLEMENTE et al., 2011). Após esse período, foi removido o embrião das sementes, com o auxílio de um bisturi, de tal forma que fossem evitados danos aos mesmos. Os embriões foram colocados em solução de tetrazólio a 0,5%, na ausência de luz, por período de 3 horas, a 30°C, para coloração. Após avaliação da viabilidade, os resultados foram expressos em porcentagem de embriões viáveis (BRASIL, 2009).
- f. **Condutividade elétrica** – foi realizado com quatro repetições de 25 sementes, sem pergaminhos, por tratamento. As sementes foram pesadas com precisão de 0,01 g, colocadas em copos plásticos contendo 37,5 ml de água deionizada e mantidas em BOD à temperatura de 25°C, durante 5 horas (PRETE, 1995). A medição da condutividade elétrica foi realizada utilizando-se condutivímetro digital de bancada para soluções aquosas, modelo McA150. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ . Utilizou-se para o cálculo a equação 2:

$$\text{CE} = (\text{CE solução} - \text{CE água})/\text{Peso (g)} \quad (2)$$

Onde:

CE = condutividade elétrica, em  $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$

## 2.5 Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2x6, sendo o primeiro fator correspondente a duas velocidades de secagem. A secagem rápida foi realizada em sílica gel e a lenta em soluções salinas saturadas. O segundo fator corresponde aos seis teores de água das sementes, 40,30,20,15,10 e 5%. O fator quantitativo dos teores de água foi analisado por meio de análise de regressão, por meio do programa estatístico SISVAR(FERREIRA,2003).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As curvas de secagem das sementes de café estão representadas na Figura 1. A taxa de secagem é decrescente à medida que as sementes perdem água. Sementes com umidade inicial de 42% (bu) e submetidas à secagem rápida levaram 577 horas para alcançar 4,2% de umidade, tendo uma velocidade média de secagem de  $0,062\% \cdot h^{-1}$ . Já na secagem lenta, as sementes levaram 1025 horas para alcançar cerca de 5,0% do teor de água, com velocidade média de secagem de  $0,034\% \cdot h^{-1}$ .

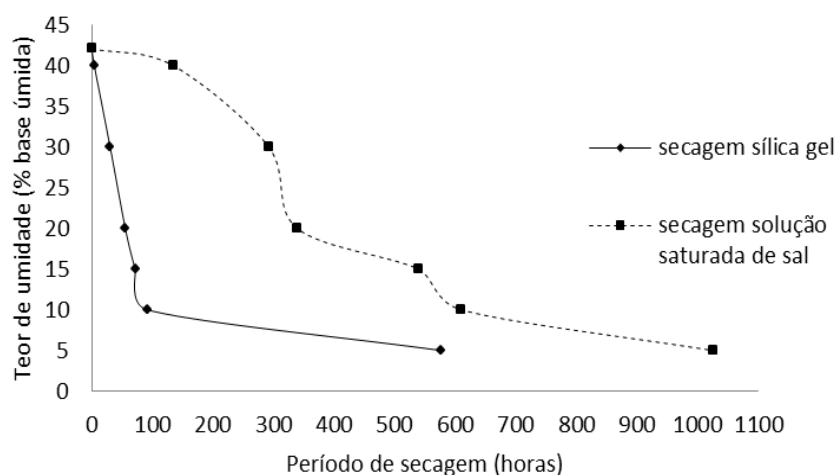


Figura 1 Curvas de secagem para sementes de *Coffea arabica L.*, submetidas à secagem rápida em sílica gel e lenta em soluções salinas saturadas

Os valores médios de teor de água das sementes utilizados no trabalho, determinadas logo após a retirada em cada ponto de secagem de interesse, nas duas velocidades de secagem estão representados na Tabela 2.

Tabela 2 Valores médios de teor de água das sementes de café, obtidas durante a secagem rápida em sílica gel e lenta em solução salina saturada

Teores de água de interesse (%)	Teores de água obtidos	
	Lenta	Rápida
40	40,2	39,3
30	29,3	31,8
20	20,8	20,3
15	14,9	15,0
10	10,9	9,3
5	5,2	4,2

Por meio das análises de variância, verificou-se que a interação entre os fatores velocidade de secagem e grau de umidade das sementes não foi significativa para as variáveis respostas - plântulas normais aos 30 dias e teste de tetrazólio. Para esses testes, o comportamento das sementes variou apenas com o grau de umidade (Figura 2). Para as variáveis respostas porcentagem de plântulas normais fortes, folhas cotiledonares expandidas, matéria seca de raiz e matéria seca de hipocótilo, bem como condutividade elétrica, houve interação significativa entre os fatores velocidade de secagem e grau de umidade das sementes (Figura 3).

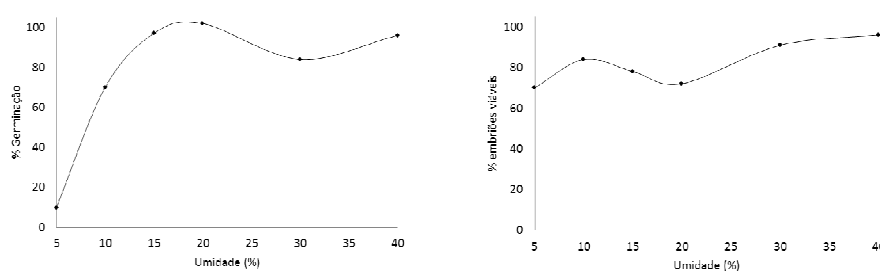


Figura 2 Porcentagem média de plântulas normais aos 30 dias e de embriões viáveis no teste de tetrazólio de sementes de café submetidas à secagem lenta e rápida

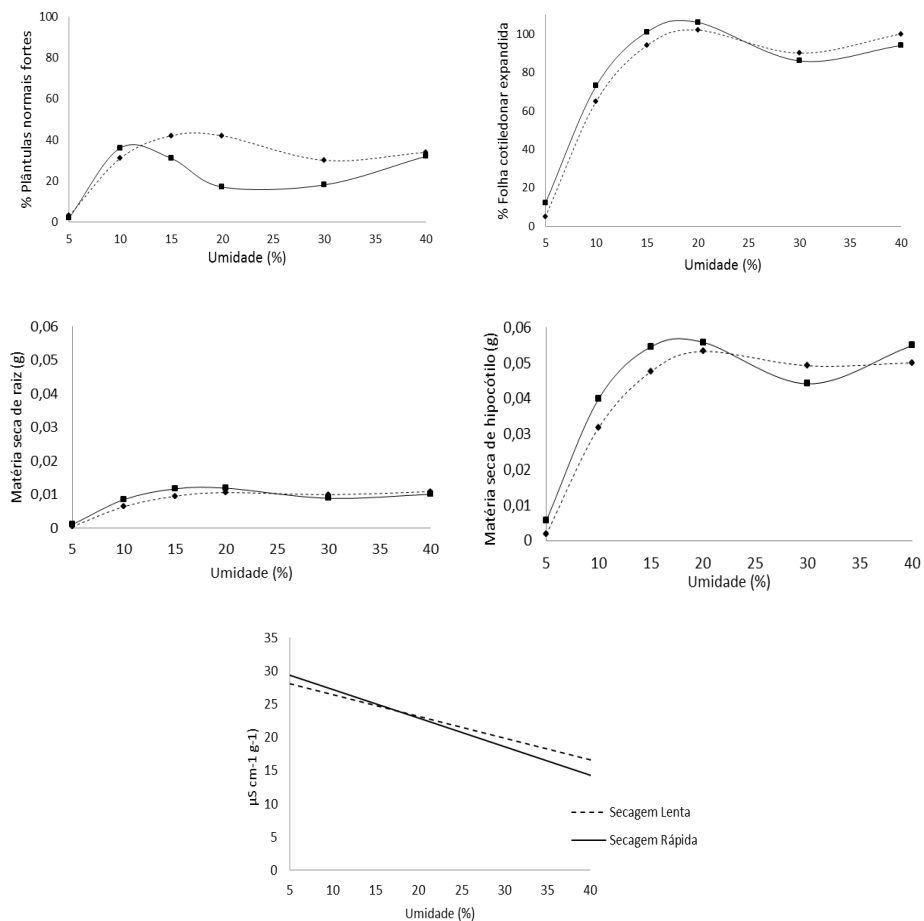


Figura 3 Porcentagem média de plântulas normais fortes, folhas cotiledonares expandidas, matéria seca de raiz, matéria seca de hipocótilo aos 45 dias, e condutividade elétrica de sementes de café submetidas à secagem lenta e rápida

A qualidade das sementes de café é reduzida com a secagem, independentemente da velocidade em que são secadas. Resultado semelhante

foi encontrado por Rosa et al. (2005), em que a redução do teor de água das sementes de *Coffea canephora* Pierre resultou em redução nos valores de germinação e de vigor, para as diferentes taxas de secagem utilizadas.

A secagem das sementes de café até níveis próximos a 5% é extremamente prejudicial à qualidade fisiológica das sementes, independentemente da taxa em que essas são secadas. Observa-se que na maioria dos testes fisiológicos, as sementes secadas até 5% apresentam vigor e viabilidade bem próximos de zero, confirmando o efeito letal desse teor de água para as sementes de café.

Observa-se na figura 2 que a maior porcentagem de germinação é adquirida quando as sementes atingem 15 e 20% de umidade. Entretanto, no teste de tetrazólio o melhor desempenho se encontra no teor de água de 40%, em que se observa maior percentual de embriões viáveis. No teor de água ao redor de 5%, observa-se uma alta porcentagem de embriões viáveis no teste de tetrazólio, enquanto no teste de germinação as sementes apresentaram baixa qualidade, sendo o percentual de germinação próximo de zero. Esses resultados corroboram com Dussert et al., 1998; Eira, 1999b, 2006, os quais demonstraram que a perda da germinação das sementes de café pode estar ligada à presença do endosperma, uma vez que quando se retira o embrião e coloca-se para germinar, observa-se uma alta porcentagem de plântulas normais.

Porém, observa-se que na secagem rápida as sementes podem alcançar menores teores de água sem comprometer a qualidade fisiológica. Esse resultado foi também encontrado por Farrant, Berjak e Pammenter, 1986; Pammenter e Berjak., 1997 e 1998, que concluíram que a secagem rápida é preferível quando se deseja alcançar níveis mais baixos de umidade.

Segundo Silva et al. (2007), a secagem lenta pode promover melhor tolerância à dessecação devido ao tempo que é concedido para a indução e a operação de mecanismos de proteção para sementes ortodoxas. Oliver e Bewley

(1997) sugeriram que a secagem rápida pode impedir os processos ligados à recuperação, sendo necessário um tempo maior para os reparos na reidratação.

José et al. (2011), ao estudar o efeito da taxa de secagem em sementes de *Magnólia ovata*, uma espécie considerada intermediária, relataram que as sementes secadas rapidamente apresentaram menor germinação do que as submetidas à secagem lenta, para o mesmo conteúdo de água.

Observa-se nos resultados dos testes de vigor (Figura 3) um declínio na curva de regressão quando as sementes atingem 30% de umidade, independentemente da taxa de secagem. De forma similar a outros autores (EIRA, 1999B; DUSSERT, 2001; ROSA et al., 2005), a secagem de sementes de café até o teor de água de 30% é prejudicial à qualidade fisiológica, sendo que na secagem rápida, esse efeito negativo foi mais acentuado quando comparado à secagem lenta.

Pelos resultados avaliados pela porcentagem de folha cotiledonar expandida, matéria seca de raiz e de hipocótilo mostrados na Figura 3, observa-se melhores resultados nas sementes mais úmidas com teores de água de 15, 20 e 40%. A umidade de 5% foi letal para as sementes, apresentando resultados de vigor próximos de zero. As sementes secadas até 30% apresentaram uma queda na qualidade fisiológica independentemente da taxa em que são secadas. Nesses testes, a secagem rápida proporcionou melhores resultados para as sementes mais secas, enquanto que a secagem lenta proporcionou melhores resultados para as sementes mais úmidas.

Para a variável resposta plântulas normais fortes aos 30 dias, a secagem lenta proporcionou melhores valores no teste de vigor para a maioria dos teores de umidade.

A perda de água associada à velocidade com que ocorreu a secagem das sementes de café aparenta ser um dos fatores que afetam a qualidade dessas sementes. À medida que a umidade da semente vai reduzindo, as sementes

parecem tolerar uma velocidade de secagem mais rápida, enquanto que as sementes mais úmidas, a secagem lenta é menos prejudicial à qualidade fisiológica, principalmente no vigor.

Rosa et al. (2005), ao estudarem o efeito de três taxas de secagem (lenta, intermediária e rápida) em sementes de *Coffea canaphora* Pierre, uma espécie mais sensível que *Coffea arábica* L., observaram que todas as velocidades de secagem influenciam negativamente na germinação e vigor das sementes, entretanto, a maior redução na qualidade foi observada quando as sementes foram submetidas à secagem rápida.

No teste de condutividade elétrica (Figura 3) observa-se maior vigor nas sementes úmidas, e a partir do momento em que as sementes são secadas, há uma perda de vigor, o que resulta em maiores quantidades de lixiviados na solução aquosa. Esses resultados também demonstraram a perda de qualidade fisiológica das sementes de café submetidas à secagem. No entanto, deve ser observado que para avaliar o vigor de sementes com diferentes teores de água, o resultado do teste de condutividade elétrica pode ter sido influenciado pelo teor de água das sementes. O processo de embebição pode causar maior lixiviação às sementes mais secas, uma vez que as membranas se encontram desestruturadas devido à baixa quantidade de água nos tecidos, o que pode interferir nos resultados.

Na condução do teste, ocorre o processo de hidratação, podendo ocasionar danos por embebição, tendo em vista a velocidade com que a água penetra no interior das sementes. Esse dano ocorre quando diferenças acentuadas entre os potenciais hídricos da semente e do meio em que se encontram desencadeiam alterações na conformação e estrutura do sistema de membranas, devido à entrada muito rápida de água nas sementes, o que ocasiona ruptura da estrutura celular, elevando os valores de condutividade elétrica (HOEKSTRA et al., 1996, MARCOS FILHO, 2005).



#### **4 CONCLUSÕES**

A secagem é prejudicial à qualidade das sementes de café, independentemente da velocidade em que essas são secadas, ocorrendo redução da qualidade fisiológica com a perda de água.

A secagem das sementes até 5% de teor de água é altamente prejudicial às sementes de café.

Na umidade próxima de 30% ocorre perda na qualidade fisiológica das sementes, independentemente da taxa de secagem.

A melhor qualidade fisiológica é obtida em sementes com 40% e secadas lentamente até 20% de umidade; e em sementes submetidas à secagem rápida, até 10 e 15% de umidade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERJAK, P.; FARRANT, J. M.; MYCOCK, D. J.; PAMMENTER, N. W. Recalcitrant (homoiohydrous) seeds: the enigma of their desiccation-sensitivity. *Seed Science and Technology*, v. 18, n. 2, p. 297-310, 1990.

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Coordenação de Laboratório Vegetal. Brasília, 2009.

BRANDÃO JUNIOR, D.S. Marcadores da tolerância à dessecação de sementes de cafeeiro. Lavras, Universidade Federal de Lavras. 144p. PhD thesis.2000

BRANDÃO JUNIOR, D. da S.; CARVALHO, M. L. M.; VIEIRA, M. G. G. C. **Variações eletroforéticas de proteínas e isoenzimas relativas à deterioração de sementes de milho envelhecidas artificialmente**. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, DF, v. 21, n. 1, p.114-121, 1999.

