

JOSETE PERTEL

**ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DURANTE O
ENVELHECIMENTO NATURAL E ARTIFICIAL DE SEMENTES DE
CAFÉ (*Coffea arabica* L.)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de "Doctor Scientiae".

**VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2004**

AGRADECIMENTO

A Deus, sempre presente em minha vida; certeza infinita de que nunca estarei só.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), em especial ao Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade de realização do curso.

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

Ao professor Tocio Sedyama, pelo seu empenho, como coordenador do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, em sempre ajudar os alunos do programa e pelos conselhos e ensinamentos desde a graduação.

À professora Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias, pela orientação, pela amizade, pela compreensão, pela objetividade e pelos ensinamentos transmitidos durante o curso.

Ao Dr. Luiz Antônio dos Santos Dias, pela atenção e paciência em todos os momentos e pela indispensável ajuda nas análises estáticas.

À professora Eveline Mantovani Alvarenga, pela amizade, pelas sugestões e pelos momentos de descontração.

Aos professores Fernando Luiz Finger e Eduardo Euclides de Lima e Borges, pelo apoio, incentivo, atenção e pela colaboração na realização das análises bioquímicas.

Aos professores da Universidade Federal de Viçosa, os quais muito contribuíram para a minha formação pessoal e profissional.

À pesquisadora Maria Carmem Bhéring, pelo carinho, amizade, paciência, apoio e pelo convívio agradável.

A Mara Rodrigues e Vicente Madaleno dos Santos, pela amizade, pela ajuda e pelo apoio constante.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), a unidade Experimental de Patrocínio, em especial ao pesquisador Antônio Alves Pereira pelo esforço na aquisição das sementes de café.

Aos meus pais José e Orlete, aos meus irmãos, cunhados e sobrinhos, pelo carinho e constante estímulo, tornando possível minhas conquistas.

Ao meu filho Lucas, pelo amor, carinho, tolerância e pelos valorosos momentos de alegria e ensinamentos.

Aos laboratoristas Mauro, Gilberto, José Eduardo, Geraldo e Marcos, pela amizade, pela eficiente ajuda, não medindo esforços na realização deste trabalho.

Ao estudante de iniciação científica Daniel Naveira dos Santos Portocarrero, pela amizade, dedicação e pela valiosa ajuda na condução do trabalho.

Aos amigos do laboratório de pesquisa de sementes e de pós-colheita da Fitotecnia e de sementes florestais, Frederico, Débora, Daniel, Vagner, Aldo, Ludmila, Daniel, Rosilene, Rodrigo, Fernanda, Paulo, Vanessa, Luthiani, Uellinton, Sabrina e Cláudia, pela amizade e companhia agradável durante as atividades de laboratório.

Aos amigos Wanderlei, Paulo Marçal, Allan, Cláudia, Marlei, Raquel e Telma, pela amizade, atenção e ajuda dispensada em diversos momentos.

Enfim, a todos aqueles que, de alguma forma, auxiliaram na realização deste trabalho, o meu reconhecimento e a minha gratidão.

Muito Obrigada!!!

BIOGRAFIA

JOSETE PERTEL, filha de José Pertel e Orlete Maria Rossi Pertel, nasceu em Ibirajú, Espírito Santo, em 14 de agosto de 1967.

Realizou os cursos primário e secundário no Espírito Santo.

Em 1997, graduou-se em Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais.

Em março de 1997, iniciou seus estudos no Programa de Mestrado em Fitotecnia pela Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais, tendo concluído em fevereiro de 2000.

Em fevereiro de 2000, já iniciou o curso de doutorado em Fitotecnia, na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais, concluindo-o em maio de 2004.

ÍNDICE

	Página
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Estrutura da semente de café.....	3
2.2. Composição química das sementes de café.....	4
2.3. Armazenamento das sementes	6
2.4. Deterioração das sementes.....	7
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1. Determinação do grau de umidade (% base úmida).....	19
3.2. Avaliação da qualidade das sementes.....	20
3.2.1. Germinação.....	20
3.2.2. Primeira contagem de germinação.....	20
3.2.3. Envelhecimento acelerado.....	21
3.2.4. Peso de matéria verde e seca das plântulas.....	21
3.2.5. Condutividade elétrica.....	22
3.2.6. Classificação do vigor das plântulas	22
3.3. Avaliação bioquímica das sementes.....	22
3.3.1. Determinação do teor de lipídios.....	22
3.3.2. Determinação dos açúcares solúveis.....	23
3.3.3. Determinação da taxa respiratória das sementes.....	23
3.4. Análise estática.....	24

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4.1. Grau de umidade das sementes.....	26
4.2. Qualidade fisiológica das sementes.....	27
4.2.1. Germinação.....	27
4.2.2. Primeira contagem de germinação.....	33
4.2.3. Envelhecimento acelerado.....	35
4.2.4. Matéria verde das plântulas.....	38
4.2.5. Matéria seca das plântulas.....	40
4.2.6. Condutividade elétrica.....	43
4.2.7. Classificação do vigor das plântulas.....	47
4.3. Avaliação bioquímica das sementes.....	50
4.3.1. Lipídios.....	50
4.3.2. Açúcares solúveis	55
4.3.3. Taxa respiratória das sementes.....	61
5. CONCLUSÕES.....	71
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
APÊNDICE.....	84

RESUMO

PERTEL, Josete, D.S., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2004.
Alterações fisiológicas e bioquímicas durante o envelhecimento natural e artificial de sementes de café (*Coffea arabica* L.). Orientadora: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias. Conselheiros: Fernando Luiz Finger e Luiz Antônio dos Santos Dias.

O trabalho teve como objetivos identificar as alterações fisiológicas e bioquímicas ocorridas em sementes de café durante o envelhecimento natural, decorrente do armazenamento, e artificial, obtido com o teste de envelhecimento acelerado e estabelecer uma possível relação entre as alterações bioquímicas decorrentes do processo de envelhecimento e a perda da qualidade fisiológica. Para tanto, foram conduzidos dois experimentos, utilizando sementes de duas cultivares de café, Catuaí Vermelho IAC 144 e Rubi MG 1192. No primeiro experimento, para provocar o envelhecimento artificial, as sementes foram submetidas a 42°C e 100% UR, por períodos de 0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas. Após cada período, foram realizadas avaliações da qualidade fisiológica pelos testes de germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, peso de matéria verde e de matéria seca das plântulas, condutividade elétrica e classificação do vigor das plântulas e determinações bioquímicas (teores de lipídios, açúcares solúveis e taxa respiratória). No segundo experimento (envelhecimento natural), as sementes das duas cultivares foram armazenadas a partir de setembro/2003, por 12 meses em câmara fria e em condição ambiente, utilizando-se os mesmos testes empregados no primeiro experimento, os quais foram conduzidos aos zero, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 meses. Os

resultados permitiram concluir que tanto o envelhecimento natural como o artificial acarretaram decréscimos na germinação e no vigor das sementes. Observou-se também, que o envelhecimento natural e o artificial promoveram alterações na taxa respiratória, nos teores de açúcares solúveis e de lípidos das sementes de café. Não se verificou associação entre deterioração das sementes de café e alterações nos teores de açúcares solúveis e de lípidos. As sementes de café armazenadas em condição ambiente perderam a viabilidade aos seis meses, enquanto em câmara fria ocorreu retardamento no processo de deterioração, conservando a germinação em torno de 70% aos 12 meses. A primeira contagem de germinação, condutividade elétrica e classificação do vigor das plântulas foram mais sensíveis que as determinações bioquímicas para monitorar o processo de deterioração das sementes de café.