CONAB, **Acompanhamento da safra brasileira**, novembro 2013/ Companhia Nacional de Desenvolvimento. Brasília: Conab, 2013.

CROMARTY, A. S.; ELLIS, R. H.; ROBERTS, E. H. **Design of seed storage facilities for genetic conservation**. Rome : International Board of Plant Genetic Resources, 1985. 100 p.

CLEMENTE, A.C.S. et al. Preparo das sementes de café para a avaliação da viabilidade pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.33,n.1,p.38-44, jul. 2011

DUSSERT, S.; COUTURON, E.; ENGELMANN, F.; JOET, T. Biologie de la conservation des semences de caféiers : aspects fondamentaux et conséquences pratiques. Une revue. **Cah Agric**, vol. 21, n8 2-3, mars-avril – mai-juin 2012

DUSSERT, S., CHABRILLANGE, N., ROCQUELIN, G., ENGELMANN, F., LOPEZ M, HAMON S Tolerance of coffee (*Coffea* spp.) seeds to ultralow temperature exposure in relation to calorimetric properties of tissue water, lipid composition and cooling procedure. **Physiol. Plant.** 112:495–504. 2001

DUSSERT, S.; DAVEY, M.W.; LAFFARGUE, A.; DOULBEAU, S.; SWENNEN, R.; ETIENNE, H. **Oxidative stress, phospholipid loss and lipid hydrolysis during drying and storage of intermediate seeds.** *Physiol. Plant.* In press, 2006.

DUSSERT, S., CHABRILLANGE, N., ENGELMANN, F., ANTHONY, F., LOUARN, J., HAMON, S. **Cryopreservation of seeds of four coffee species (*Coffea arabica*, *C. costatifructa*, *C. racemosa* and *C. sessiliflora*): importance of water content and cooling rate.** *Seed Sci. Res.* 8:9-15. 1998

EIRA, M.T.S.; SILVA, E.A.A; CASTRO, R.D.; DUSSERT, S.; WALTERS, C.; BEWLEY, J.D.; HILHORST, H.W.M. **Coffe seed physiology.** *Journal Plant Physiology, Lavras, MG*, v.18, n.1, p. 149-163, 2006.

EIRA M.T.S., WALTERS, C., CALDAS, L.S. **Water sorption properties in *Coffea* spp. seeds and embryos.** *Seed Sci. Res.* 9: 321–330. 1999b

FARRANT, J.M., PAMMENTER, N.W. & BERJAK, P. (1986). The increasing desiccation-sensitivity of recalcitrant *Avicennia marina* seeds with increasing storage time. *Physiologia Plantarum* 67, 291-298.

FERREIRA, D.F. **Programa de análises estatísticas (statistical analysis software) e planejamento de experimentos – SISVAR 5.0, build 67,** Lavras: DEX/UFLA, 2003. Software

GENTIL, D. F. de O. **Conservação de sementes do cafeeiro: resultados discordantes ou complementares?** *Bragantia*, Campinas, v. 60, n. 3, p. 333-338, 2001.

HOEKSTRA, F. A.; WOLKERS, W. F.; BUITINK, J.; GOLOVINA, E.A. **Desiccation Tolerance and Long Term Structural Stability. In: INTERNATION WORKSHOP ON SEEDS: basic and applied aspects of seed biology**, 5., Reading. Proceedings... Reading: University of Reading, 1996. p. 1-12. 1995

JOSÉ, A.C. et.al. Effects of drying rate and storage time on *Magnolia ovate* Spreng: seed viability. **Seed Science and technology**, Zurique, v.39, n.2, p. 425-434, July, 2011.

KERMODE, A.R. & FINCH-SAVAGE, B.E. Desiccation sensitivity in orthodox and recalcitrant seeds in relation to development. In *Desiccation and survival in plants: drying without dying* (M. Black & H.W. Pritchard, eds.). **CABI Publishing**, New York. p.149-184. 2002

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq. 495 p. 2005

PAMMENTER, N.W.; BERJAK, P. **A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms**. *Seed Sci. Res.* 9:13-37. 1998

PAMMENTER, N.W. & BERJAK, P. Some thoughts on the evolution and ecology of recalcitrant seeds. *Plant Species Biology*, 15:153-156, 2000.

PRETE, C.E..C; ABRAHÃO, J.T.M. Condutividade elétrica dos exsudatos de grãos de café (*Coffea arabica* L.) I: desenvolvimento da metodologia. **Semina**, Londrina, v.16, n.1, p.17-21, 1995

PAMMENTER, N.W., BERJAK, P.A. review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. *Seed Sci. Res.* 9:13-37. 1999

ROBERTS, E.H.. **Predicting the storage life of seeds**. *Seed Science and Technology*, 1, 499–514. 1973

ROSA, S.D.V.F.Da et al. **Effects of diferente drying rates on the physiological quality of Coffea canéfora Pierre seeds.** Brazilian Journal of Plant Physiology, Piracicaba, v.17, n.2, p.199-205, Mar./Apr.2005

OLIVER, M. J.; BEWLEY, J. D. **Desiccation tolerance of plant tissues: a mechanistic overview.** Horticultural Reviews, New York, v. 18, p. 171-213, 1997.

SILVA, P. de A.; DINIZ, K.A.; OLIVEIRA, J.A.; VON PINHO, E.V. de R. von. Análise fisiológica e ultraestrutural durante o desenvolvimento e a secagem de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, p.15-22, 2007

VERTUCCI, C.W. & ROOS, E.E. Theoretical basis of protocols for seed storage. **Plant Physiology**, Rockville, v.94, n.3, p.1019-1023, 1990.

VILLELA, F.A.; MARCOS FILHO, J. Estados energéticos e tipos de água na sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v.20, p. 317-321, 1998.

**CAPÍTULO 3 QUALIDADE DE SEMENTES DE CAFÉ SUBMETIDAS A  
TEMPERATURAS SUPRA E SUBZERO**

## RESUMO

Sementes de café apresentam sensibilidade à dessecação e baixo potencial de armazenamento, sendo classificadas como intermediárias. O resfriamento de sementes em temperaturas subzero é uma alternativa utilizada para a conservação por longos períodos de tempo em bancos de germoplasma de sementes de várias espécies cultivadas. Entretanto, essa técnica ainda não é totalmente segura para espécies de comportamento intermediário como é o caso de sementes café. Nesta pesquisa objetivou-se estudar as alterações fisiológicas e bioquímicas de sementes de *Coffea arabica* L. resfriadas a temperaturas supra e subzero. O trabalho foi realizado no Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Foram utilizadas sementes da safra 2012/2013, da espécie *Coffea arabica* L., cultivar Catuaí Amarelo IAC 62. Antes do resfriamento, as sementes foram submetidas a dois tipos de secagem, secagem rápida em sílica gel e secagem lenta em solução salina saturada, até que as sementes atingissem os teores de água de interesse, de 40, 30, 20, 15, 10, 5% (base úmida). Após a secagem, as sementes foram mantidas por 24 horas para equilíbrio nas temperaturas de 10, -20 e -86°C. A determinação da qualidade fisiológica das sementes foi realizada por meio da germinação, onde foram avaliadas as plântulas normais fortes, plântulas com folhas cotiledonares expandidas, matéria seca de plântulas, condutividade elétrica e viabilidade dos embriões em teste de tetrazólio. Para as análises bioquímicas, foram analisados os sistemas enzimáticos: superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT). Sementes de café secadas até 5% de umidade perdem a capacidade germinativa. Sementes com umidade de 40 a 10% e armazenadas a 10°C apresentam desempenho fisiológico superior, independentemente da velocidade de secagem. Para a exposição a -20°C, quanto mais rápida for a secagem, mais baixa é a umidade de tolerância a essa temperatura, sendo a secagem lenta prejudicial à qualidade das sementes. Apenas as sementes submetidas à secagem rápida até 20% de umidade sobrevivem à exposição à temperatura de -86°C.

**Palavras-chave:** Cristais de gelo. Armazenamento. Enzimas.

## ABSTRACT

Coffee seeds exhibit sensitivity to desiccation and low storage potential and are classified as intermediate. The cooling seed sub zero temperatures is used for an alternative storage for long periods of time in Genebank seeds of various crop species. However, this technique is still not entirely safe for species of intermediate characteristics such as the coffee seed. This research aimed to study the physiological and biochemical changes in seeds of *Coffea arabica* L. cooled to temperatures above zero and sub. The work was performed at the Laboratory of Seed Analysis of the Federal University of Lavras (UFLA). Seeds of 2012/2013 crop of *Coffea arabica* L. were used, Catuaí IAC 62 Yellow Prior to cooling, the seeds were subjected to two types of drying, fast drying and slow drying silica gel in brine until that the seeds reached the water content of interest, 40, 30, 20, 15, 10, 5% (wet basis). After drying, the seeds were incubated for 24 hours for equilibration at temperatures of 10, -20 and -86°C. The physiological quality of seeds was performed by germination, where the normal strong seedlings, seedlings with expanded cotyledons, seedling dry, electrical conductivity and embryo viability in the tetrazolium test were evaluated. Superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT): For biochemical analyzes, enzyme systems were analyzed. Coffee seeds dried to 5% moisture lose their germination capacity. Seeds with moisture 40-10% and stored at 10 ° C exhibit higher physiological performance, regardless of the speed of secagem. Para exposure to -20 ° C, the faster drying, lower the humidity tolerance at this temperature, and the slow drying detrimental to the quality of the seeds. Only the seeds subjected to rapid drying to moisture of 20% survive exposure to temperature -86°C.

**Keywords:** Ice Crystals. Storage. Enzymes.



## 1 INTRODUÇÃO

O café é um dos principais produtos da balança comercial brasileira, sendo o Brasil o maior produtor e exportador mundial do produto (CONAB, 2014). Devido a isso, a manutenção da biodiversidade da espécie em bancos de germoplasma se faz necessário, garantindo aos programas de melhoramento genético materiais diversos para o desenvolvimento de novas cultivares.

Sementes de café apresentam sensibilidade à dessecação e baixo potencial de armazenamento, sendo classificadas como intermediárias, e isso dificulta a obtenção de mudas vigorosas em época de clima mais apropriado ao plantio, além de colocar em risco a preservação da espécie, uma vez que o armazenamento seguro das sementes no longo prazo ainda não é viável (ROSA et al, 2005; DUSSERT et al, 2006; EIRA et al., 2006).

O resfriamento de sementes em temperaturas subzero é uma alternativa utilizada em bancos de germoplasma para conservar a viabilidade de sementes de várias espécies cultivadas no mundo por longos períodos de tempo. Entretanto essa técnica ainda não é totalmente segura para espécies de comportamento intermediário como o café, sendo essa espécie ainda conservada *in situ* (DUSSERT et al., 2012).

O grande desafio em armazenar sementes a baixas temperaturas é realizar um congelamento sem a formação de cristais de gelo no interior das células. A formação de gelo no meio intracelular causa ruptura do sistema de membranas celulares, resultando em perda da semipermeabilidade e da compartimentação celular; em consequência disso, as células entram em colapso e morrem. Podem ocorrer também, enorme tensão e estresse físico nas células vegetais submetidas ao congelamento. Isso porque, durante a transição de fase do líquido extracelular, com a consequente formação de gelo, há dessecação de tecidos vegetais célula para o meio extracelular (GUY, 2003).

Sementes com elevados teores de água, ortodoxas ou recalcitrantes, são suscetíveis a danos causados por temperaturas negativas, devido à formação de cristais de gelo nos tecidos, provocando perda na viabilidade. Danos mecânicos sofridos pelas células advêm de dois fenômenos, o comportamento peculiar da água, que se expande ao congelar-se, e da conformação dos cristais (FUJIKAWA,1980; GUY, 2003).

A formação de cristais de gelo intracelular irá ocorrer caso esses tecidos sejam congelados no estado hidratado. Portanto, a água precisa ser removida antes do congelamento, para evitar danos causados pelos cristais de gelo. Entretanto, a desidratação não é um processo trivial, porque a água tem muitas funções biológicas fundamentais nas células de organismos vivos. Os efeitos do conteúdo de água e temperatura são interdependentes e o teor de água crítico sempre aumenta com a diminuição da temperatura (DUSSERT et al., 1997,1998; EIRA et al, 1999a, b).

As sementes que toleram desidratação quase completa podem suportar, conseqüentemente, temperaturas extremamente baixas, o que supostamente não ocorre com as sementes intolerantes à dessecação. Contudo, ainda não foram estabelecidos os limites de redução da temperatura para essas sementes. A aquisição da tolerância à dessecação é um fenômeno complexo, envolvendo a interação de ajustes metabólicos e estruturais, permitindo que as células resistam a perdas consideráveis de água sem a ocorrência de prejuízos. A maior ou menor eficiência desses fatores poderia, dessa forma, acarretar a formação de sementes com diferentes níveis de tolerância à dessecação (MARCOS FILHO 2005). Possivelmente, tal fato poderia ocorrer, também, em relação à tolerância à redução da temperatura.

Sementes de café, quando desidratadas entre 8% e 10% de umidade e armazenadas sob temperaturas próximas e abaixo de zero, apresentam perda do poder germinativo durante armazenagem, mesmo sendo classificadas como

intermediárias quanto ao comportamento (ELLIS et al., 1990, 1991 a,b; VAN der VOSSSEN, 1979).

Porém, há relatos de sobrevivência de sementes de café em temperaturas abaixo de zero. Sementes de *Coffea arabica* L. com conteúdo de água ajustado entre 0,11 e 0,12 g H<sub>2</sub>O. g<sup>-1</sup> dw, germinaram a temperaturas de -10, -16 e -20° C. (WELLMAN e TOOLE ,1960; ELLIS et al., 1990; EIRA et al., 1999 a; HONG e ELLIS, 1998).

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho estudar as modificações fisiológicas e bioquímicas de sementes de *Coffea arabica* L. resfriadas a temperaturas supra e subzero.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local e espécie utilizada**

O trabalho foi realizado no Laboratório Central de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Foram utilizadas sementes da safra 2012/2013, da espécie *Coffea arabica* L., cultivar Catuaí Amarelo IAC 62.

### **2.2 Colheita, seleção e processamento das sementes**

Os frutos de café foram colhidos na Fazenda Experimental do Procafé, em Varginha, localizada a aproximadamente 110 Km de Lavras. Varginha apresenta como características geográficas uma altitude de 980 m, sendo o clima classificado como Tropical de altitude Cwb.

Os frutos no estágio de maturação cereja foram seletivamente colhidos nos ramos médios das plantas e nas partes medianas dos ramos. Após a colheita dos frutos, esses foram mais uma vez para uniformização do estágio de maturação e descascados mecanicamente. Após o descascamento, as sementes foram desmuciladas por fermentação em água por 24 horas. Após desmucilagem, as sementes foram mantidas na sombra para uma pré-secagem, para retirada da umidade superficial. Para uniformização do tamanho, foram utilizadas as sementes retidas na peneira de crivo circular nº20/64 x ¾, antes de serem submetidas aos tratamentos de secagem e armazenamento.

### 2.3 Secagem e resfriamento das sementes

As sementes de café foram secadas até diferentes teores de água em ambientes com temperaturas e umidades relativas controladas. Foram utilizados dois tipos de secagem: secagem rápida e secagem lenta. Para ambas as secagens, o ambiente hermético utilizado foram caixas de acrílico do tipo gerbox, devidamente lacradas com papel filme, para que não ocorresse mudança de umidade relativa dentro do recipiente.

Para a secagem rápida, as sementes foram colocadas sobre um telado em camada única em recipiente hermético contendo sílica gel ativada. A sílica foi trocada antes que houvesse mudança na coloração do seu indicador de umidade. Na secagem lenta, utilizaram-se soluções salinas saturadas capazes de manter a umidade relativa interna estável. As soluções salinas foram colocadas no fundo do recipiente, e as sementes em camada única sobre uma tela sem tocar nas soluções. A solução salina foi preparada dissolvendo-se o sal específico em água. Para a retirada da primeira umidade de 40% foi utilizado o sal cloreto de lítio. Para a umidade de 30% foi utilizado o cloreto de sódio e para as demais umidades, 20, 15, 10 e 5%, o sal cloreto de magnésio hexahidratado. Os sais, as concentrações e as umidades relativas proporcionadas pelas soluções salinas saturada estão sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1 Soluções salinas saturadas utilizadas na secagem lenta de sementes de *Coffea arabica L*

Sal para Solução salina	Concentração	Umidade relativa de equilíbrio a 25°C
LiCl	50g/1000 mL H <sub>2</sub> O	95%
NaCl	Solução saturada	75%
MgCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	Solução saturada	35%

Os recipientes contendo as soluções salinas saturadas, a sílica gel e as sementes foram acondicionados em câmaras do tipo B.O.D, sob temperatura constante de 25°C. A perda de água durante a secagem foi monitorada por pesagens contínuas em balança de precisão de 0,001 g, até que as sementes atingissem os teores de água de interesse, de 40, 30, 20, 15, 10, 5% (base úmida). As sementes foram, então, acondicionadas em embalagens impermeáveis e colocadas em câmara fria e seca, até que todas as umidades foram obtidas. Após a obtenção de todos os teores de água de interesse em secagem rápida e lenta, as sementes foram mantidas em três diferentes ambientes: câmara fria e seca (10°C, 45% UR), freezer (-20°C) e *deep-freezer* (-86°C), durante 24 horas, até se equilibrarem nessas temperaturas.

Após o período de 24 horas, as sementes foram retiradas das embalagens e descongeladas rapidamente, por imersão, direto em banho-maria à temperatura de 40°C, durante 2 minutos, segundo metodologia proposta por Dussert, 1999. Posteriormente ao descongelamento, procedeu-se a retirada dos pergaminhos e as sementes foram deixadas no ambiente para o equilíbrio de temperatura e logo após, submetidas à determinação do teor de água e às avaliações fisiológicas.

Para os testes bioquímicos, as sementes foram armazenadas em *deep-freezer* à temperatura de -86°C, sem pergaminho, para posterior realização dos testes. O cálculo das umidades foi realizado por meio da equação 1 descrita por Cromarty et al. (1985):

$$M_f = M_i (100 - U_i) / (100 - U_f) \quad (1)$$

Onde:

$M_f$  = Massa da amostra(g) após a secagem;

$M_i$  = Massa da amostra (g) antes da secagem;

$U_i$  = Grau de umidade (%) antes da secagem;

Uf = Grau de umidade (%) desejado após a secagem.

## **2.4 Avaliações**

Foram realizados teste para verificar a qualidade fisiológica das sementes de café, bem como a determinação do teor de água das mesmas.

### **2.4.1 Determinação do teor de água**

A determinação do teor de água foi realizada pelo método de estufa a 105°C, durante 24 horas. Os resultados foram expressos em porcentagens com base no peso úmido das sementes, de acordo com as Regras para Análise de Sementes - RAS (Brasil, 2009).

### **2.4.2 Análises fisiológicas**

Para avaliar a qualidade fisiológica das sementes foram realizados os testes de germinação, porcentagem de plântulas normais fortes, de folhas cotiledonares expandidas aos 45 dias, matéria seca de plântulas, viabilidade pelo teste de tetrazólio e teste de condutividade elétrica.

- a. Teste de germinação** - quatro repetições de 25 sementes sem os pergaminhos foram colocadas para germinar em folhas de papel do tipo germitest, umedecidas com água em quantidade igual a 2,5 vezes o peso do papel seco. As sementes foram mantidas em germinador, regulado a temperatura de 30°C e a porcentagem de plântulas normais foi avaliada após 30 dias, segundo as prescrições das RAS (BRASIL, 2009).
- b. Plântulas normais fortes** – ao final do teste de germinação computou-se as plântulas normais fortes de acordo com o comprimento do eixo

hipocótilo. Foram consideradas como normais fortes as plântulas com eixos de comprimento igual ou maior a 3 cm.

- c. **Plântulas com folhas cotiledonares expandidas** – aos 45 dias do início do teste de germinação foram computadas as plântulas que apresentaram as folhas cotiledonares totalmente expandidas (estádio orelha de onça) e os resultados foram expressos em porcentagem.
- d. **Matéria seca de plântulas** – aos 45 dias após a semeadura, o eixo hipocótilo-radícula das plântulas normais foram isolados, acondicionados em sacos de papel e colocados em estufa de circulação de ar a 60°C, durante 5 dias, ou até massa constante. Após esse período foi determinada a matéria seca de raízes e de partes aéreas das plântulas, e os resultados expressos em miligramas por plântula.
- e. **Teste de tetrazólio** – foi realizado com quatro repetições de 10 sementes sem pergaminhos. As sementes foram colocadas em recipiente contendo água destilada para embebição por período de 48 horas, a 30°C (CLEMENTE, 2011). Após esse período, foi removido o embrião das sementes, com o auxílio de um bisturi, de tal forma que fossem evitados danos aos mesmos. Os embriões foram colocados em solução de tetrazólio a 0,5%, na ausência de luz, por período de 3 horas, a 30°C, para coloração. Após avaliação da viabilidade, os resultados foram expressos em porcentagem de embriões viáveis.
- f. **Condutividade elétrica** – foi realizado com quatro repetições de 25 sementes, sem pergaminhos, por tratamento. As sementes foram pesadas com precisão de 0,01 g, colocadas em copos plásticos contendo 37,5 ml de água deionizada e mantidas em BOD à temperatura de 25°C, durante 5 horas. A medição da condutividade elétrica foi realizada utilizando-se condutivímetro digital de bancada para soluções aquosas, modelo



McA150 (Prete, 1995). Os resultados foram expressos em  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ . Utilizou-se para o cálculo a seguinte equação 2:

$$\text{CE} = (\text{CE solução} - \text{CE água})/\text{Peso (g)} \quad (2)$$

Onde:

CE = condutividade elétrica, em  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$

### 2.4.3 Análises Bioquímicas

Amostras de 50 sementes, de todos os tratamentos, foram tomadas em cada período de armazenamento, acondicionadas, identificadas e armazenadas em deep-freezer a  $-86^{\circ}\text{C}$ , para a realização das análises enzimáticas.

As sementes foram trituradas em moinho refrigerado a  $4^{\circ}\text{C}$ , a 22.500 rpm, na presença de PVP (polivinilpirrolidona) e armazenadas em temperatura de  $-86^{\circ}\text{C}$ . Para a extração das enzimas foram adicionados a 100 mg do pó da semente, 340  $\mu\text{L}$  do tampão de extração (0,2M Tris) e a solução foi homogeneizada em vortex e mantidas por uma hora em geladeira. Posteriormente, as soluções foram centrifugadas a 15.000 rpm, a  $4^{\circ}\text{C}$  por 50 minutos e 40  $\mu\text{L}$  do sobrenadante foram aplicados nos géis de poliacrilamida. O sistema tampão gel/eletrodo utilizado foi tris-glicina pH 8,9. A eletroforese foi realizada a 150V durante 6 horas e os géis foram revelados para os sistemas enzimáticos superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), conforme metodologia descrita por Alfenas (2006).

### 2.5 Delineamento experimental e análises estatísticas

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial  $2 \times 6 \times 3$ , sendo o primeiro fator correspondente às suas velocidades de secagem. A secagem lenta foi realizada em soluções salinas saturadas e a rápida em sílica gel. O segundo fator corresponde aos teores de água das sementes (5, 10, 15, 20, 30 e 40% de umidade) e o terceiro fator às temperaturas de resfriamento supra e subzero (10, -20 e -86°C). O fator quantitativo teores de água foi estudado por meio de uma análise de regressão na análise de variância, através do programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2003).

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

As velocidades de secagem obtidas foram de  $0,062\% \cdot h^{-1}$  e de  $0,034\% \cdot h^{-1}$ , nos métodos de secagem rápida e lenta.

Por meio das análises de variância, verificou-se que a interação entre os fatores velocidade de secagem e umidade final das sementes foi significativo para todas as variáveis respostas analisadas quando as sementes foram submetidas às temperaturas de resfriamento de  $-20$  e  $-86^{\circ}C$ . Para a temperatura de  $10^{\circ}C$ , os resultados de porcentagem de plântulas normais aos 30 dias e de viabilidade dos embriões em tetrazólio não apresentaram interação significativa dos fatores estudados, o que significa que esses fatores atuam independentemente.

#### **3.1 Resultados das avaliações fisiológicas**

Pelos resultados das avaliações fisiológicas pelo teste de germinação observou-se que as sementes de café após serem submetidas a diferentes métodos de secagem e com diferentes graus de umidade, apresentam comportamentos diferentes quando são expostas a baixas temperaturas (Figura 1). Sementes de café com umidade acima de 10% parecem tolerar bem o resfriamento à temperatura de  $10^{\circ}C$ , com resultados de germinação acima de 70%. Porém, há uma diminuição da germinação quando essas sementes são secadas até umidade em torno de 30%.

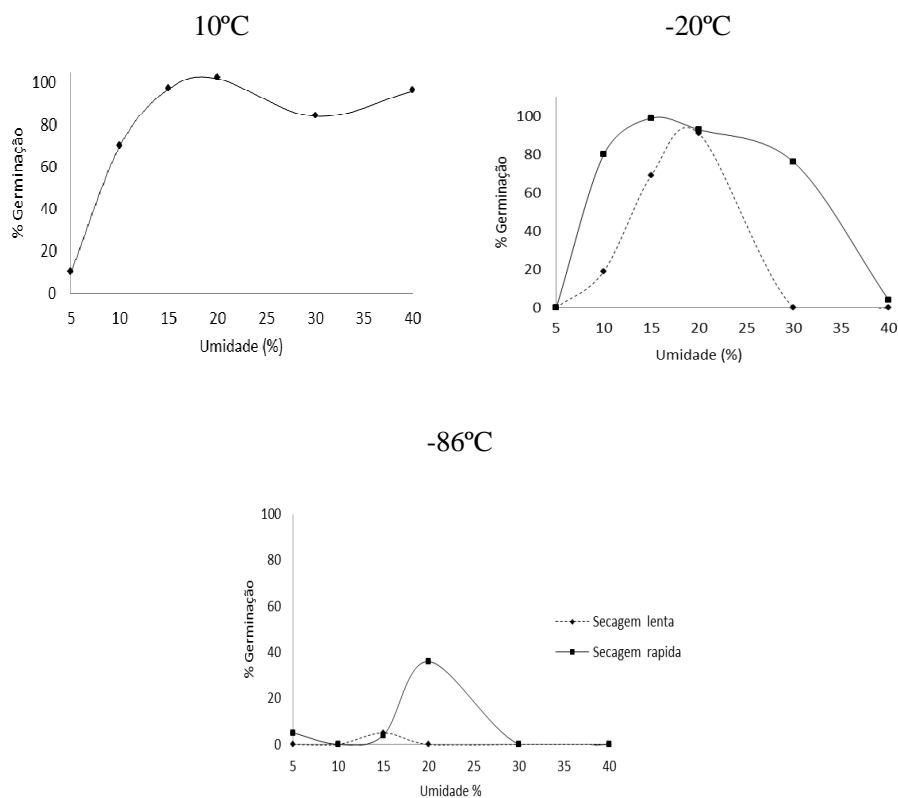


Figura 1 Porcentagem média de plântulas normais aos 30 dias de sementes de café secadas em diferentes velocidades de secagem e equilibradas em temperaturas supra e subzero

Quando as sementes de café são expostas a temperaturas subzero, como a de  $-20^{\circ}\text{C}$  observou-se interação entre o método de secagem e graus de umidade das sementes (Figura 1). Para os tratamentos em que as sementes foram submetidas à secagem rápida, observou-se valores elevados de germinação nas sementes com umidade entre 10 e 20%, com redução acentuada da germinação quando sementes continham teor de água maior ou menor que esses valores. Já para a temperatura de  $-86^{\circ}\text{C}$ , apenas as sementes com teor de água de 20% e secadas rapidamente apresentaram plântulas normais aos 30 dias, com uma

porcentagem média de 40% de germinação. Ressalta-se que em ambas as temperaturas subzero (-20 e -86°C), as umidades de 5 e 40% foram letais para as sementes de café.

Esse comportamento está ligado ao fato de que existe um ponto ou uma faixa de umidade ótima para a tolerância às baixas temperaturas de resfriamento e armazenamento, ou seja, com água disponível para prevenir os danos por dessecação, mas em teor de água baixo o suficiente para prevenir os danos por cristalização da água pelo congelamento (EIRA et al., 1999a; DUSSERT et al., 2001, 2003).

Segundo Ellis et al. (1990) as sementes de cafeeiro foram classificadas na categoria intermediária quanto à tolerância à dessecação, observando que sementes de quatro cultivares de *Coffea arabica* não tiveram a germinação diminuídas ao serem secadas até cerca de 10% de umidade, mas foram prejudicadas pelo armazenamento às temperaturas de 0°C e -20°C, comportamento característico da categoria intermediária. Sementes dessa categoria podem resistir à secagem até certo nível, mas têm sua armazenabilidade reduzida. No presente estudo, as sementes com umidade de 10, 15 e 20 % toleraram o resfriamento a -20°C por 24 horas, sem efeitos deletérios na germinação das sementes.

Em trabalhos anteriores também foram encontrados resultados semelhantes aos deste trabalho, nos quais foram observadas germinação apenas quando as sementes foram armazenadas com 20% de teor de água na temperatura de -20 °C (EIRA et al., 1999b, DUSSERT et al 2003, 2006, 2012).

Dussert et al. (2006) demonstraram que a faixa de umidade em que uma semente de *Coffea arabica*, variedade Caturra poderia ser criopreservada e apresentar alta viabilidade é muito estreita. Pelos resultados obtidos neste trabalho, o método de secagem também pode ser outro fator interferente no processo de refrigeração das sementes de café.

Pelo teste de tetrazólio também é possível observar o efeito do resfriamento das sementes de café com diferentes umidades e métodos de secagem (Figura 2), sobre a qualidade fisiológica.