ABSTRACT

PERTEL, Josete, D.S., Universidade Federal de Viçosa, May 2004. **Physiological and biochemical alterations during natural and artificial ageing of coffee seeds (*Coffea arabica* L.)**. Adviser: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias. Committee members: Fernando Luiz Finger and Luiz Antônio dos Santos Dias.

The study was executed to evaluate the physiological and biochemical alterations occurred in coffee seeds during natural ageing, due to storage, and artificial ageing, by the use of accelerated ageing test and evaluate one possible relationship between the biochemical alterations due to the process of ageing and loss of physiological quality. Two experiments were carried using seeds of two coffee cultivars, Catuaí Vermelho IAC 144 and Rubi MG 1192. In the first experiment, for inducing the artificial ageing, the seeds were submitted at 42°C and 100% relative humidity for 0, 24, 48, 72, 96 and 120 hours. After each period, the physiological quality of seeds were evaluated by the germination test, first count germination, accelerated ageing, weight of fresh matter and dry matter of the seedling, electrical conductivity and seedling vigor classification and the determinations biochemical (lipids and soluble sugars content and respiratory rate). In the second experiment (natural ageing), the coffee seeds of two cultivars were stored beginning September 2003, for 12 months, in a cold room and under room temperature conditions, using the same tests utilized in the first experiment, which were carried for 0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 months. The results showed that aged seeds, both naturally and artificially, had decreasing germination and vigor. And it was observed also that natural and artificial ageing promoted alterations in

respiratory rate and soluble sugars and lipids content in coffee seeds. The seeds artificially aged presented higher respiratory rates than the seeds naturally aged. It was not found any association between deterioration of coffee seeds and alterations in the soluble sugars and lipids content. The coffee seeds stored at room temperature conditions lost viability after six months, while in cold room storage had a delay in the deterioration process, allowing conservation of the germination near to 70% after twelve months. The first count germination, electric conductivity and seedling vigor classification tests were more sensitive than the biochemical parameters for monitoring the deterioration process of the coffee seeds.

1. INTRODUÇÃO

O café é um dos principais produtos agrícolas no mercado internacional, sendo produzido por mais de cinquenta países em diversos continentes, sendo o Brasil o principal produtor.

A importância socio-econômica da cafeicultura para o País é indiscutível, havendo necessidade, contudo, de se implementar a sua eficiência produtiva acompanhada de redução de custos de produção, de modo a se obter maior rentabilidade. Sabe-se que a cultura do cafeeiro depende de vários fatores para alcançar níveis adequados de produtividade e dentre estes, destaca-se a produção de mudas de alta qualidade. Portanto, é de fundamental importância a utilização de sementes de elevada qualidade.

As sementes de café são reconhecidamente problemáticas quanto à qualidade fisiológica, não conservando o seu poder germinativo em níveis satisfatórios por períodos superiores a 4-6 meses após a colheita. Em virtude disto, a obtenção de mudas, muitas vezes, fica concentrada em épocas que nem sempre são as mais apropriadas para o plantio. Torna-se difícil ainda, a formação e manutenção de estoques reguladores de sementes e a sua utilização a longo prazo.

Neste contexto, a conservação de sementes de café é um aspecto importante a ser considerado em um programa organizado de produção de sementes. O armazenamento sob condições favoráveis é uma alternativa que tem sido utilizada buscando prolongar o período de viabilidade das sementes ou minimizar o processo de deterioração, o que tem sido possível por, no máximo, seis meses. A partir daí, as sementes perdem rapidamente a viabilidade. Conclui-

se, portanto, que o armazenamento é o um dos maiores entraves no processo de produção e comercialização de sementes de café.

A detecção do estágio de deterioração de um lote de sementes pode ser feita mediante a condução de testes específicos para este fim, ou seja, testes de vigor, que são importantes componentes da avaliação da qualidade fisiológica das sementes. Neste contexto, o teste de envelhecimento acelerado tem se destacado como um método eficiente para avaliar o potencial de armazenamento das sementes. Este teste tem como princípio o aumento considerável da taxa de deterioração das sementes pela sua exposição à condição de elevada temperatura e umidade relativa do ar, fatores estes que intensificam o processo de deterioração. Contudo, alguns estudos realizados com sementes de feijão, soja, milho e algodão têm mostrado que as alterações metabólicas decorrentes do envelhecimento natural não são idênticas às aquelas provocadas pelas condições de envelhecimento acelerado (Pérez e Argüello, 1995).

Até o momento pouco se conhece sobre o controle da longevidade das sementes de café e estudos básicos sobre as principais transformações bioquímicas/moleculares pelas quais passam estas sementes durante o processo de deterioração. Um fato interessante que tem sido observado é que existem diferenças entre os genótipos quanto à longevidade de suas sementes no armazenamento.

Neste contexto, informações referentes às alterações fisiológicas e bioquímicas decorrentes do processo de deterioração são fundamentais não só para um monitoramento seguro e eficiente da qualidade das sementes durante o armazenamento, como também para a seleção, em programas de melhoramento, de genótipos cujas sementes apresentem maior potencial de conservação.

Dessa forma, esse trabalho tem como objetivos identificar as alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de café ocorridas durante o envelhecimento natural, decorrente do armazenamento, e artificial, obtido com o teste de envelhecimento acelerado, e estabelecer uma possível relação entre as alterações bioquímicas, decorrentes do processo de envelhecimento, e a perda de qualidade fisiológica das sementes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Estrutura da semente de café

O fruto do café é uma drupa contendo duas sementes. Os ovários contêm duas lojas com um óvulo cada uma que se fecundados, ambos, o fruto terá seu desenvolvimento normal produzindo duas sementes. O exocarpo (epicarpo) do fruto maduro pode ser vermelho ou amarelo, com um mesocarpo gelatinoso (mucilagem ou polpa) rico em açúcares e água. Observa-se ainda, a presença do endocarpo, endosperma, embrião e um envoltório representado por uma fina película prateada, também conhecida por espermoderma ou perisperma (Estanislau, 2002) que reveste o embrião (Rena e Maestri, 1986; Illy e Viani, 1996). Assim, a semente de café é constituída pelo endocarpo, espermoderma, endosperma e embrião (Dedeca, 1957, 1958), ou seja, o fruto com exceção do exocarpo e do mesocarpo.

O endocarpo, também chamado de pergaminho ou casca do café, envolve independentemente cada semente, é fibroso e lignificado, e tem como função proteger as sementes contra o ataque de microrganismos e contra danos físicos (Braham e Bressani, 1978).

O tecido de maior volume na semente é o endosperma, sendo dividido em uma camada de endosperma externo duro e uma camada interna mole (Dedeca, 1957).

Já o embrião, parte mais importante da semente, é a única parte viva desta, sendo, composto da radícula, hipocótilo e dois cotilédones. O embrião de café é bem pequeno, possui em geral 3 a 4 mm de comprimento e se encontra envolvido pelo endosperma (Carvalho e Monteiro Salles, 1957).

Podem ser observados três tipos de sementes: chata, concha e moca. As sementes do tipo moca (arredondadas) são formadas quando um óvulo do fruto é fecundado e o outro não, o que sugere distúrbios de natureza genética (Aguiar, 2001). As sementes do tipo concha são irregulares e embricadas pelo desenvolvimento de mais de um óvulo numa mesma loja ovariana (Vaccarelli, 2001).