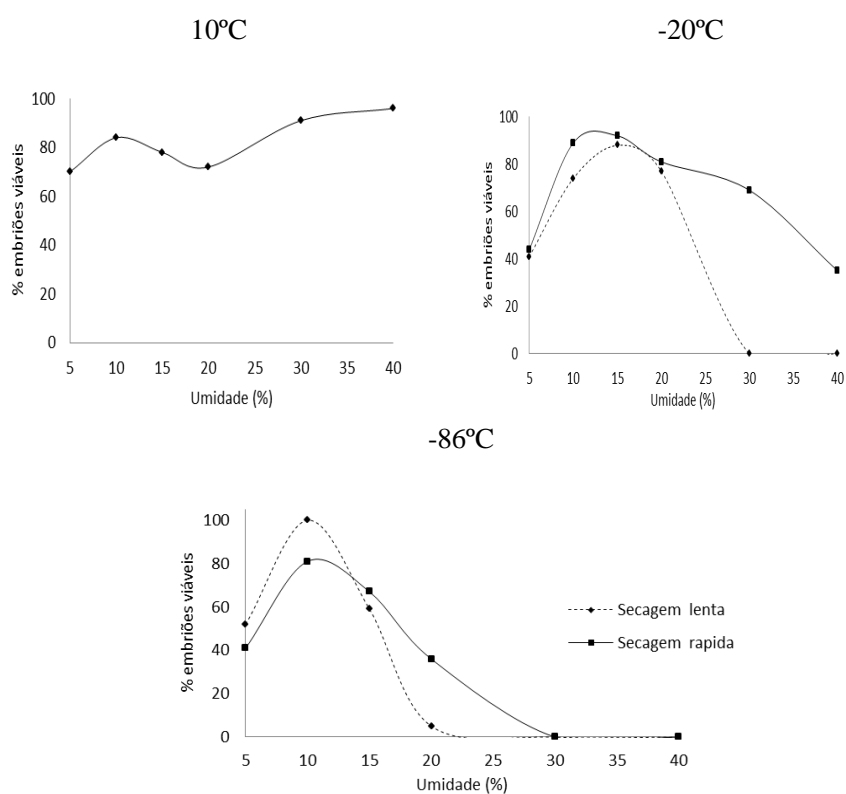


Figura 2 Porcentagem média de embriões viáveis pelo teste de tetrazólio de sementes de café secadas em diferentes velocidades de secagem e equilibradas em temperaturas supra e subzero

Como pode ser observado na Figura 2, o resfriamento a 10°C de forma geral, não prejudicou a viabilidade dos embriões de café. No entanto, quando as sementes são expostas à temperatura de -20°C, observou-se que em sementes

mais úmidas (> 20%), os embriões perderam a viabilidade, principalmente quando as sementes foram submetidas à secagem lenta.

Quando as sementes de café são equilibradas em temperaturas mais extremas (-86°C), o efeito negativo sob a viabilidade dos embriões é ainda mais acentuado, diminuindo a faixa de umidade em que as sementes toleram o resfriamento até essa temperatura. Observou-se viabilidade dos embriões apenas nas sementes com umidades mais baixas, ou seja, 5, 10 e 15% de umidade, sendo 10% do teor de água com viabilidade superior aos outros dois. Ainda assim, os resultados são interessantes se comparados aos resultados de porcentagens de germinação, os quais foram bem inferiores em relação ao tetrazólio (Figura 1 e 2).

Observa-se que os embriões suportam melhor as baixas temperaturas, indicando maior sensibilidade dos endospermas, o que pode interferir negativamente durante o processo de germinação, resultando em baixos valores de plântulas normais. Esses resultados corroboram com outros autores (DUSSERT, 1997, 1998, 1999, 2006, 2012), em que a taxa de sobrevivência de embriões zigóticos excisados de sementes criopreservadas foi alta. Em contraste, segundo esses autores, a porcentagem de viabilidade das sementes inteiras, nas mesmas condições, pode ser obtida apenas para uma limitada faixa de umidade e temperatura.

Ainda segundo esses autores, a exposição do endosperma a baixas temperaturas causa danos aos mesmos. Nesses casos, o endosperma é suficientemente intacto para permitir a germinação de todos os embriões viáveis, porém sua função nutricional é prejudicada.

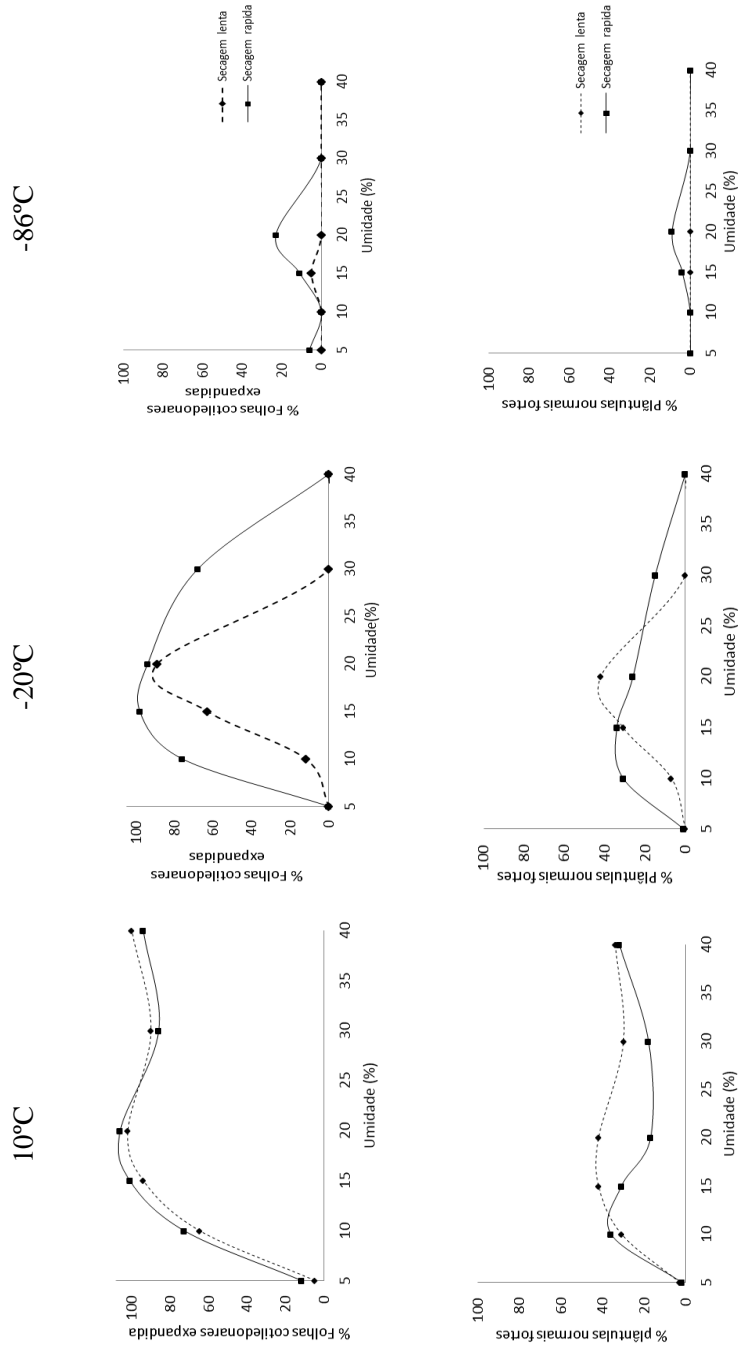


Figura 3 Porcentagem média de folhas cotiledonares expandidas aos 45 dias e de plântulas normais fortes aos 30 dias de sementes de café secadas em diferentes velocidades de secagem e equilibradas em temperaturas supra e subzero



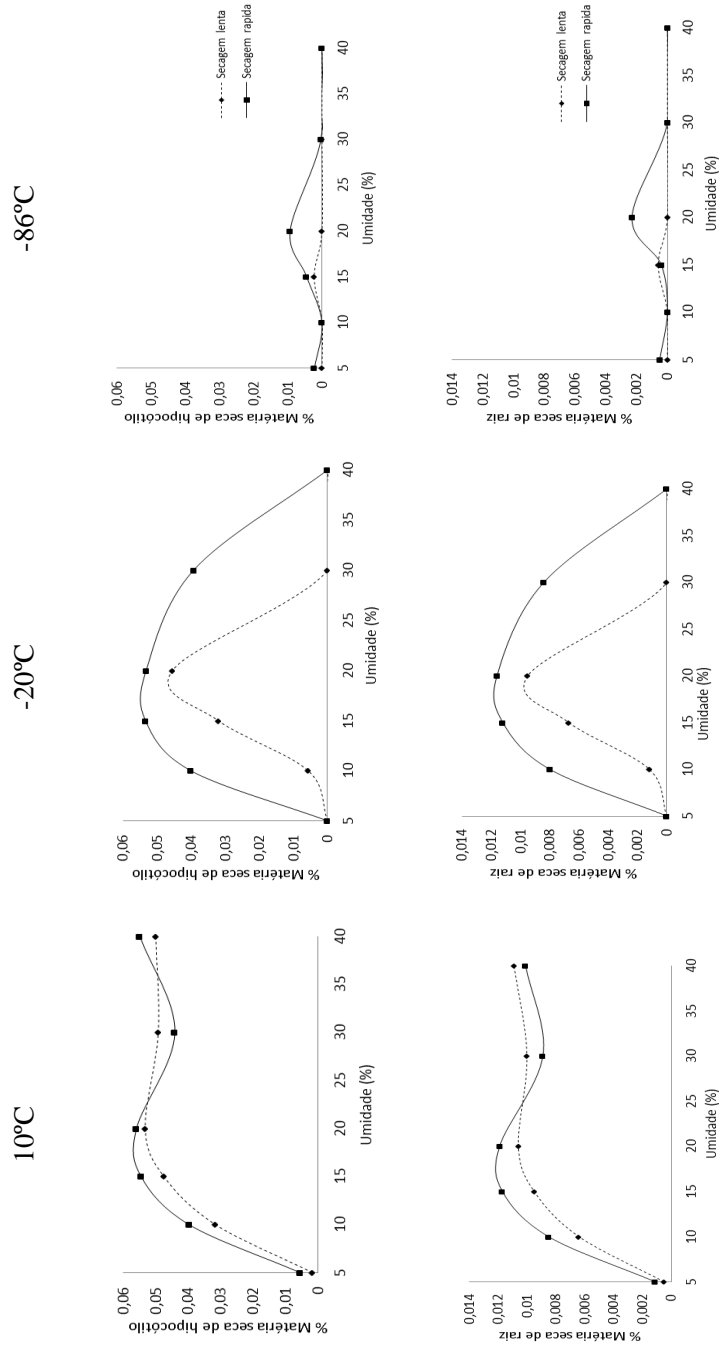


Figura 4 Dados médios, em g, de matéria seca de hipocótilo e matéria seca de raiz de sementes de café secadas em diferentes velocidades de secagem e equilibradas em temperaturas supra e subzero

Os efeitos das baixas temperaturas sobre a qualidade fisiológica de sementes de café também foram observados por meio dos testes de vigor (Figuras 3,4 e 5). O mesmo comportamento observado no teste de germinação também foi notado nas demais avaliações fisiológicas. De modo geral as sementes podem ser resfriadas a 10°C sem efeitos significativos no vigor sementes, e nesta temperatura, sementes de café podem ser armazenadas com relativa segurança por até 6 meses. No entanto quando as sementes são expostas a temperaturas subzero, observou-se redução drástica no vigor das mesmas, principalmente quando contêm graus de umidade reduzidos (5%) ou muito altos (acima de 30%). Observou-se também uma interação entre as taxas de secagem utilizada e o grau de umidade das sementes.

Os tratamentos submetidos à secagem lenta apresentaram uma faixa mais estreita de umidade das sementes que toleram o resfriamento em temperatura de -20°C. Isso foi observado principalmente nos resultados de peso de matéria seca de hipocótilo e raiz (Figura 4).

Essa perda de qualidade das sementes equilibradas em baixas temperaturas pode estar relacionada com a formação de cristais de gelo no meio intracelular, o que causa a ruptura do sistema de membranas celulares, resultando em perda da semipermeabilidade e da compartimentação celular. Em consequência desse processo, as células entram em colapso e morrem. O dano mecânico sofrido pelas células advém de dois fenômenos, o comportamento peculiar da água, que se expande ao congelar-se, e a conformação dos cristais de gelo (FUJIKAWA,1980; GUY, 2003).

Pelos resultados do teste de condutividade elétrica de sementes de café (Figura 5), constatou-se a redução da condutividade elétrica à medida que se aumentou o teor de água nas sementes, independentemente da temperatura de refrigeração e da taxa de secagem.

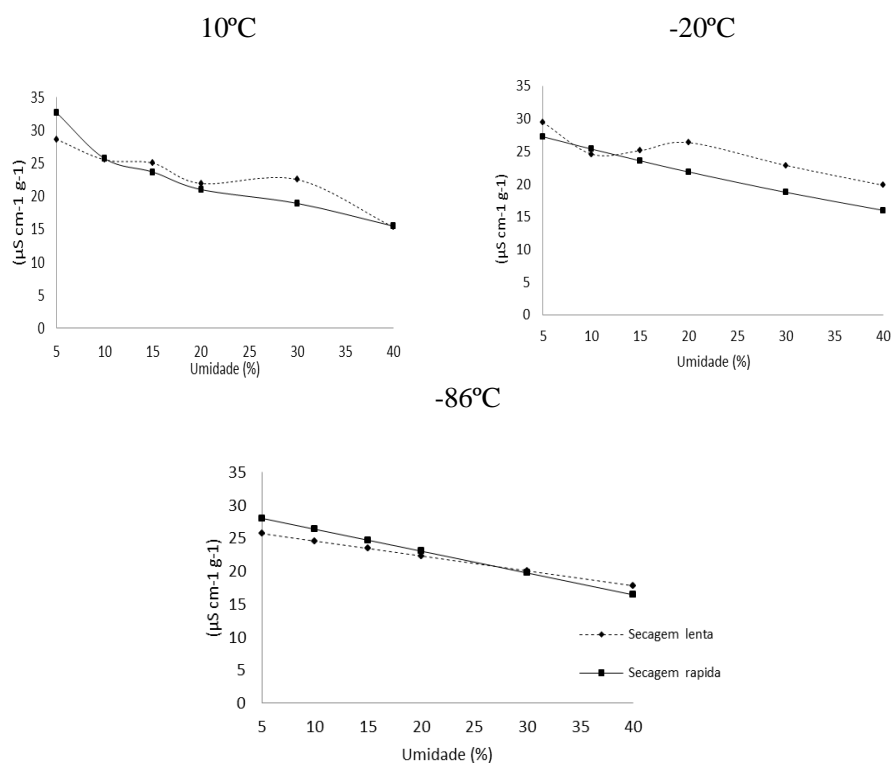


Figura 5 Dados médios de condutividade elétrica de sementes de café secadas em diferentes velocidades e equilibradas em temperaturas supra e subzero

O aumento no valor da condutividade elétrica, em função da diminuição do teor de água das sementes está relacionado com o processo de reorganização das membranas celulares, em função da reidratação da semente. Quanto menor o teor de água da semente, maior o estado de desorganização da membrana celular, conseqüentemente maior lixiviação de solutos (VIEIRA et al.,2002).

Na condução do teste de condutividade elétrica ocorre o processo de hidratação, podendo ocasionar danos por embebição, tendo em vista a velocidade com que a água penetra no interior das sementes. Esse dano ocorre

quando diferenças acentuadas entre os potenciais hídricos da semente e do meio em que se encontram desencadeiam alterações na conformação e estrutura do sistema de membranas, devido à entrada muito rápida de água nas sementes, o que ocasiona ruptura da estrutura celular, elevando os valores de condutividade elétrica (HOEKSTRA et al., 1999, MARCOS FILHO, 2005).

### **3.2 Resultados das avaliações bioquímicas**

Nas figuras 6 e 7 pode-se observar os resultados das análises eletroforéticas das isoenzimas analisadas. Na secagem rápida, em sementes secadas até a umidade de 5 % não houve expressão da enzima catalase para qualquer das temperaturas de resfriamento testadas (10, -20 e -86°C). Já na secagem lenta, em sementes com umidade de 5% ocorreu expressão apenas na temperatura de resfriamento de 10°C, porém muito baixa quando comparada com as demais umidades (Figura 6). Esse resultado foi também encontrado nos testes fisiológicos, em que as sementes secadas até 5% apresentaram baixa viabilidade e vigor nesse teor de água.

Em sementes com umidade de 40%, a expressão das enzimas antioxidantes foi maior quando as sementes foram equilibradas na temperatura de 10°C, seguida pela temperatura de -20 e -86°C, independentemente da taxa de secagem. A maior expressão da enzima nas sementes secadas rapidamente foi observada nas umidades intermediárias, de 15 e 20% (Figura 6, A). De uma forma geral, observa-se que na secagem rápida, à medida que se aumenta ou diminui o teor de água das sementes, a expressão da enzima catalase tende a diminuir.

Na secagem lenta (Figura 6, B), as sementes secadas até 20% de umidade e equilibradas em temperatura de -86°C apresentaram uma menor

expressão da catalase quando comparado com as demais temperaturas de resfriamento nessa umidade, fato esse não observado na secagem rápida.

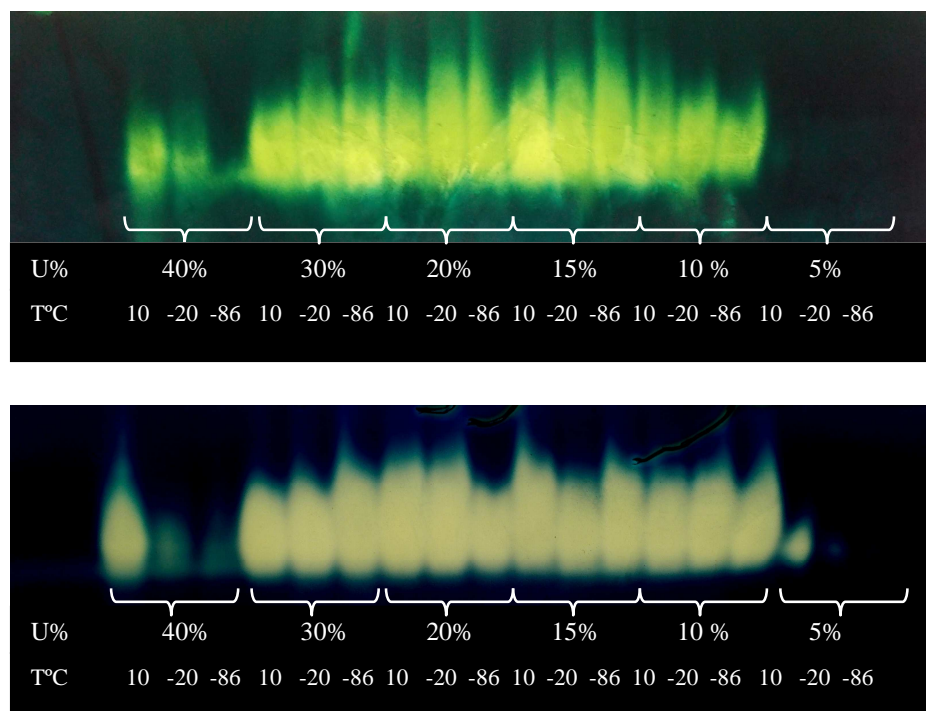


Figura 6 Padrões isoenzimáticos de sementes de café revelados para a enzima catalase (CAT), em duas velocidades de secagem, rápida (A) e lenta (B), e equilibradas em três diferentes temperaturas, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014

A enzima catalase atua na remoção de  $H_2O_2$ , produzido por outras enzimas, sendo que sua função está relacionada com a proteção das células contra esses compostos tóxicos durante o armazenamento das sementes de café. Saath (2010) observou que a expressão da enzima catalase está relacionada com o nível de deterioração das sementes de café, constatando menor atividade dessa enzima em sementes mais deterioradas.

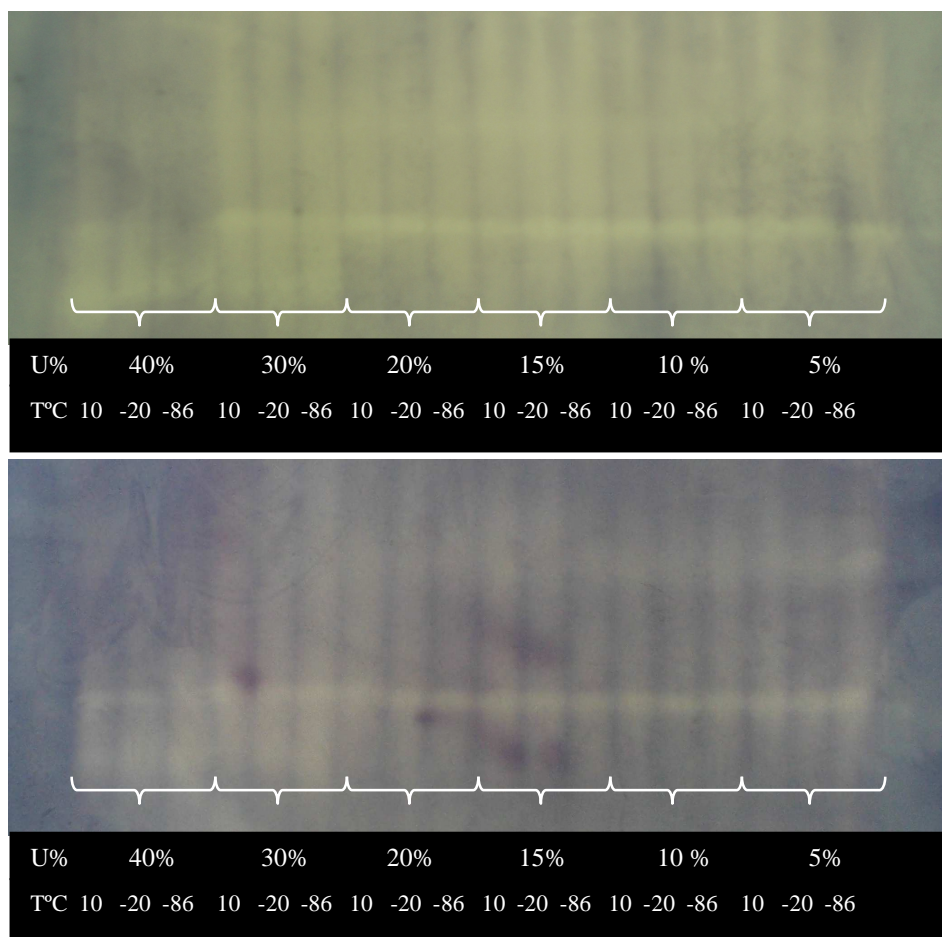


Figura 7 Padrões isoenzimáticos de sementes de café revelados para a enzima Superóxido dismutase (SOD), em duas velocidades de secagem, rápida (A) e lenta (B), e equilibradas a três diferentes temperaturas, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014

Assim como a enzima catalase, a superóxido dismutase atua como enzima removedora de radicais livres. Esses sistemas enzimáticos estão envolvidos na resposta antioxidativa para neutralizar o oxigênio livre e outros

radicais livres formados sob condições de estresse (DUSSERT et al., 2006), como as que ocorrem durante a secagem.

Pelo perfil de expressão da enzima SOD (figura 7) observou-se pequena intensidade de bandas nos tratamentos em que as sementes se encontravam com 40% de umidade expostas às temperaturas de -20 e -86°C e submetidas à secagem rápida. Provavelmente as sementes úmidas (40%), quando armazenadas em temperaturas subzero apresentam perda de qualidade devido à formação de cristais de gelo no inteiro das células, causando rompimento das compartimentações celulares e conseqüentemente, desativação dessas enzimas. No entanto, ao analisar os tratamentos submetidos à secagem lenta, não foram observadas diferenças detectáveis no padrão de bandas entre os tratamentos, nesse teor de água (40%).

Em ambas as velocidades de secagem, há o aparecimento de duas bandas da superóxido dismutase nas sementes mais secas, sendo a primeira banda mais evidente para as sementes secadas rapidamente.

De modo geral, os sistemas proteicos podem ser considerados como atuantes mecanismos de proteção celular contra os efeitos danosos da perda de água (ROSA et al., 2005), e o tipo de secagem pode interferir na síntese e atividade dessas enzimas. Assim, a atuação dessas enzimas é requerida na maioria das fases de desidratação das sementes, no entanto, a enzima catalase parece ser mais sensível em relação à Superóxido dismutase. Além disso, a secagem rápida promove maior atividade da catalase enquanto que a secagem lenta promove a maior produção da enzima superóxido dismutase.

#### **4 CONCLUSÕES**

Sementes de café secadas até 5% de umidade perdem a capacidade germinativa.

Sementes com umidade de 40 a 10% e armazenadas a 10°C apresentam desempenho fisiológico superior, independentemente da velocidade de secagem.

Para a exposição a -20°C, quanto mais rápida for a secagem, mais baixa é a umidade de tolerância a esta temperatura, sendo a secagem lenta prejudicial à qualidade das sementes.

Apenas as sementes submetidas à secagem rápida até 20% de umidade sobrevivem à exposição à temperatura de -86°C.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A.C.; DUZI, A.; ZERBINI JÚNIOR, F. M.; ROBINSON, I. P.; MICALES, J. A.; OLIVERIA, J. R.; DIAS, L. A. S.; SCORTICHINI, M.; PEREIRA, M. C. B.; BONDE, R. B.; ALONSO, S. K.; JUNGHANS, T. G.; BRUNE, W.; **Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microorganismos**. 2 ed. Viçosa: Ed. UFV, 627p ,2006.
- BRASIL. Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Coordenação de Laboratório Vegetal. Brasília, 2009.
- CROMARTY, A. S.; ELLIS, R. H.; ROBERTS, E. H. **Design of seed storage facilities for genetic conservation**. Rome: International Board of Plant Genetic Resources, 100 p. 1985
- CONAB, **Acompanhamento da safra brasileira**, agosto 2014/ Companhia Nacional de Desenvolvimento. Brasília: Conab, 2014.
- CLEMENTE, A.C.S. et al. Preparo das sementes de café para a avaliação da viabilidade pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.33, n.1,p.38-44, jul. 2011
- DUSSERT, S.; COUTURON, E.; ENGELMANN, F.; JOET, T. Biologie de la conservation des semences de caféiers: aspects fondamentaux et conséquences pratiques. Une revue. **Cah Agric**, vol. 21, n8 2-3, mars-avril – mai-juin 2012
- DUSSERT, S.; DAVEY, M.W.; LAFFARGUE, A.; DOULBEAU, S.; SWENNEN, R.; ETIENNE, H. **Oxidative stress, phospholipid loss and lipid hydrolysis during drying and storage of intermediate seeds**. *Physiol. Plant*. In press, 2006.

DUSSERT, S.; CHABRILLANGE, N.; ENGELMANN, F.; HAMON, S.  
**Quantitative estimation of seed desiccation sensitivity using a quantal response model: application to nine species of the genus *Coffea* L.** Seed Sci. Res. 9: 135-144. 1999

DUSSERT, S., CHABRILLANGE, N., ROCQUELIN, G., ENGELMANN, F., LOPEZ, M., HAMON, S. Tolerance of coffee (*Coffea* spp.) seeds to ultralow temperature exposure in relation to calorimetric properties of tissue water, lipid composition and cooling procedure. **Physiol. Plant.** 112:495–504. 2001

DUSSERT, S., CHABRILLANGE, N., MONTILLET, J.L., AGNEL, J.P., ENGELMANN F, NOIROT M. Basis of coffee seed sensitivity to liquid nitrogen exposure: oxidative stress or imbibitional damage? **Physiol. Plant.** 119:534–543. 2003

DUSSERT, S., CHABRILLANGE, N., ENGELMANN, F., ANTHONY, F., HAMON, S. **Cryopreservation of coffee (*Coffea arabica* L.) seeds: importance of the precooling temperature.** CryoLetter 18:269–276. 1997

DUSSERT, S., CHABRILLANGE, N., ENGELMANN, F., ANTHONY, F., LOUARN, J., HAMON, S. **Cryopreservation of seeds of four coffee species (*Coffea arabica*, *C. costatifructa*, *C. racemosa* and *C. sessiliflora*): importance of water content and cooling rate.** Seed Sci. Res. 8:9-15. 1998

EIRA, M.T.S.; SILVA, E.A.A; CASTRO, R.D.; DUSSERT, S.; WALTERS, C.; BEWLEY, J.D.; HILHORST, H.W.M. **Coffe seed physiology.** Journal Plant Physiology, Lavras, MG, v.18, n.1, p. 149-163, 2006.

EIRA M.T.S., WALTERS, C., CALDAS, L.S. **Water sorption properties in *Coffea* spp. seeds and embryos.** Seed Sci. Res. 9: 321–330. 1999B

EIRA, M.T.S., WALTERS, C., CALDAS, L.S, FAZUOLI, L.C., SAMPAIO, J.B., DIAS, M.C.C. **Tolerance of *Coffea* spp. seeds to desiccation and low temperature.** Rev. Bras. Fisiol. Veg. 11:97–105. 1999a

ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H. **Effect of temperature and moisture content on the germination of papaya seeds.** Seed Science Research, California, v.1, p.69-72, 1991a.

ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H.; SOETISNA, U. **Seed storage behaviour in *Elaeis guineensis*.** Seed Science Research, Califórnia, v.1, p.99-104, 1991b.

ELLIS, R.H., T.D. Ho G and E.H. ROBERTS. 1990. **An intermediate category of seed storage behaviour?** *J Expt. Bot.* **41** (230): 1167-1174.

FERREIRA, D.F. **Programa de análises estatísticas (statistical analysis software) e planejamento de experimentos – SISVAR 5.0, build 67,** Lavras: DEX/UFLA, 2003. Software

FUJIKAWA, S. **Freeze-fracture and etching studies on membrane damage on human erythrocytes caused by formation of intracellular ice.** Cryobiology, Espanha, v.17, p.351-362, 1980

GUY, C.L.. Freezing tolerance of plants: current understanding and selected emerging concepts. **Canadian Journal of Botany** 81:1216-1223. 2003

HOEKSTRA, F. A.; WOLKERS, W. F.; BUITINK, J.; GOLOVINA, E.A. **Desiccation Tolerance and Long Term Structural Stability. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON SEEDS: basic and applied aspects of seed biology, 5.,** 1995, Reading. Proceedings... Reading: University of Reading, . p. 1-12. 1999

HONG, T.D.; ELLIS, R.H. Contrasting seed storage behavior among different species of Meliaceae. **Seed Science and technology**, Zurich, v.26, n.1, p.77-95, 1998.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de pantas cultivadas.** Piracicaba: FEALQ, 2005. 459P.

PRETE, C.E..C; ABRAHÃO, J.T.M. Condutividade elétrica dos exsudatos de grãos de café (*Coffea arabica L.*) I: desenvolvimento da metodologia. **Semina**, Londrina, v.16, n.1, p.17-21, 1995

ROSA, S.D.V.F. Da et al. Effects of diferente drying rates on the physiological quality of *Coffea canéfora* Pierre seeds. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v.17, n.2, p.199-205, Mar./Apr.2005

SAATH, R. Qualidade do café natural e despulpado em diferentes condições de secagem e tempos de armazenamento. 2010. 246 p. **Tese** (Doutorado em agronomia) – Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu, 2010.

VAN DER VOSSEN, H.A.M. **Methods of preserving the viability of coffee seed in storage**. Seed Sci. Technol. 7:65–74. 1979

VIEIRA, R. D., PENARIOL, A. L., PERECIN, D., & PANOBIANCO, M. Condutividade elétrica e teor de água inicial das sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 9, p. 1333-1338, 2002.