2.2. Composição química das sementes de café

A composição química das sementes de café pode sofrer variação dependendo de vários fatores como: genótipo, estágio de maturação dos frutos na época da colheita, forma de armazenamento e pode variar também com as condições climáticas de cada região (Pimenta et al., 2000 e Godinho et al., 2000).

As sementes de café têm uma quantidade relativamente grande de mananas (Wolfrom et al., 1961), havendo presença também de celulose, lignina e hemicelulose (Wolfrom e Patin, 1964). No entanto, estudos sobre a influência destes polissacarídeos na qualidade das sementes são praticamente inexistentes (Pereira, 1997).

O endosperma apresenta alto conteúdo de polissacarídeos (Wolfrom et al., 1961), sendo formado por células poliédricas de paredes muito espessas, onde celulose e hemiceluloses impregnantes têm a função de fornecer reservas energéticas durante os processos de germinação e emergência. Contém também, aminoácidos, proteínas, lipídios, cafeína, alcalóides, triglicérides, açúcares, dextrina, pentosanas, galactomananas, ácido clorogênico, minerais, entre outros (Bewley e Black, 1978; Dentan, 1985).

A principal hemicelulose na parede celular das sementes de café é a β -(1-4) D-manana insolúvel, com 2% de galactose presente nas cadeias, que pode servir como reserva de carboidratos (Wolfrom et al., 1961; Bewley e Black, 1994).

O endocarpo (pergaminho) apresenta alta concentração de lignina e de carboidratos estruturais, 24,4% e 66,2%, respectivamente (Braham e Bressani, 1978).

Baú et al. (2001) verificaram que o conteúdo de proteína em sementes de café variou de 4,7% em *C. racemosa* a 9,1% em *C. canephora*. Alguns pesquisadores constataram a presença das subunidades α e β de uma proteína legumina em sementes de café (Bade e Stegemann, 1982). Posteriormente,

Acuña et al. (1999) confirmaram que as sementes de *Coffea arábica*, variedade Colômbia, tinha uma proteína globulina 11S. Esta mesma proteína também foi estudada por Rogers et al. (1999) que constataram ser de reserva. Por esse motivo, ocorrem decréscimos das subunidades α e β durante a germinação das sementes de *Coffea arabica* L. (Shimizu e Mazzafera, 2000).

As sementes de café apresentam 20 a 25% de carboidratos, 5 a 10% de açúcares totais (Sabbagh e Yokomizo, 1976; Leite, 1991) e de 0 a 5% de açúcares redutores (Leite, 1991). Dentre os açúcares presentes nas sementes de café arábica predominam os não-redutores, particularmente a sacarose, sendo os redutores encontrados em pequenas quantidades (Carvalho et al., 1989). Leite (1991) observou que condições climáticas adversas podem acarretar em menor desdobramento de amido em açúcares, devido possivelmente a alterações no processo de translocação fonte-dreno. Cafés destas regiões são geralmente mais ricos em amido e com menores teores de açúcares quando comparados aos cafés de outros locais.

Segundo Rogers et al. (1999) dentre os açúcares livres predominantes nas sementes de café estão a glicose, frutose e sacarose, com maior proporção de sacarose. Estes mesmos autores notaram diferenças no teor de açúcares entre sementes maduras de variedades de café, sendo que maiores teores de sacarose foram encontrados em endosperma de arábica e menores em robusta. Verificaram também que as mais altas concentrações de glicose e frutose estão associadas ao perisperma e a sacarose é o açúcar predominante no endosperma.

Nos frutos de café, existe um alto teor de compostos fenólicos, em particular do ácido clorogênico (Carvalho et al., 1989). Em trabalhos realizados por esses autores foram encontrados teores médios de 8,37% e 9,66% para frutos colhidos no estágio cereja e derrizados no pano, respectivamente. Para Amorin e Silva (1968), os compostos fenólicos, principalmente os ácidos clorogênicos e caféico, exercem uma ação protetora, antioxidante, dos aldeídos.

De acordo com Illy e Viani (1996), a espécie *Coffea arábica* L. apresenta concentrações mais elevadas de carboidratos e lipídios, quando comparada com a espécie *Coffea canephora*. O teor de óleo em sementes de café foi determinado por Mazzafera et al. (1998) em sementes de várias espécies de café, situando-se na faixa de 9 a 15%. Braham e Bressani (1978) constaram predominância dos ácidos graxos palmítico e linoléico.

2.3. Armazenamento das sementes

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 tem se mostrado contraditórios, dificultando uma indicação geral sobre as condições mais favoráveis que permitam a manutenção da qualidade fisiológica por um período prolongado. Segundo Popiginis (1985), além do grau de umidade das sementes e das condições do ambiente de armazenamento, o tipo de embalagem utilizado para o acondicionamento das sementes também exercem influência sobre a sua longevidade, afetando a velocidade dos processos bioquímicos relacionados à deterioração.

Inicialmente, Roberts (1973) classificou as sementes de café como recalcitrantes, ou seja, perdem mais rapidamente a viabilidade quando armazenadas com o grau de umidade reduzido e em ambientes com temperaturas relativamente baixas. Entretanto, Ellis et al. (1990) observaram que estas sementes apresentavam características tanto do comportamento ortodoxo como do recalcitrante, e sugeriram a sua inclusão numa nova categoria chamada de intermediária. Mais recentemente, Hong e Ellis (1995) constataram variações entre espécies do gênero *Coffea* quanto ao comportamento durante o armazenamento.

A taxa de deterioração das sementes ao longo do período em que permanecem armazenadas sofre influência de vários fatores, muito embora, a temperatura e a umidade relativa do ar ambiente sejam comumente citadas como os mais importantes (Randhawa et al., 1990; Smith e Berjak, 1995). Para Delouche e Baskin (1973), a umidade relativa do ambiente é ainda mais relevante que a temperatura, dada sua relação direta com o teor de água das sementes. Entretanto, a velocidade com que ocorrem os processos bioquímicos é também extremamente dependente da temperatura. Freitas et al. (1992) observaram claramente a interação destes fatores, quando constataram que em câmara fria houve melhor conservação das sementes de milho em relação ao ambiente não controlado, porém a condição de alta umidade relativa no interior da câmara provocou maior deterioração das sementes acondicionadas em embalagens permeáveis. Este resultado pode estar associado em parte ao fato de que altos teores de água provocam uma ativa respiração e, como consequência, há perda

de vigor pela redução das reservas das sementes ou pela ação de produtos tóxicos (Wilson Jr. e McDonald Jr., 1986).

Bacchi (1958) armazenou sementes de café por 21 meses mantendo o grau de umidade em torno de 10% e obteve, ao final do período, 75% de germinação. Para Costé (1969), a manutenção da viabilidade por mais de seis meses só é possível se o grau de umidade da semente for reduzido para 10-12%. Miglioranza (1982) e Miranda e Valias (1984) obtiveram bons resultados com armazenamento das sementes por nove meses em condições herméticas e com graus de umidade mais baixos, ou seja, entre 8 e 10% e 16%, respectivamente.

Alguns estudos têm mostrado que, em geral, para a conservação de sementes de café, valores relativamente altos de umidade são mais adequados. Vossen (1979) afirmou que o armazenamento pode ser bem sucedido, por até 2,5 anos, se sementes com 41% de umidade forem acondicionadas em sacos de polietileno hermeticamente fechados, a 15°C. Quando utilizou temperatura de 10°C e umidade de 13% e 35%, a perda de viabilidade foi mais rápida. Outros trabalhos também citam níveis altos de umidade para conservação das sementes de café: 50% (Carelli e Monaco, 1977); 40% (Couturon, 1980); entre 36 e 40% (Silva e Dias, 1985); 48,3% (Araújo, 1988); 35% (Vasconcelos et al., 1992) e 37% (Dias e Barros, 1993). Sementes secas até 35% de umidade e acondicionadas em embalagens de polietileno apresentaram 70% de germinação após oito meses de armazenamento, já aquelas com 15 e 25% de umidade, no mesmo tipo de embalagem, apresentaram redução na germinação e vigor a partir de quatro meses, ficando o vigor próximo de zero (Vasconcelos et al., 1992).

Portanto, estudos de armazenamento desenvolvidos até o momento para sementes de café indicam a dificuldade de conservação das sementes a longo prazo.

2.4. Deterioração das sementes

A deterioração tem início imediatamente após a maturidade fisiológica e prossegue enquanto as sementes permanecem no campo, durante a colheita (Delouche e Baskin, 1973), processamento e armazenamento, sendo um processo que culmina com a morte da semente. Tanto a intensidade como a velocidade desse processo depende de fatores genéticos e ambientais e estão relacionados ao manejo pós-colheita das sementes. A dimensão das mudanças

que ocorrem neste processo depende especialmente do período de tempo e das condições de armazenamento (Bingham et al., 1994). Segundo Roberts (1973), a carência de informações em relação às causas da deterioração está associada em grande parte, ao elevado número de mudanças metabólicas e citológicas que acontecem durante este processo. Assim, apesar de diversas teorias tentarem explicar a deterioração de sementes, as reais causas e seus mecanismos permanecem ainda obscuros (Zhang et al., 1994).

Os mecanismos de deterioração das sementes podem manifestar-se basicamente por modificações bioquímicas e ou fisiológicas. A peroxidação de lipídios e perda da integridade das membranas celulares, os danos genéticos, as mudanças na respiração das sementes, as modificações na atividade enzimática e síntese de proteínas, o acúmulo de substâncias tóxicas, dentre outros são alterações de natureza bioquímica. Dentre as diversas alterações fisiológicas decorrentes da deterioração, destacam-se redução na tolerância às condições ambientais adversas, redução no potencial de conservação, atraso na germinação das sementes, crescimento lento e anormal das plântulas, redução no vigor das plântulas, afetando a emergência das plântulas em campo (Abdul-Baki e Anderson, 1972).

Uma seqüência de eventos ocorre nas sementes após a maturidade fisiológica, antes da perda completa da sua viabilidade. Segundo Delouche e Baskin (1973), essa seqüência provável de alterações na semente durante a deterioração se inicia com a desorganização de membranas e perda do controle de sua permeabilidade, com redução das atividades respiratórias e biossintéticas, seguidas pela redução do potencial de armazenamento, da velocidade da germinação, da porcentagem de emergência de plântulas e aumento da ocorrência de anormalidades nas mesmas, culminando com a redução do poder germinativo e morte da semente.

De acordo com Koostra e Harrington (1973), o processo de deterioração teria como alteração bioquímica inicial a desestruturação do sistema de membranas em nível celular, por meio da ação de radicais livres. O processo pelo qual estes radicais se formam é conseqüência da oxidação de lipídios estruturais, principalmente os polinsaturados, razão pela qual esse processo é designado como peroxidação de lipídios. Assim, a peroxidação é um processo degradativo que ocorre quando o oxigênio molecular entra em contato com a molécula de triglicérido (Wilson Jr. e McDonald Jr., 1986).

Os danos nas membranas podem ser resultantes da ocorrência de peroxidação de lipídios, mudanças na composição dos ácidos graxos, perdas dos fosfolipídios das membranas, mudanças ultraestruturais e conseqüente aumento na condutividade dos lixiviados (Coolbear, 1995). A conseqüência básica seria a desestruturação dos sistemas de membranas ao nível celular, tendo a peroxidação de lipídios como uma causa direta durante o armazenamento (Wilson Jr. e McDonald Jr., 1986). Dentro da fração lipídica das membranas, os ácidos graxos polinsaturados, tais como linoléico e linolênico, são suscetíveis à degradação oxidativa, por reações enzimáticas e não-enzimáticas (Bewley e Black, 1994).

Vários trabalhos têm buscado correlacionar o avanço do processo de deterioração das sementes com mudanças no teor de ácidos graxos. Harman e Mattick (1976) observaram mudanças na concentração de ácidos graxos em sementes de ervilha submetidas ao teste de envelhecimento acelerado. Em sementes de soja envelhecidas artificialmente, Senaratna et al. (1988) observaram aumento no conteúdo de ácidos graxos e decréscimo de antioxidantes. Com o avanço da deterioração, além de alterações nos ácidos graxos, a taxa respiratória diminui, culminando com a perda do poder germinativo. Neste processo, há a expressão da atividade de um grande número de enzimas que atuam no metabolismo das reservas (Copeland e McDonald Jr., 1985). Para Murray (1984), o efeito negativo da deterioração de sementes sobre a taxa respiratória induz a um atraso na degradação de reservas, durante a germinação.

Com o avanço da deterioração, uma série de alterações ocorre no metabolismo das sementes, tais como: aumento na atividade de enzimas como RNAses (Kalpana e Mandhava Rao, 1997; Grilli et al., 1995), lipoxigenase (Kalpana e Mandhava Rao, 1993), isoesterases (Aung e McDonald, 1995), proteases (Basavarajappa et al., 1991) e redução em outras como α e β amilase (Das e Sem-Mandi, 1992), superóxido dismutase, catalase e glutamato redutase (Bailly et al., 1996). Dentre as alterações observadas em compostos de reservas estão incluídas: declínio no conteúdo de proteínas em embriões de sementes de trigo (Dell Áquilla, 1994 e Grilli et al., 1995), amendoim (Kalpana e Mandhava Rao, 1997), milho (Basavarajappa et al., 1991), feijão (Begnami e Cortelazzo, 1996) e soja (Gidrol et al., 1988); alterações em carboidratos de reserva em sementes de milho (Bernal-Lugo e Leopold, 1992; Perdomo e Burris, 1998), arroz (Ray et al., 1990) e soja (Locher e Bucheli, 1998), além de reduções no conteúdo

de ácidos graxos em soja (Trawatha et al., 1995), girassol (Halder et al., 1983) e milho (Basavarajappa et al., 1991).

Os eventos deteriorativos não ocorrem isoladamente. Os danos às membranas mitocondriais podem ter um efeito direto na atividade respiratória, enquanto que danos nas membranas do retículo endoplasmático e complexo de golgi podem ter maior impacto na capacidade das células sintetizarem proteínas e as danificações no DNA terão conseqüências no processo de transcrição (Wilson Jr. e McDonald Jr., 1986). Segundo Ching (1973) os primeiros sítios de envelhecimento ao nível celular são as mitocôndrias, as membranas e os ribossomos.