WELLMAN, F.L., TOOLE, V.K. **Coffee seed germination as affected by species, diseases and temperature**. Proc. Caribbean Region Am. Soc. Hort. Sci. 4:1-6. 1960

**CAPÍTULO 4 ARMAZENAMENTO EM CÂMARA FRIA DE  
SEMENTES DE CAFÉ SUBMETIDAS A DIFERENTES  
VELOCIDADES DE SECAGEM**

## RESUMO

Sementes de café apresentam sensibilidade à dessecação e baixo potencial de armazenamento, sendo classificadas como intermediárias. As sementes de café perdem rapidamente a viabilidade, não conservando seu poder germinativo por períodos superiores a seis meses. Assim, a conservação das sementes de café tem sido objeto de muitos estudos e os resultados até então obtidos têm se mostrado contraditórios, dificultando uma indicação geral sobre as condições mais favoráveis que permitam a manutenção da qualidade fisiológica por um período prolongado. Nesta pesquisa objetivou-se estudar o efeito do armazenamento em sementes de *Coffea arabica* L. secadas em diferentes taxas de secagem. O trabalho foi realizado no Laboratório Central de Sementes da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Foram utilizadas sementes da safra 2012/2013, da espécie *Coffea arabica* L., cultivar Catuaí Amarelo IAC 62. Foram utilizados dois tipos de secagem: secagem rápida em sílica gel e secagem lenta em soluções salinas saturadas, até que as sementes atingissem os teores de água de interesse, de 40, 30, 20, 15, 10, 5% (base úmida). Após a secagem, as sementes foram armazenadas em câmara fria e seca (10°C, 50% UR) durante 0 e 4 meses, sendo a época zero caracterizada pela permanência das sementes durante 24 horas no ambiente de interesse. A determinação da qualidade fisiológica das sementes foi realizada por meio do teste de germinação, sendo avaliada a porcentagem de plântulas normais fortes, de plântulas com folhas cotiledonares expandidas, matéria seca de plântulas, condutividade elétrica e viabilidade dos embriões em teste de tetrazólio. A secagem de sementes de café a níveis abaixo de 10% é prejudicial à qualidade fisiológica das sementes, mas após o armazenamento, ocorre melhoria na germinação e vigor. Os efeitos da velocidade de secagem na longevidade das sementes de café variam com o teor de água após a secagem. O armazenamento por período de quatro meses não afeta a germinação de sementes de café, mas prejudica o vigor.

**Palavras-chave:** Viabilidade. Armazenamento. Germinação.

### ABSTRACT

Coffee seeds exhibit sensitivity to desiccation and low storage potential and are classified as intermediate. The cooling of seed in subzero temperatures is used for an alternative storage for long periods in Genebank of seeds of various crop species. However, this technique is still not entirely safe for species of intermediate characteristics such as the coffee seed. This research aimed to study the physiological and biochemical changes in seeds of *Coffea arabica* L. cooled to temperatures above zero and subzero. The work was performed at the Laboratory of Seed Analysis of the Federal University of Lavras (UFLA). Seeds of 2012/2013 crop of *Coffea arabica* L. Catuaí IAC 62 Yellow were used. Before cooling, the seeds were subjected to two types of drying, fast drying in silica gel and slow drying in saturated salt solutions until the seeds reached the water content of interest, 40, 30, 20, 15, 10, 5% (wet basis). After drying, the seeds were incubated for 24 hours for equilibration at temperatures of 10, -20 and -86°C. The physiological quality of seeds was performed by germination, where the normal strong seedlings, seedlings with expanded cotyledons, seedling dry, electrical conductivity and embryo viability in the tetrazolium test were evaluated. Superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT): For biochemical analyzes, enzyme systems were analyzed. Coffee seeds dried to 5% moisture lose their germination capacity. Seeds with moisture 40-10% and stored at 10 ° C exhibit higher physiological performance, regardless of the speed of drying. Exposure to -20 ° C, the faster drying, the lower the humidity tolerance at this temperature, and the slow drying is harmful to the quality of the seeds. Only the seeds subjected to rapid drying to moisture of 20% survive the exposure to temperatures of -86°C.

**Keywords:** Viability. Storage. Germination.

## 1 INTRODUÇÃO

A importância econômica do café é indiscutível pelo fato de ser um dos mais valiosos produtos primários comercializados no mundo. O Brasil é o maior produtor mundial de café, responsável por 30% do mercado internacional, e o estado de Minas Gerais responde por 47,6% da produção nacional (CONAB, 2014).

O objetivo básico do armazenamento de sementes é manter o nível de qualidade das mesmas até o plantio, garantindo, assim, um estande ideal e o potencial de produção da cultura em condições de campo.

O desenvolvimento da maior parte das sementes por ser dividido em três fases fisiológicas, sendo elas, a histodiferenciação, a expansão celular e a maturação final. Marcos Filho (2005) relata que podem ser observados dois tipos de comportamento em relação à secagem na etapa final da maturação. O primeiro ocorre na maioria das sementes, conhecidas como ortodoxas, que apresentam um mecanismo de secagem pré-programado antes da dispersão, resultando na redução do metabolismo. O segundo comportamento pode ser observado nas sementes que não passam pela dessecação na maturação final, sendo conhecidas como recalcitrantes, e que são dispersas com altos teores de água, metabolicamente ativas e prontas para germinar.

Sementes de comportamento intermediário toleram parcialmente a dessecação (ELLIS, 1991a; HONG E ELLIS, 1998; ROBERTS, 1990) e ao que tudo indica são dispersas com teores de água maiores que as ortodoxas, mas menores do que o observado nas recalcitrantes. Atualmente, o maior desafio enfrentado para a conservação das espécies sensíveis à dessecação é a elaboração de estratégias que possibilitem aumentar o tempo de armazenamento sem que ocorra a perda significativa de viabilidade dessas sementes (DUSSERT et al., 2006).



As sementes de café perdem rapidamente a viabilidade, não conservando seu poder germinativo por períodos superiores a seis meses. Assim, a conservação das sementes de café tem sido objeto de muitos estudos e os resultados até então obtidos têm se mostrado contraditórios, dificultando uma indicação geral sobre as condições mais favoráveis que permitam a manutenção da qualidade fisiológica por um período prolongado.

A taxa de secagem tem sido relatada como um fator que afeta o potencial para o armazenamento das sementes ortodoxas e também das sensíveis à dessecação (JOSÉ et al., 2011). Segundo Roberts (1973), sementes recalcitrantes não podem ser secadas sem que ocorram danos, e quando recém-colhidas apresentam viabilidade ligeiramente reduzida ao serem submetidas à perda inicial de água. Entretanto, há relatos que a secagem rápida foi eficiente para a sobrevivência das sementes a menores conteúdos de água (PAMMENTER; BERJAK, 1999; JOSÉ et al., 2011; DUSSERT, 2006).

Além da sensibilidade à dessecação, as sementes de café são sensíveis ao frio, não tolerando o armazenamento em temperaturas baixas (Dussert et al, 2001, 2003, 2006, 2012), o que impõe graves limitações e desafios ao armazenamento dessas sementes em longo prazo, uma vez que os procedimentos tradicionalmente empregados para o armazenamento das sementes ortodoxas, que geralmente envolvem a redução do seu teor de água e o acondicionamento em ambiente refrigerado, poderão causar-lhes danos irreversíveis, levando à perda da viabilidade. Por outro lado, a manutenção de elevados teores de água durante o armazenamento de sementes recalcitrantes pode favorecer o desenvolvimento de microrganismos prejudiciais às sementes ou culminar em sua germinação (ROSA et al., 2005; BRAZ, 2008)

Considerando a dificuldade de armazenamento de sementes intolerantes à dessecação como é o caso das sementes de café e, ainda, o fato de não terem sido estabelecidos o teor de água ideal na secagem para o armazenamento,

objetivou-se com este trabalho investigar os efeitos do armazenamento em sementes de café secadas em diferentes velocidades.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local e espécie utilizada**

O trabalho foi realizado no Laboratório Central de Análise de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Foram utilizadas sementes da safra 2012/2013, da espécie *Coffea arábica L.*, cultivar Catuaí Amarelo IAC 62.

### **2.2 Colheita, seleção e processamento das sementes**

Os frutos de café foram colhidos na Fazenda Experimental do Procafé, em Varginha, localizada a aproximadamente 110 Km de Lavras. Varginha apresenta como características geográficas uma altitude de 980 m, sendo o clima classificado como Tropical de altitude Cwb.

Os frutos no estágio de maturação cereja foram seletivamente colhidos nos ramos médios das plantas e nas partes medianas dos ramos. Após a colheita dos frutos, esses foram selecionados mais uma vez para uniformização do estágio de maturação e descascados mecanicamente. Após o descascamento, as sementes foram desmuciladas por fermentação em água por 24 horas. Após a desmucilagem, as sementes foram mantidas na sombra para uma pré-secagem, para retirada da umidade superficial. Para uniformização do tamanho foram utilizadas as sementes retidas na peneira de crivo circular nº20/64 x ¾, antes de serem submetidas aos tratamentos de secagem e armazenamento.

### 2.3 Secagem e armazenamento das sementes

As sementes de café foram secadas até diferentes teores de água em ambientes com temperaturas e umidades relativas controladas. Foram utilizados dois tipos de secagem: secagem rápida e secagem lenta. Para ambas as secagens, o ambiente hermético utilizado foram caixas de acrílico do tipo gerbox, devidamente lacradas com papel filme, para que não ocorresse mudança de umidade relativa dentro do recipiente.

Para a secagem rápida, as sementes foram colocadas sobre um telado em camada única em recipiente hermético contendo sílica gel ativada. A sílica foi trocada antes que houvesse mudança na coloração do indicador de umidade. Na secagem lenta, as sementes foram secadas em recipientes herméticos contendo soluções salinas saturadas capazes de manter a umidade relativa interna estável. As soluções salinas foram colocadas no fundo do recipiente, e as sementes em camada única sobre uma tela sem tocar nas soluções. A solução salina foi preparada dissolvendo-se o sal específico em água. Para a retirada da primeira umidade de 40% foi utilizado o sal cloreto de lítio. Para a umidade de 30% foi utilizado o cloreto de sódio e para as demais umidades, 20, 15, 10 e 5%, o sal cloreto de magnésio hexahidratado. Os sais, as concentrações e as umidades relativas proporcionadas pelas soluções salinas saturadas estão sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1 Soluções salinas saturadas utilizadas na secagem lenta de sementes de *Coffea arabica L*

Sal para Solução salina	Concentração	Umidade relativa de equilíbrio a 25°C
LiCl	50g/1000 mL H <sub>2</sub> O	95%
NaCl	Solução saturada	75%
MgCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	Solução saturada	35%

Os recipientes contendo as soluções salinas, sílica gel e sementes foram acondicionados em câmaras do tipo B.O.D, sob temperatura de 25°C. A perda de água durante a secagem foi monitorada por pesagens contínuas em balança de precisão de 0,001 g, até que as sementes atingissem os teores de água de interesse, de 40, 30, 20, 15, 10, 5% (base úmida). As sementes foram, então, acondicionadas em embalagem impermeável e colocadas em câmara fria e seca, até que todas as umidades foram obtidas. Depois de obtidas as sementes com os seis diferentes teores de água, nas duas diferentes velocidades de secagem, as sementes foram armazenadas em embalagem hermética por 0 e 4 meses. A época 0 meses foi caracterizada pela permanência das sementes em 24 horas no ambiente controlado. Após esse período, as sementes foram retiradas das embalagens, retirados os pergaminhos e deixadas em contato com o ambiente para o equilíbrio de temperatura e logo após submetidas à determinação do teor de água e às avaliações fisiológicas. O cálculo das umidades foi realizado por meio da equação 1 descrita por Cromarty et al. (1985):

$$M_f = M_i (100 - U_i) / (100 - U_f) \quad (1)$$

Onde:

$M_f$  = Massa da amostra (g) após a secagem;

$M_i$  = Massa da amostra (g) antes da secagem;

$U_i$  = Grau de umidade (%) antes da secagem;

$U_f$  = Grau de umidade (%) desejado após a secagem.

## 2.4 Avaliações

Foram realizados teste para verificar a qualidade fisiológica das sementes de café, bem como a determinação do teor de água das mesmas.

### 2.4.1 Determinação do teor de água

A determinação do teor de água foi realizada pelo método de estufa a 105°C, durante 24 horas. Os resultados foram expressos em porcentagens com base no peso úmido das sementes, de acordo com as Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009).

### 2.4.2 Análises Fisiológicas

Para avaliar a qualidade fisiológica das sementes, foram realizados os testes de germinação, porcentagem de plântulas normais fortes, de folhas cotiledonares expandidas aos 45 dias, matéria seca de plântulas, viabilidade dos embriões pelo teste de tetrazólio e teste de condutividade elétrica.

- a. **Teste de germinação** - quatro repetições de 25 sementes sem os pergaminhos foram colocadas para germinar em folhas de papel do tipo germitest, umedecidas com água em quantidade igual a 2,5 vezes o peso do papel seco. As sementes foram mantidas em germinador, regulado a temperatura de 30°C e a porcentagem de plântulas normais foi avaliada após 30 dias, segundo as prescrições das RAS (BRASIL, 2009).
- b. **Plântulas normais fortes** – aos 30 dias após o teste de germinação, computou-se as plântulas normais em fortes de acordo com o comprimento do eixo hipocótilo. Foi considerada como normal forte as plântulas com eixos de comprimento igual ou maior a 3 cm.

- c. **Plântulas com folhas cotiledonares expandidas** – aos 45 dias do início do teste de germinação, foram computadas as plântulas que apresentaram as folhas cotiledonares totalmente expandidas (estádio orelha de onça) e os resultados foram expressos em porcentagem.
- d. **Matéria seca de plântulas** – aos 45 dias após a semeadura, o eixo hipocótilo-radícula das plântulas normais foram isolados, acondicionados em sacos de papel e colocados em estufa de circulação de ar a 60°C, durante 5 dias, ou até massa constante. Após esse período foi determinada a matéria seca de raízes e de partes aéreas das plântulas, e os resultados expressos em miligramas por plântula.
- e. **Teste de tetrazólio** – foi realizado com quatro repetições de 10 sementes sem pergaminhos. As sementes foram colocadas em recipiente contendo água destilada para embebição por período de 48 horas, a 30°C (CLEMENTE et al., 2011). Após esse período, foi removido o embrião das sementes, com o auxílio de um bisturi, de tal forma que fossem evitados danos aos mesmos. Os embriões foram colocados em solução de tetrazólio a 0,5%, na ausência de luz, por período de 3 horas, a 30°C, para coloração. Após avaliação da viabilidade, os resultados foram expressos em porcentagem de embriões viáveis.
- f. **Condutividade elétrica** – foram realizadas com quatro repetições de 25 sementes, sem os pergaminhos, por tratamento. As sementes foram pesadas com precisão de 0,01 g, colocadas em copos plásticos contendo 37,5 ml de água deionizada e mantidas em BOD à temperatura de 25°C, durante 5 horas. A medição da condutividade elétrica foi realizada utilizando-se condutivímetro digital de bancada para soluções aquosas, modelo McA150 (PRETE, 1995). Os resultados foram expressos em  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ . Utilizou-se para o cálculo para a equação (2):

$$CE = (CE \text{ solução} - CE \text{ água})/\text{Peso (g)} \quad (2)$$

Onde:

CE = condutividade elétrica, em  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ .

## **2.5 Delineamento experimental e análises estatísticas**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial  $2 \times 6 \times 2$ , sendo duas velocidades de secagem, rápida em sílica gel e lenta em soluções salinas saturadas, seis teores de água das sementes (5,10,15,20,30,40%) e duas épocas de armazenamento (0 e 4 meses). Os resultados dos testes fisiológicos foram submetidos à análise de variância e ao teste de comparação de médias, por meio do teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. O fator quantitativo teores de água foram estudados por meio de uma análise de regressão na análise de variância, através do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2003).



### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 2 estão representados os valores médios das umidades das sementes de café, antes e após quatro meses de armazenamento. A maior variação foi observada nas sementes secadas em sílica gel até teores de água próximos a 30%, sendo essa variação de 2,2%.

Tabela 2 Teores médios de água, em %, em sementes de café antes e após quatro meses de armazenamento em câmara fria e seca, nas diferentes velocidades de secagem

Secagem lenta		Secagem rápida	
0 meses	4 meses	0 meses	4 meses
40,2	40,1	39,3	39,2
29,3	29,4	31,8	29,6
20,8	20,4	20,3	19,5
14,9	15,9	15,0	14,0
10,9	11	9,3	9,8
5,2	6,2	4,2	6,1

De acordo com os resultados da análise de variância, observa-se que para as variáveis respostas plântulas normais aos 30 dias, plântulas normais fortes, folhas cotiledonares expandidas, condutividade elétrica e matéria seca de raiz houve interação significativa entre os fatores velocidade de secagem, teor de água e tempo de armazenamento. Para o teste de tetrazólio e matéria seca de hipocótilo, houve interação significativa apenas entre os fatores teor de água e tempo de armazenamento.

Os resultados dos testes de plântulas normais aos 30 dias e teste de tetrazólio estão representados na tabela 3 e ilustrados na figura 1. Pelos resultados de porcentagem de germinação, observa-se que a umidade de 5% foi altamente prejudicial às sementes, independentemente da velocidade em que

essas são secadas. Entretanto, após quatro meses de armazenamento, as sementes com 5% de teor de água apresentaram melhor germinação do que no tempo zero.

Tabela 3 Porcentagem média de plântulas normais de sementes de café, em função das diferentes velocidades de secagem e umidade para cada tempo de armazenamento em câmara fria e seca

Umidade (%)	Germinação (%)			
	0 meses		4 meses	
	Lenta	Rápida	Lenta	Rápida
5	4 aC	5 aB	21 aC	15 aC
10	82 aB	86 aA	81 aB	85 aA
15	94 aA	92 aA	93 aA	94 aA
20	93 aA	94 aA	83 bB	93 aA
30	91 aA	89 aA	95 aA	65 bB
40	95 aA	94 aA	92 aA	96 aA

Médias seguidas de mesma letra minúscula, na linha e maiúscula, na coluna, para cada tempo de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

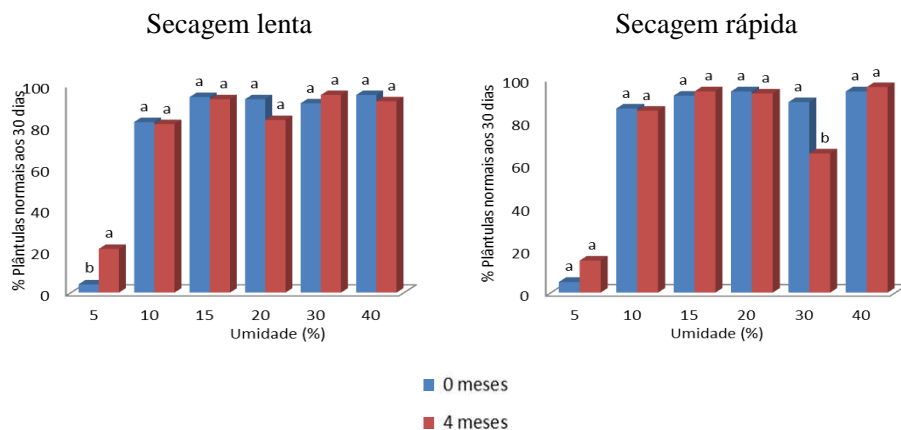


Figura 1 Porcentagem média de plântulas normais aos 30 dias de sementes de café submetidas à secagem lenta e rápida, antes e após o armazenamento em câmara fria.

Para os demais teores de água a quatro meses de armazenamento, não ocorre queda na porcentagem de plântulas normais aos 30 dias, exceto para as sementes com teor de água de 30% e secadas rapidamente (Tabela 3). De uma forma geral, a velocidade de secagem não influenciou a germinação das sementes armazenadas por quatro meses em câmara fria.

Gentil et al. (2001) trabalhando com sementes de *Coffea arabica* L. verificaram que a redução do teor de água até 10% e armazenadas em 10°C são favoráveis à manutenção da qualidade das sementes por até 6 meses.

Braccini et al. (1998) estudando a conservação de café robusta em função do grau de umidade, encontraram que as sementes acondicionadas com grau de umidade mais altos (35%) apresentaram maiores valores de germinação, em relação as sementes armazenadas com 25% de umidade. Porém, Rosa et al. (2005) estudando o armazenamento de sementes de café concluíram que a umidade de 35% favorece a incidência de fungos, independente do método de secagem.

Pelos resultados no teste de tetrazólio (Figura 2, Tabela 4) nota-se que os embriões mantiveram sua viabilidade após quatro meses de armazenamento em câmara fria, exceto nas sementes com umidades de 5 e 30%, onde houve uma perda significativa na qualidade fisiológica das sementes de café. Os embriões com umidade por volta de 40% apresentaram alta viabilidade quando comparado aos demais teores de água, antes e após quatro meses de armazenamento.

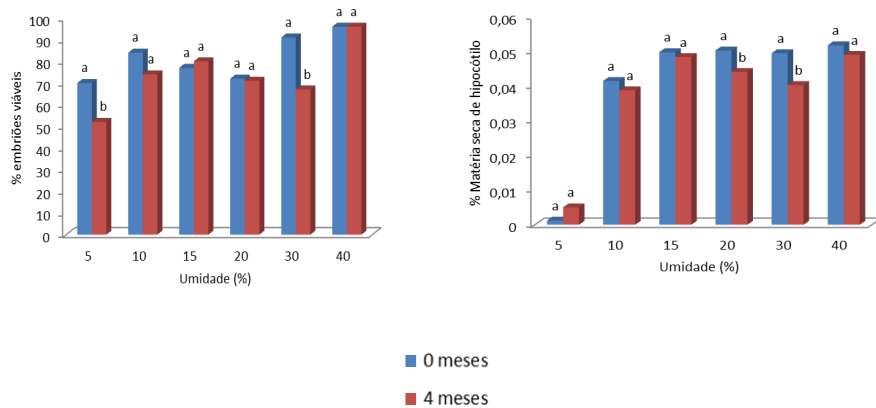


Figura 2 Dados médios de embriões viáveis pelo teste de tetrazólio e de matéria seca de hipocótilo de sementes de café em função da umidade e tempo de armazenamento

Tabela 4 Dados médios de embriões viáveis pelo teste de tetrazólio (%) e de matéria seca de hipocótilo (g) de sementes de café em função da umidade e tempo de armazenamento

Umidade (%)	Tetrazólio (%)		MS hipocótilo (g)	
	0 meses	4 meses	0 meses	4 meses
<b>5</b>	70 aB	52 bD	0,0012aC	0,0050aD
<b>10</b>	84 aA	74 aC	0,0415aB	0,0388aC
<b>15</b>	77 aB	80 aB	0,0498aA	0,0484aA
<b>20</b>	72 aB	71 aC	0,0503aA	0,0441bB
<b>30</b>	91 aA	67 bC	0,0495aA	0,0403bC
<b>40</b>	96 aA	96 aA	0,0518aA	0,0490aA

Médias seguidas de mesma letra minúscula, na linha e maiúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Pelos resultados de plântulas normais fortes aos 30 dias (Tabela 5 e Figura 3), a secagem lenta promoveu uma diminuição no vigor das sementes armazenadas no período de quatro meses, nos teores de umidade intermediários, entre 10 e 30%. Já na secagem rápida, a qualidade fisiológica das sementes foi mantida após quatro meses de armazenamento, não ocorrendo perda de vigor. Sementes de café mais úmidas, com 40% de umidade, assim como as secadas até 10% de teor de água, apresentaram melhor qualidade fisiológica, antes e após secagem rápida e armazenamento em câmara fria e seca.

Tabela 5 Dados médios, em porcentagem, de plântulas normais fortes aos 30 dias e de folhas cotiledonares expandidas aos 45 dias, em função da velocidade de secagem, grau de umidade e tempo de armazenamento de sementes de café

U(%)	Plântulas normais fortes				Folhas cotiledonares expandidas			
	0 meses		4 meses		0 meses		4 meses	
	Lenta	Rápida	Lenta	Rápida	Lenta	Rápida	Lenta	Rápida
5	0 aB	1 aD	6 aD	4 aC	0 aC	5 aB	11 aC	11 aC
10	38 aA	40 aA	20 bC	40 aA	78 bB	88 aA	75 aB	72 aB
15	41 aA	24 bC	28 aB	24 aB	91 aA	97 aA	86 aA	90 aA
20	36 aA	21 bC	25 aB	22 aB	93 aA	96 aA	79 aB	84 aA
30	34 aA	17 bC	27 aB	21 aB	96 aA	93 aA	89 aA	69 bB
40	33 aA	32 aB	33 bA	40 aA	99 aA	92 aA	83 aA	90 aA

Médias seguidas de mesma letra minúscula, na linha e maiúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

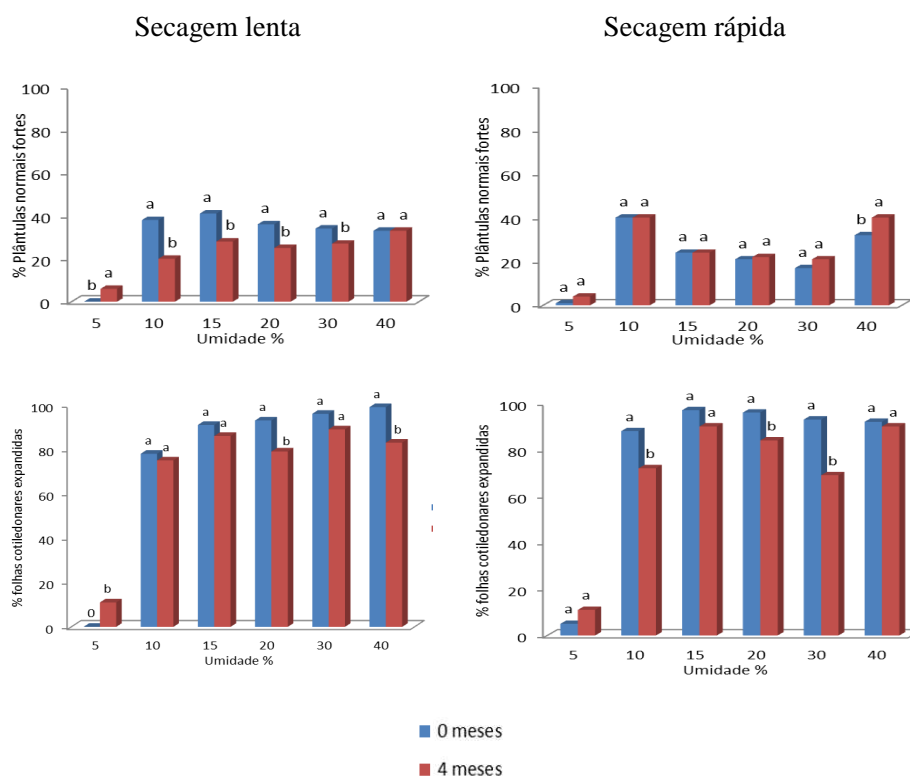


Figura 3 Porcentagem média de plântulas normais fortes aos 30 dias e de folhas cotilédones expandidas aos 45 dias de sementes de café submetidas à secagem lenta e rápida, antes e após o armazenamento em câmara fria

Pelos resultados de porcentagem de folhas cotilédones expandidas aos 45 dias (Tabela 5 e Figura 3) observa-se perda de vigor nas sementes, à medida que ocorre redução da umidade em ambas as velocidades de secagem, exceto para as sementes secadas até 5%.

Vieira et al. (2007) observaram que as sementes de café apresentaram redução linear nos resultados de emergência e de índice de velocidade de emergência, ao longo do armazenamento por nove meses, independentemente do local de armazenamento, bem como do tratamento de secagem utilizado.

Pelos resultados do teste de condutividade elétrica (Tabela 6 e Figura 4), observa-se também que a secagem causa perda de vigor nas sementes de café. As sementes mais úmidas apresentaram menores valores de condutividade elétrica, o que indica menor quantidade de lixiviados e conseqüentemente maior qualidade fisiológica. Essa redução foi observada tanto na lenta quanto na secagem rápida.

Tabela 6 Dados médios de condutividade elétrica, em  $\mu\text{Scm}^{-1}\text{g}^{-1}$ , em função da velocidade de secagem, umidade e tempo de armazenamento em sementes de café

Umidade (%)	0 meses		4 meses	
	Lenta	Rápida	Lenta	Rápida
5	28,64 aD	32,66 bD	23,96 aD	27,00 bD
10	25,54 aC	25,70 aC	20,47 aC	24,41 bD
15	25,03 aC	23,68 aC	21,60 aC	26,20 bD
20	21,94 aB	21,03 aB	20,40 aC	21,22 aC
30	22,54 bB	18,93 aB	16,92 aB	16,63 aB
40	15,32 aA	15,49 aA	12,41 aA	12,89 aA

Médias seguidas de mesma letra minúscula, na linha e maiúscula, na coluna, para cada tempo de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.



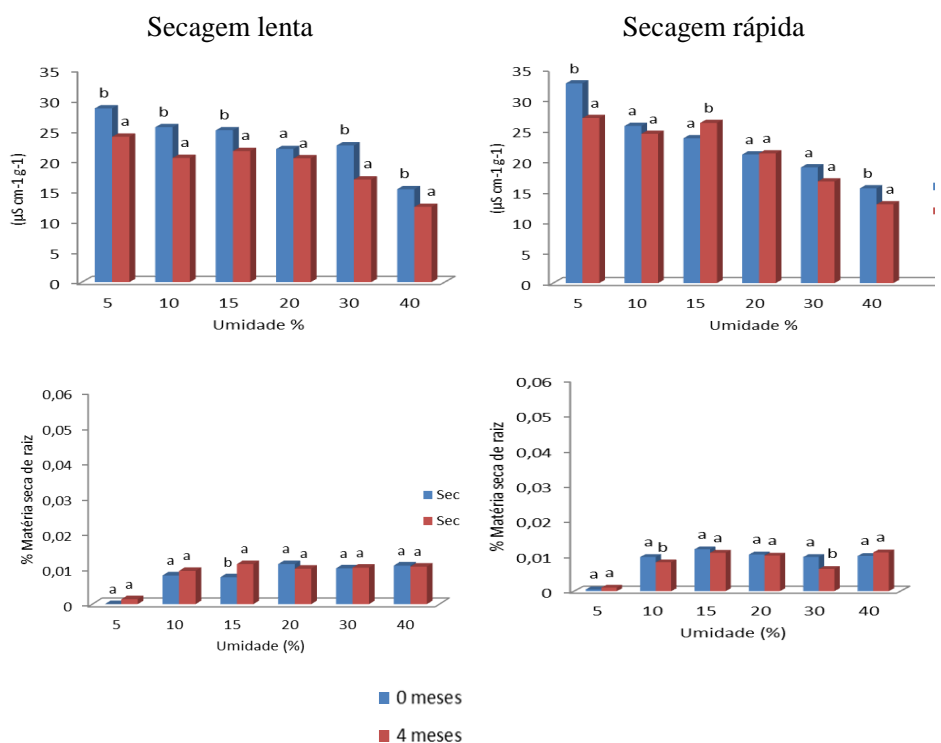


Figura 4 Dados médios de condutividade elétrica e matéria seca de raiz, de sementes de café submetidas à secagem lenta e rápida, antes e após o armazenamento em câmara fria.