Transformações bioquímicas indesejáveis que ocorrem nas sementes durante o armazenamento, podem originar sementes de café com qualidade inferior, com o desencadeamento de diversas reações enzimáticas e produção de compostos indesejáveis na conservação da qualidade das sementes. Várias enzimas degradam as membranas celulares, gerando a perda de compartimentalização celular, podendo afetar a qualidade fisiológica das sementes (Wilson Jr. e McDonald Jr., 1986). Deste modo, a avaliação das alterações na composição protéica, lipídica e na atividade de enzimas específicas, especialmente aquelas envolvidas no processo de peroxidação de lipídios, e no sistema de membranas celulares pode ser uma ferramenta eficiente para o monitoramento da qualidade das sementes, principalmente durante o armazenamento.

A deterioração das sementes durante o armazenamento pode envolver muitas mudanças físicas e químicas nos componentes das sementes, incluindo rompimento da integridade celular, redução da atividade de enzimas, peroxidação de lipídios e reações não-enzimáticas (Wettlaufer e Leopold, 1991). O estado físico das sementes pode ser um dos fatores mais importantes em determinar a velocidade dessas mudanças. Quando as sementes se encontram no estado vítreo, o citoplasma é tão viscoso que os movimentos de difusão são quase paralizados e, conseqüentemente, a deterioração das sementes pode ser inibida (Williams e Leopold, 1989; Bruni e Leopold, 1992). Assim, a velocidade das reações de deterioração nas sementes pode estar correlacionada inversamente com a viscosidade do citoplasma.

Os açúcares solúveis podem manter a integridade da estrutura das membranas e proteínas em condição de baixa umidade das sementes (Carpenter

et al., 1987). Estes açúcares também previnem danos durante a secagem das sementes, pelo aumento dos íons como Na^+ , K^+ ou Cl^- , dentro do citoplasma (Coughlan e Heber, 1982). Açúcares solúveis, particularmente sacarose, rafinose e estaquiose, são considerados os maiores agentes vitrificantes nas sementes (Koster, 1991). Portanto, alterações nos teores de açúcares promovem alteração do estado vítreo das sementes.

A perda do estado vítreo da membrana ou a transformação para um estado menos viscoso pode estar relacionada com a perda da viabilidade com o envelhecimento das sementes. Portanto, o estado vítreo previne a oxidação de lipídios (Shimada et al., 1991) e a ocorrência das reações de Amadori e Maillard (Karmas et al., 1992, Leopold et al., 1992).

As reações de Amadori e Maillard, relatadas por Wettlaufer e Leopold (1991), são caracterizadas pelo ataque não-enzimático aos grupos amina pelos açúcares redutores. Esses autores relataram que durante o envelhecimento ocorre liberação gradual desses açúcares, ressaltando que as enzimas que poderiam promover tal liberação, como a invertase e a α -galactosidase, requerem níveis de hidratação relativamente altos para sua atividade. Portanto, os autores consideram que níveis de hidratação mais altos podem aumentar as reações de Amadori e Maillard.

Bernal-Lugo e Leopold (1992) monitoraram açúcares redutores em sementes de milho armazenadas a 30°C e 75% de umidade relativa e observaram o desaparecimento desses açúcares em função do tempo de armazenamento, atribuindo esse fato, possivelmente, à participação dos açúcares nas reações de Amadori e Maillard. Os autores concluíram que o declínio do vigor estava associado com a perda de carboidratos solúveis e que o conteúdo de monossacarídeos foi reduzido nos primeiros 30 dias de armazenamento. Porém, Paula et al. (1998), trabalhando com sementes de seringueira armazenadas por 75 dias a 5°C e 20°C , observaram que houve uma tendência de redução nos teores de açúcares redutores ao final do período de armazenamento nas duas temperaturas, atribuindo essas alterações, possivelmente, às reações de Amadori e Maillard.

Sementes de soja envelhecidas artificialmente por zero, duas, três, quatro e cinco semanas, a 30°C e 75% de umidade relativa, apresentaram aumento gradual das reações de Amadori, sem afetar a germinação e não foi verificado aumento da reação de Maillard. Entretanto, quando as sementes de soja foram

envelhecidas artificialmente a 40° C e 100% umidade relativa, houve redução das reações de Amadori e aumento das reações de Maillard, com redução na germinação. Portanto, os autores acreditam que a velocidade das reações é maior sob condições de temperatura e umidade relativa mais alta e que aumento nas reações de Maillard está associado à perda de viabilidade (Wettlaufer e Leopold, 1991).

Diversos resultados de pesquisas correlacionam a aquisição ou perda de tolerância à dessecação com açúcares solúveis durante a maturação de sementes de mostarda (Fischer et al., 1988), milho (Chen e Burris, 1990) e soja (Blackman et al., 1992). De acordo com esses dados, os tecidos tolerantes são caracterizados por apresentarem alta quantidade de sacarose e oligossacarídeos como estaquiose ou rafinose (Kuo et al., 1988), e por ausência ou pelo menos baixas quantidades de monossacarídeos redutores, como a galactose, manose, glicose e frutose. Ao contrário, os tecidos intolerantes à dessecação são geralmente dotados de altas concentrações de monossacarídeos e baixas concentrações de dissacarídeos.

Leprince et al. (1993) verificaram que o acúmulo de açúcares não redutores, ou seja, oligossacarídeos, é importante na estabilização do sistema de membranas em sementes secas. Existem evidências de que estes açúcares atuam como "substitutos da água", conferindo tolerância à dessecação por proteger as membranas de mudanças na fase lipídica provocadas pela desidratação e também por proteger proteínas, pela formação do estado vítreo (Crowe et al., 1992). Já alguns açúcares redutores como a glicose, aceleram a deterioração, afetando a viabilidade das sementes, podendo ser considerado um método analítico sensível para monitorar a deterioração das sementes (Locher e Bucheli, 1998). De acordo com Koster e Leopold (1988), a glicose participaria na reação de Maillard, induzindo a inativação de proteínas e danos no DNA. Além disso, os monossacarídeos são considerados agentes pouco eficientes para promover a formação do estado vítreo. Koster (1991) demonstrou que para a formação desse estado depende de combinações específicas de açúcares (glicose e sacarose, rafinose e sacarose).

Em sementes de café, entre os mono e oligossacarídeos, o açúcar encontrado em maior quantidade no grão verde de café é a sacarose e seu teor pode variar de 1,9 a 10% na matéria seca, sendo considerado como açúcar não redutor no cálculo final (Feldman et al., 1969). Os monossacarídeos livres mais

encontrados são a glicose e a frutose, sendo que, na maioria dos trabalhos publicados, são calculados como açúcares redutores (Leite, 1991).

A respiração envolve o ciclo da glicólise, rota oxidativa das pentoses monofosfatadas, ciclo de Krebs e fosforilação oxidativa, ocorrendo a contribuição de muitas enzimas na regulação de cada rota (Bettey e Finch-Savage, 1996). Com o envelhecimento, há um declínio na atividade de enzimas removedoras de peróxido, como a catalase, peroxidase, superóxido dismutase, ascorbato peroxidase, contribuindo com o processo de envelhecimento (Basavarajappa et al., 1991).

De acordo com Bettey e Finch-Savage (1996), a rota das pentoses monofosfatadas é uma via metabólica aeróbica de oxidação de carbono, fornecedora de NADPH, um agente redutor para síntese de moléculas como lipídios, aminoácidos e componentes da parede celular. A atividade de enzimas dessa rota é também importante para determinar o fluxo através da glicólise, uma vez que esta é fornecedora do substrato para esta rota. O balanço entre a glicólise e a rota das pentoses assegura um suprimento adequado de poder redutor, ATP e esqueletos de carbono para a biossíntese nas sementes. Em sementes envelhecidas, este balanço é alterado, podendo afetar a capacidade biossintética das células, sendo que, nestas sementes, a atividade das enzimas pertencentes a essa rota é afetada antes mesmo da glicólise e do ciclo de Krebs.

A perda de viabilidade é acompanhada por uma redução na capacidade de sintetizar proteínas e, dentre estas, as enzimas desempenham um papel importante na evolução da deterioração das sementes. Reduzindo a síntese protéica, ocorrerá uma redução das enzimas atuantes no processo germinativo, promovendo uma germinação mais lenta ou até mesmo a perda da viabilidade. Portanto, a redução na qualidade das sementes pode ser monitorada pela avaliação de enzimas específicas (Brandão Júnior, 1996), tais como: malato desidrogenase (MDH), glutamato desidrogenase (GDH) e a álcool desidrogenase (ADH), as quais participam da respiração das sementes, estando envolvidas no ciclo de Krebs, além de participarem do movimento do malato através da membrana mitocondrial (Conn e Stumpf, 1980).

Em sementes em deterioração tem sido observada baixa taxa de absorção de O₂ (Woodstock e Grabe, 1967), que pode tanto preceder como acompanhar a perda de viabilidade (Anderson, 1973). As causas das diferenças na taxa respiratória de sementes deterioradas não estão, no entanto,

esclarecidas, podendo ser atribuídas a diferenças entre as espécies, efeito das estruturas do envoltório ou absorção de O₂ por estruturas não diretamente relacionadas à germinação como, por exemplo, o endosperma. Sementes deterioradas apresentam alto quociente respiratório, devido ao aumento na produção de CO₂ com redução na absorção de O₂. Anderson e Abdul-Baki (1971) afirmam que embriões isolados têm padrão respiratório diferente do endosperma.

O envelhecimento acelerado tem se destacado como um dos testes mais importantes para avaliar a qualidade de lotes de sementes, bem como para estimar o potencial de armazenamento das mesmas (Marcos Filho, 1999). Esse teste tem sido utilizado também para investigar os mecanismos envolvidos no processo de envelhecimento durante o armazenamento (Sung e Jeng, 1994). Entretanto, de acordo com McDonald Jr. (1999), os pesquisadores ainda não chegaram a um consenso se os eventos produzidos pelo envelhecimento acelerado são semelhantes aos ocorridos nas sementes submetidas ao envelhecimento natural. Dessa forma, os estudos baseados no teste de envelhecimento acelerado devem ser interpretados com cautela.

Estudando os efeitos do envelhecimento acelerado sobre membranas celulares e atividades bioquímicas em sementes de milho, Basavarajappa et al. (1991) verificaram uma nítida redução em carboidratos de reserva e proteínas. Concluíram também que os açúcares presentes em embriões de sementes de milho devem servir como um importante componente de proteção das membranas, mas podem, no entanto, participar de processos deteriorativos durante o armazenamento. A análise de mudanças em açúcares durante o envelhecimento acelerado de sementes de milho indicou queda no vigor associada com alterações no conteúdo de monossacarídeos, mas em especial à redução na concentração de rafinose (Bernal-Lugo e Leopold, 1992). Existem divergências na literatura quanto às alterações nos teores de açúcares solúveis. Mandhava Rao e Kalpana (1994) observaram reduções nos teores de açúcares solúveis com o envelhecimento das sementes de amendoim; porém Alizaga (1990) verificou aumentos nos teores de açúcares solúveis em sementes de feijão de baixo vigor armazenadas por período superior a 24 dias, a 35°C e 12% de umidade.

Sung e Jeng (1994) observaram que o envelhecimento acelerado estimulou a peroxidação de lipídios e reduziu a atividade de enzimas

removedoras de peróxido, como a peroxidase, dentre outras, motivo pelo qual sementes envelhecidas acumulam mais peróxidos do que as não envelhecidas.

Cabe ressaltar que o principal desafio das pesquisas sobre vigor de sementes está na identificação de parâmetros relacionados ao início da deterioração que permitam uma avaliação segura e eficiente do real estágio de deterioração das sementes. Considerando que a perda da capacidade germinativa é uma das últimas manifestações da deterioração, a identificação de eventos anteriores que permitam detectar o início do processo é de extrema importância para os programas de controle de qualidade exercidos pelas empresas de sementes.

Verifica-se, pelo exame da literatura, que têm sido realizadas pesquisas sobre deterioração de sementes tanto sob condições de envelhecimento natural como artificial. No entanto, segundo Wilson Jr. e McDonald Jr. (1986), dados conflitantes obtidos com sementes envelhecidas natural e artificialmente indicam que o envelhecimento acelerado provoca alterações metabólicas diferentes daquelas verificadas em condições de armazenamento natural.

O teste de envelhecimento acelerado pode ser utilizado para elucidar as diversas alterações ocorridas nas sementes durante o processo de deterioração, porém os pesquisadores ainda não chegaram a um consenso se os eventos ocorridos pelo envelhecimento acelerado são semelhantes aos ocorridos nas sementes submetidas ao envelhecimento natural. Portanto, algumas pesquisas vêm sendo conduzidas buscando estudar as alterações decorrentes do envelhecimento natural e artificial em sementes de muitas espécies.

Para Bailly et al. (1996), o envelhecimento acelerado pode desnaturar enzimas em diferentes graus ou afetar a sua síntese. Os autores observaram clara relação entre a perda da atividade de determinadas enzimas antioxidantes, peroxidação de lipídios e deterioração das sementes durante o envelhecimento acelerado. No entanto, ressaltam a dificuldade de distinção se os danos oxidativos e redução na atividade das enzimas são causas ou conseqüências da perda da viabilidade das sementes.

Pouco se conhece a respeito das principais transformações degenerativas ocorridas durante o armazenamento das sementes de café. Torna-se importante, portanto, que se ampliem os estudos referentes à elucidação dos mecanismos bioquímicos envolvidos no processo de deterioração dessas sementes, procurando-se associá-los aos eventos fisiológicos, de modo a permitir

caracterizar, com certo nível de precisão, o real estágio de deterioração de um lote de sementes. Além disso, a elucidação das principais alterações bioquímicas que acontecem durante a deterioração pode ser importante ferramenta para o controle de qualidade destas sementes, uma vez que pode permitir detectar de modo rápido e eficiente o início do processo de deterioração das sementes, que normalmente é monitorado pelos testes de vigor.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida nos Laboratórios de Sementes e de Fisiologia Pós-Colheita do Departamento de Fitotecnia, e no Laboratório de Sementes Florestais do Departamento de Engenharia Florestal, da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais.

Foram utilizadas sementes de café (*Coffea arabica* L.) das cultivares Catuaí Vermelho IAC 144 e Rubi MG 1192, colhidas em 2002, na área experimental de produção de sementes de café da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), localizada em Patrocínio, MG. Os frutos foram colhidos manualmente no estádio cereja. Após o despulpamento mecânico e degomagem por fermentação natural durante 24 horas, as sementes foram lavadas em água corrente. Em seguida, foram colocadas para secar em condições naturais, à sombra, até atingirem graus de umidade de cerca de 12% (base úmida).