O teste de condutividade elétrica tem se apresentado como indicador consistente da integridade de membranas celulares. Dessa forma, os maiores valores de condutividade elétrica ocorreram em função da degradação das membranas ocasionadas por maiores taxas de redução de água das sementes.

O aumento no valor da condutividade elétrica, em função da diminuição do teor de água das sementes está relacionado com o processo de desorganização das membranas celulares, em função da desidratação das sementes. Quanto maior o teor de água das sementes, melhor o estado de organização dos sistemas

de membranas celulares, conseqüentemente menor a lixiviação de solutos (VIEIRA et al.,2002).

Com relação às alterações nos valores da condutividade elétrica durante o armazenamento, observa-se resultado contraditório. Observa-se maiores valores nas sementes antes do armazenamento em quase todas as umidades das sementes secadas mais lentamente, e nas umidades de 40 e 5% daquelas secadas rapidamente. No entanto, os valores de condutividade elétrica nas sementes foram relativamente baixos, quando comparado a outros trabalhos, indicando que, de maneira geral, as características das sementes avaliadas por meio desse teste não foram muito afetadas durante esse pequeno período de armazenamento.

Pelos resultados de matéria seca de plântulas (Tabelas 4 e 7; Figura 2) observa-se resultados semelhantes aos demais testes. Ocorre redução da qualidade com a redução de água nas sementes, sendo essa redução mais drástica nos menores teores de água e em sementes secadas mais lentamente. Esse maior efeito da velocidade de secagem é observado nos resultados de matéria seca de raízes, porém não foi significativo para matéria seca de hipocótilo.

Tabela 7 Dados médios, em gramas, de matéria seca de raiz aos 45 dias, em função da velocidade de secagem, umidade e tempo de armazenamento em sementes de café

Umidade (%)	MS raiz			
	0 meses		4 meses	
	Lenta	Rápida	Lenta	Rápida
<b>5</b>	0,0000aC	0,0005aC	0,0014aB	0,0010aD
<b>10</b>	0,0081bB	0,0097aB	0,0094aA	0,0082aB
<b>15</b>	0,0076bB	0,0119aA	0,0113aA	0,0109aA
<b>20</b>	0,0113aA	0,0104aB	0,0100aA	0,0101aA
<b>30</b>	0,0101aA	0,0097aB	0,0103aA	0,0063bC
<b>40</b>	0,0109aA	0,0100aA	0,0106aA	0,0110aA

Médias seguidas de mesma letra minúscula, na linha e maiúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Vieira et al. (2007), estudando ambientes e métodos de secagem em sementes de café, concluíram que secagem rápida prejudica o vigor e a viabilidade das sementes de café, independentemente do local de armazenamento. Concluíram também que em condições de câmara fria e seca, é possível armazenar sementes de café sem secagem ou secadas lentamente, por nove meses.

É interessante observar que em todos os testes estudados, as sementes secadas até 5% apresentaram melhoria na qualidade fisiológica após quatro meses de armazenamento. Embora esse resultado seja inesperado é também observado em outros trabalhos em desenvolvimento (dados não publicados). Esses resultados não têm importância do ponto de vista da propagação das sementes, tendo em vista os baixos valores de germinação e vigor encontrados nesse teor de umidade. No entanto, a identificação dos eventos bioquímicos e moleculares envolvidos nesse processo pode contribuir para o entendimento da perda da qualidade fisiológica em sementes dessa espécie.

Os resultados referentes ao armazenamento de sementes de café apresentados aqui referem-se a uma parte dos trabalhos em andamento, realizados para investigar novas alternativas para o armazenamento seguro, em médio e longo prazo de sementes dessa espécie. Aos 12 meses de armazenamento serão avaliados novamente os efeitos das temperaturas de 10°C, bem como de -20 e -86°C sobre a qualidade das sementes armazenadas nessas condições.

#### **4. CONCLUSÕES**

A secagem de sementes de café a níveis abaixo de 10% é prejudicial à qualidade fisiológica das sementes, mas após o armazenamento ocorre melhoria na germinação e vigor.

Os efeitos da velocidade de secagem na longevidade das sementes de café variam com o teor de água após a secagem.

O armazenamento por período de quatro meses não afeta a germinação de sementes de café, mas prejudica o vigor.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Coordenação de Laboratório Vegetal. Brasília, 2009.

BRACCINI, A.L.; BRACCINI, M.C.L.; SCAPIM, C.A.; OLIVEIRA, V.R. ANDRADE, C.A.D. Conservação de sementes de café-robusta (*Coffea canéfora* Pierre ex Frochner) cultivar conillon em função do grau de umidade e do tipo de embalagem. *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 20, no 2, p.160-169 - 1998

BRAZ, M.R.S.; ROSSETTO, C.A.V. Condicionamento fisiológico na germinação e no vigor de sementes armazenadas de café. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n.7, p. 1849-1856, out. 2008.

CLEMENTE, A.C.S. et al. Preparo das sementes de café para a avaliação da viabilidade pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.33,n.1,p.38-44, jul. 2011

CONAB, **Acompanhamento da safra brasileira**, agosto 2014/ Companhia Nacional de Desenvolvimento. Brasília: Conab, 2014.

CROMARTY, A. S.; ELLIS, R. H.; ROBERTS, E. H. Design of seed storage facilities for genetic conservation. Rome : **International Board of Plant Genetic Resources**,. 100 p. 1985

DUSSERT, S.; DAVEY, M.W.; LAFFARGUE, A.; DOULBEAU, S.; SWENNEN, R.; ETIENNE, H. Oxidative stress, phospholipid loss and lipid hydrolysis during drying and storage of intermediate seeds. **Physiol. Plant**. In press, 2006.

DUSSERT, S.; COUTURON, E.; ENGELMANN, F.; JOET, T. Biologie de la conservation des semences de caféiers : aspects fondamentaux et conséquences pratiques. Une revue. **Cah Agric**, vol. 21, n8 2-3, mars-avril – mai-juin 2012

DUSSERT, S., CHABRILLANGE, N., ROCQUELIN, G., ENGELMANN, F., LOPEZ, M., HAMON, S. Tolerance of coffee (*Coffea* spp.) seeds to ultralow temperature exposure in relation to calorimetric properties of tissue water, lipid composition and cooling procedure. **Physiol. Plant**. 112:495-504. 2001

DUSSERT, S., CHABRILLANGE, N., MONTILLET, J.L., AGNEL, J.P., ENGELMANN F, NOIROT M. Basis of coffee seed sensitivity to liquid

nitrogen exposure: oxidative stress or imbibitional damage? **Physiol. Plant.** 119:534–543. 2003

ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H. Effect of temperature and moisture content on the germination of papaya seeds. **Seed Science Research**, California, v.1, p.69-72, 1991a.

FERREIRA, D.F. **Programa de análises estatísticas (statistical analysis software) e planejamento de experimentos – SISVAR 5.0, build 67**, Lavras: DEX/UFLA, 2003. Software

GENTIL, D. F. de O. Conservação de sementes do cafeeiro: resultados discordantes ou complementares? **Bragantia**, Campinas, v. 60, n. 3, p. 333-338, 2001.

HONG, T.D.; ELLIS, R.H. Contrasting seed storage behavior among different species of Meliaceae. **Seed Science and technology**, Zurich, v.26, n.1, p.77-95, 1998.

JOSÉ, A.C. et.al. Effects of drying rate and storage time on *Magnolia ovate* Spreng: seed viability. **Seed Science and technology**, Zúrique, v.39, n.2, p. 425-434, July, 2011.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 459P.

ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, 1, 499–514. 1973

ROBERTS, E.H ; ELLIS, R.H., HONG, T.D. An intermediate category of seed storage behaviour?I. Coffee. *Journal of Experimental Botany* 41 :1167-74.1990

ROSA, S.D.V.F. Da et al. Effects of diferente drying rates on the physiological quality of *Coffea canéfora* Pierre seeds. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v.17, n.2, p.199-205, Mar./Apr.2005

PAMMENTER, N.W.; BERJAK, P. A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms. **Seed Science Research**, Wallingford, v.9, n.1, p.13-37, 1999

PRETE, C.E..C; ABRAHÃO, J.T.M. Condutividade elétrica dos exsudatos de grãos de café (*Coffea arabica L.*) I: desenvolvimento da metodologia. **Semina**, Londrina, v.16, n.1, p.17-21, 1995

VIEIRA, R. D., PENARIOL, A. L., PERECIN, D., & PANOBIANCO, M. Condutividade elétrica e teor de água inicial das sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 9, p. 1333-1338, 2002.

VIEIRA, A.R. et al. Armazenamento de sementes de cafeeiro: ambientes e métodos de secagem. **Rev. bras. sementes**, vol.29, n.1, 2007.

## APÊNCICE A

Equações de regressão e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) referentes ao capítulo 2. Qualidade de sementes de café submetidas à secagem rápida e lenta

Tabela 1A Equações de regressão e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) da viabilidade de sementes de *Coffea arabica* L. secadas em diferentes velocidades de secagem

Equação para plântulas normais aos 30 dias	$R^2$
$y = -92,3006 + 25,4459x - 1,0547x^2 + 0,0134x^3$	94,3
Equação para teste de tetrazólio	$R^2$
$y = 7,1807 + 20,0027x - 1,7702x^2 + 0,0601x^3 - 0,0007x^4$	99,9

Tabela 1B Equações de regressão e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) do vigor de sementes de *Coffea arabica* L. secadas em diferentes velocidades de secagem

Taxa de secagem	Equação para plântulas normais fortes	$R^2$
Lenta	$y = -45,2320 + 12,1592x - 0,5240x^2 + 0,0067x^3$	89,1
Rápida	$y = -112,1815 + 34,2616x - 2,6659x^2 + 0,0800x^3 - 0,0008x^4$	90,5
Taxa de secagem	Equação para folhas cotiledonares expandidas	$R^2$
Lenta	$y = -93,2492 + 24,2698x - 0,9647x^2 + 0,0120x^3$	95,4
Rápida	$y = -93,0318 + 25,9087x - 1,0647x^2 + 0,0133x^3$	93,3
Taxa de secagem	Equação para matéria seca de raiz	$R^2$
Lenta	$y = -0,0089 + 0,0023x - 0,0001x^2 + 0,0000x^3$	91,6
Rápida	$y = -0,0120 + 0,0033x - 0,0001x^2 + 0,0000x^3$	94,2
Taxa de secagem	Equação para matéria seca de hipocótilo	$R^2$
Lenta	$y = -0,0457 + 0,0115x - 0,0004x^2 + 0,0000x^3$	98,1
Rápida	$y = -0,0545 + 0,0150x - 0,0006x^2 + 0,0000x^3$	94,4
Taxa de secagem	Equação para condutividade elétrica	$R^2$
Lenta	$y = 29,7249 - 0,3277x$	88,9
Rápida	$y = 31,5318 - 0,4307x$	88,7



## APÊNDICE B

Equações de regressão e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) referentes ao capítulo 3. Qualidade de sementes de café submetidas às temperaturas supra e subzero

Tabela 1A Equações de regressão e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) dos testes fisiológicos de sementes de *Coffea arabica* L. secadas em diferentes velocidades de secagem e equilibradas em diferentes temperaturas supra e subzero

Germinação	Equação para plântulas normais fortes	$R^2$
10°C	$y = -92,3006 + 25,4459x - 1,0547x^2 + 0,0134x^3$	94,3
-20°C/Lenta	$y = 103,7314 - 41,3860x + 5,0271x^2 - 0,1975x^3 + 0,0024x^4$	99,4
-20°C/Rápida	$y = -92,1175 + 23,6879x - 0,8494x^2 + 0,0097x^3$	95,8
Tetrazólio		
10°C	$y = 7,1806 + 20,0027x - 1,7702x^2 + 0,0601x^3 - 0,0007x^4$	99,9
-20°C/Lenta	$y = -60,9599 + 24,2978x - 1,2252x^2 + 0,0164x^3$	93,4
-20°C/Rápida	$y = -7,4556 + 13,8148x - 0,5734x^2 + 0,0064x^3$	87,3
Condutividade		
10°C/Lenta	$y = 34,5769 - 1,4501x + 0,0645x^2 - 0,0010x^3$	96,6
10°C/Rápida	$y = 35,9800 - 0,9839x + 0,0122x^2$	95,9
-20°C/Lenta	$y = 32,8428 - 1,0469x + 0,0460x^2 - 0,0007x^3$	84,8
-20°C/Rápida	$y = 29,2311 - 0,4062x + 0,0018x^2$	95,2

Tabela 1B Equações de regressão e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) dos testes fisiológicos de sementes de *Coffea arabica* L. secadas em diferentes velocidades de secagem e equilibradas em diferentes temperaturas supra e subzero

Folhas cotiledonares	Equação para plântulas normais fortes	$R^2$
10°C/Lenta	$y = -93,2492 + 24,2698x - 0,9647x^2 + 0,0119x^3$	95,4
10°C/Rápida	$y = -93,0318 + 25,9087x - 1,0647x^2 + 0,0133x^3$	93,3
-20°C/Lenta	$y = 127,2194 - 48,3926x + 5,5655x^2 - 0,2133x^3 + 0,0026x^4$	99,4
-20°C/Rápida	$y = -98,5756 + 24,9076x - 0,9233x^2 + 0,0091x^3$	98,0
Plântulas normais fortes		
10°C/Lenta	$y = -101,8422 + 29,3755x - 2,0790x^2 + 0,0596x^3 - 0,0006x^4$	99,8
10°C/Rápida	$y = -112,1815 + 34,2616x - 2,6659x^2 + 0,0800x^3 - 0,0008x^4$	90,5
-20°C/Lenta	$y = 51,6382 - 20,1464x + 2,3721x^2 - 0,0919x^3 + 0,0011x^4$	98,0
-20°C/Rápida	$y = -81,5554 + 23,7023x - 1,6561x^2 + 0,0462x^3 - 0,0004x^4$	92,2
MS raiz		
10°C/Lenta	$y = -0,0090 + 0,0023x - 0,0001x^2 + 0,0000x^3$	91,6
10°C/Rápida	$y = -0,0120 + 0,0033x - 0,0001x^2 + 0,0000x^3$	94,2
-20°C/Lenta	$y = 0,0141 - 0,0053x + 0,0006x^2 - 0,0001x^3 + 0,0000x^4$	99,6
-20°C/Rápida	$y = -0,0063 + 0,0017x - 0,0000x^2$	95,7
MS hipocótilo		
10°C/Lenta	$y = -0,0457 + 0,0115x - 0,0004x^2 + 0,0000x^3$	98,1
10°C/Rápida	$y = -0,0545 + 0,0150x - 0,0006x^2 + 0,0000x^3$	94,4
-20°C/Lenta	$y = 0,0670 - 0,0254x + 0,0029x^2 - 0,0001x^3 + 0,0000x^4$	99,1
-20°C/Rápida	$y = -0,0280 + 0,0078x - 0,0002x^2$	94,2