Experimento 1 - Envelhecimento artificial das sementes de café

As sementes das duas cultivares de café foram envelhecidas artificialmente em incubadora tipo BOD nas condições de temperatura e umidade relativa recomendadas para o teste de envelhecimento acelerado (42° C e 100% UR). Para tanto, as sementes foram distribuídas em camada única e uniforme sobre tela de alumínio acoplada ao gerbox, o qual continha ao fundo 40 mL de água. Os gerbox foram tampados, para se obter 100% de umidade relativa em seu interior e mantidos na BOD a 42° C, por períodos de 0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas. Após cada período de envelhecimento artificial, as sementes foram

submetidas à determinação de umidade e avaliação da qualidade (germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, peso de matéria verde e seca das plântulas, condutividade elétrica e classificação do vigor das plântulas) e determinações bioquímicas (teor de lipídios, açúcares solúveis e taxa respiratória).

Experimento 2 - Envelhecimento natural (armazenamento) das sementes de café

Para cada cultivar, amostras de 10 kg de sementes foram acondicionadas em sacos de polipropileno trançado. Metade da amostra (5 kg) foi armazenada em câmara fria, à temperatura de $10 \pm 2^\circ\text{C}$ e $70 \pm 5\%$ de umidade relativa do ar e a outra metade (5 kg) em condição ambiente no Setor de Armazenamento da Unidade de Beneficiamento de Sementes do Departamento de Fitotecnia da UFV (UBS). Tanto em câmara fria, como em ambiente, as sementes permaneceram armazenadas por um período de 12 meses, de setembro de 2002 a setembro de 2003.

As avaliações foram conduzidas aos 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 meses de armazenamento, retirando-se amostras de sementes em cada condição de armazenamento para determinação de umidade e avaliação da qualidade (germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, peso de matéria verde e seca das plântulas, condutividade elétrica e classificação do vigor das plântulas). Foram realizadas também determinações bioquímicas (teor de lipídios, açúcares solúveis e taxa respiratória).

Foram retiradas amostras de 500 g de sementes, tanto da câmara fria como do ambiente, para a realização das análises em cada época. Para as análises bioquímicas, foram reservadas 250 g de sementes de cada tratamento, em cada época de avaliação. As sementes destinadas às análises do teor de lipídios e açúcares solúveis foram secas em estufa a 45°C por 48 horas, e em seguida, armazenadas a -20°C até a realização das análises. Porém, para taxa respiratória foram feitas às avaliações logo após a retirada das sementes em cada época de armazenamento.

As condições diárias de temperatura e umidade relativa do ambiente de armazenamento na UBS foram registradas durante todo o período por meio de

um termohigrógrafo. Os valores médios diários de temperatura e umidade relativa foram calculados utilizando-se as equações (Estação Climatológica – UFV, 2004):

• **Temperatura (°C)**

$$T_{MD} = (T_{12} + 2 \times T_{24} + T_{max} + T_{min}) / 5$$

Em que:

T_{MD} = temperatura média diária;

T_{12} e T_{24} = temperatura do ar as 12 e às 24 horas, respectivamente,

T_{max} e T_{min} = temperatura diária máxima e mínima do ar, respectivamente.

• **Umidade relativa (%)**

$$UR_{MD} = (UR_{12} + UR_{18} + 2 \times UR_{24}) / 4$$

Em que:

UR_{MD} = umidade relativa média diária,

UR_{12} , UR_{18} e UR_{24} = umidade relativa diária do ar às 12, 18 e 24 horas, respectivamente.

Os dados referentes às temperaturas e umidades relativas do ar médias estão representados na Figura 1.

3.1. Determinação do grau de umidade (% base úmida)

Adotou-se o método da estufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, durante 24 horas, utilizando-se duas subamostras por tratamento (sementes com endocarpo), segundo as prescrições das Regras para Análise de Sementes - RAS (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem na base úmida.

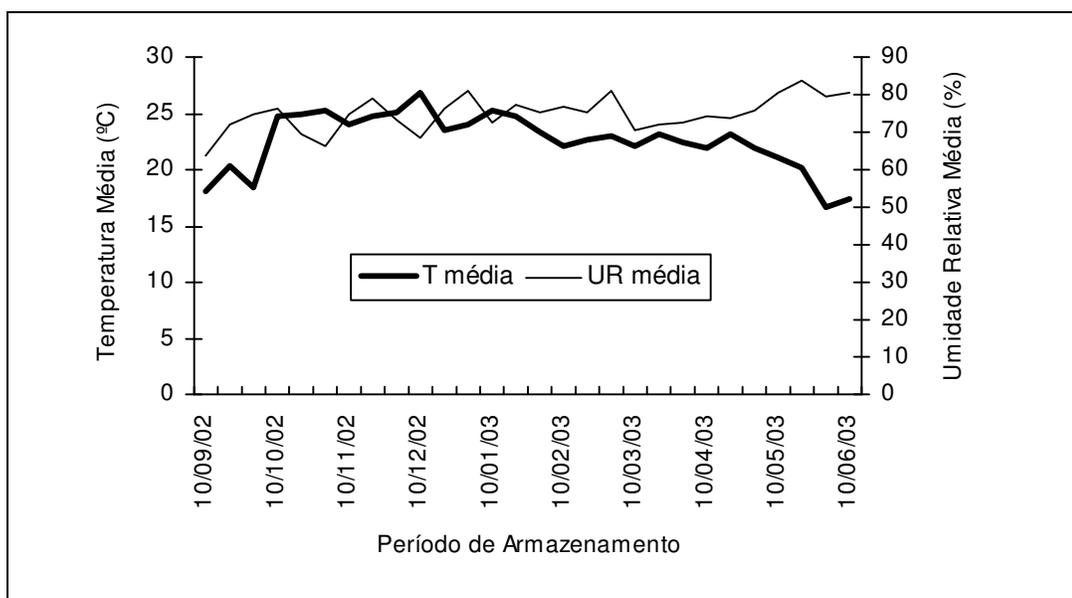


Figura 1 - Dados médios, em decêndios, de temperatura e umidade relativa médias, registrados no setor de Armazenamento da Unidade de Beneficiamento de Sementes da Universidade Federal de Viçosa, durante o período de armazenamento.

3.2. Avaliação da qualidade das sementes

3.2.1. Germinação

Conduzido com quatro subamostras de 50 sementes (sem endocarpo), em papel germitest umedecido com água, na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco, em germinador a 30°C. As avaliações foram efetuadas aos 20 e 30 dias após a instalação do teste, conforme critérios estabelecidos pelas RAS (Brasil, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais.

3.2.2. Primeira contagem de germinação

Realizada conjuntamente com o teste de germinação (item 3.2.1) e consistiu da porcentagem média de plântulas normais obtidas aos 20 dias.

3.2.3. Envelhecimento acelerado

Adotou-se a metodologia proposta pela AOSA e descrita por Marcos Filho (1999). Foram utilizadas 250 sementes (sem endocarpo) por tratamento, as quais foram distribuídas sobre uma tela de alumínio, fixada em caixa plástica tipo "gerbox", contendo, ao fundo, 40 mL de água destilada. Para induzir o envelhecimento, os gerbox, contendo as sementes, foram fechados de modo a se obter 100% UR e acondicionados em uma incubadora tipo BOD, sob temperatura de 42°C, durante 72 horas. Após esse período, as sementes, foram submetidas ao teste de germinação, seguindo-se os mesmos procedimentos descritos no item 3.2. Uma única avaliação foi realizada aos 20 dias após a instalação do teste, seguindo-se os mesmos critérios estabelecidos para o teste de germinação. Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais.

As 50 sementes restantes foram submetidas à determinação do grau de umidade após o envelhecimento acelerado, seguindo-se o mesmo procedimento descrito no item 3.1.

3.2.4. Peso de matéria verde e seca das plântulas

Este teste foi conduzido conforme metodologia proposta por Nakagawa (1994). Utilizaram-se para cada tratamento, quatro subamostras de 20 sementes (sem endocarpo), distribuídas em rolo de papel germitest umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. As sementes foram distribuídas em linha reta traçada no terço superior, no sentido longitudinal da folha. Em seguida, os rolos foram colocados em germinador mantido a 30°C, durante 30 dias. No final desse período, as plântulas foram avaliadas, descartando-se as anormais e as sementes mortas. As plântulas normais foram pesadas obtendo-se o peso de matéria verde. Em seguida, levadas para estufa a $80 \pm 2^\circ\text{C}$, por 24 horas. Após este período foi feita a pesagem obtendo-se o peso de matéria seca. Os resultados foram expressos em mg de matéria verde/plântula e mg de matéria seca/plântula.

3.2.5. Condutividade elétrica

Foi adotada a metodologia proposta pela AOSA (1983) e relatada por Vieira e Carvalho (1994). Foram utilizadas quatro subamostras de 50 sementes, cujo endocarpo foi retirado manualmente, pesadas em balança com precisão de 0,001 g e, posteriormente, colocadas em copos plásticos, contendo 75 mL de água destilada, permanecendo em uma incubadora tipo BOD, a 25°C, durante 24 horas. Decorrido esse período, o conteúdo dos copos foi agitado com bastão de vidro para permitir uniformização dos lixiviados na solução procedendo-se então, às leituras da condutividade elétrica em condutímetro DIGIMED modelo CD-21. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ de sementes.

3.2.6. Classificação do vigor das plântulas

Conduzido, segundo Nakagawa (1994), juntamente com o teste de germinação (item 3.2.1), consistindo da classificação das plântulas normais em fortes (vigorosas) e fracas, aos 20 dias após a montagem do teste. Foram consideradas fortes as plântulas que se apresentaram desenvolvidas e morfológicamente perfeitas, sem lesões e com raízes secundárias. Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais fortes.

3.3. Avaliação bioquímica das sementes

3.3.1. Determinação do teor de lipídios

A determinação do teor de lipídios foi realizada em amostras de sementes secas em estufa a 45°C por 48 horas e moídas em moinho elétrico tipo Willey. As amostras foram colocadas em cartuchos de papel-filtro, pesadas e transferidas para o conjunto Soxhlet por um período de 24 horas. A extração foi feita a frio, utilizando éter de petróleo como solvente (Silva, 1990). Foram pesadas 50 g da amostra moída, retirando-se três subamostras de 5 g para a análise. Após a extração, o éter de petróleo presente no óleo foi completamente evaporado utilizando nitrogênio. As amostras, após a extração do óleo, foram colocadas em estufa a 45°C por 24 horas para a secagem. Posteriormente, foram pesadas e o

teor de lipídios determinado por diferença e usando regra de três. Os resultados foram expressos em porcentagem de lipídios.

3.3.2. Determinação dos açúcares solúveis

As determinações quantitativas de açúcares solúveis foram realizadas pelo método ácido fenol sulfúrico, conforme Dubois et al. (1956). Utilizaram-se amostras de 300 mg de sementes inteiras (sem endocarpo) secas e moídas que haviam sido submetidas à extração de lipídios. As amostras foram homogeneizadas em 3,0 mL de etanol 80% a 75° C por 15 minutos e, em seguida, centrifugadas a 5.000 rpm por 5 minutos, a 10° C. Essa operação foi repetida quatro vezes e os sobrenadantes foram levados a estufa, a 45° C, até a secagem completa. Em seguida, foram ressuspensos em 1,0 mL de água e armazenados em tubos ependorf em freezer, a -20° C, para posterior análise dos açúcares solúveis. Para a condução das análises de açúcares solúveis retirou-se 100 µL de cada tratamento que foi dissolvido em 400 µL de água. Dessa solução retiraram-se três alíquotas de 10 µL (subamostras), acrescentando-se mais 0,49 mL de água, 0,5 mL de fenol sulfúrico e 2,5 mL de ácido sulfúrico absoluto. Após o resfriamento, procedeu-se à leitura em espectrofotômetro a 490 nm. Todas as análises foram feitas em triplicatas. Os resultados foram expressos em µg de açúcares solúveis/g de semente.

A curva padrão foi preparada a partir de uma solução padrão de glicose 0,01%: 0,0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1,0 mL. Completou-se com água destilada para 1,0 mL e acrescentaram-se em seguida, 0,5 mL de fenol sulfúrico (5%) e 2,5 mL de ácido sulfúrico absoluto. A leitura foi efetuada em espectrofotômetro a 490 nm.

3.3.3. Determinação da taxa respiratória das sementes

A quantificação de CO₂ foi determinada em cromatógrafo a gás modelo GC-14B (SHIMADZU). Para esta determinação foram utilizadas sementes com e sem endocarpo, com peso entre 12,0 e 13,0 gramas, que foram colocadas dentro de tubos de ensaio, vedados com tampas de borracha e microfilme. Após 24 horas, procedeu-se à análise de CO₂. Para tanto os tubos foram homogeneizados manualmente e com o auxílio de uma seringa de insulina, amostras de 10 mL foram retiradas, injetando-se no cromatógrafo apenas 1 mL. Antes da aplicação

das amostras foram injetadas, por três vezes, ali quotas de 50 µL do padrão de CO₂ cuja concentração foi de 14,82%. Para a realização da análise, as temperaturas da coluna, injetor e do detector foram, respectivamente, 50° C, 100° C e 140° C. A corrente elétrica empregada foi de 85 mA, com atenuação de 1. Utilizou-se como gás de arraste o nitrogênio (80kPa), com fluxo de 40-45 mL. min⁻¹. A coluna utilizada foi a empacotada com Poropak-Q (80-100 mesh, 1,0 m de comprimento e 3,2 mm de diâmetro interno). A concentração de CO₂ nos tubos foi estimada em mL CO₂. kg⁻¹.h⁻¹, utilizando-se a equação proposta por Kays (1991):

$$\text{CO}_2 \text{ (ml CO}_2\text{/kg. h)} = \% \text{ CO}_2 \times 10 \times V \text{ (L)} / P \text{ (kg)} \times T \text{ (h)}$$

Em que: CO₂ = concentração de CO₂ na amostra (%)

V = volume vazio dos frascos (L)

P = peso das sementes (kg)

T = tempo final de acúmulo de CO₂ (h).

3.4. Análise estatística

- Experimento 1 - Envelhecimento artificial das sementes de café

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado e analisado num esquema de parcelas subdivididas. As cultivares (Catuaí Vermelho e Rubi) foram alocadas nas parcelas e as subparcelas foram constituídas pelos períodos de envelhecimento (0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas).

- Experimento 2 - Envelhecimento natural (armazenamento) das sementes de café

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado e analisado num esquema de parcelas subdivididas. As cultivares (Catuaí Vermelho e Rubi), as condições de armazenamento (ambiente e câmara fria) e presença/ausência do endocarpo foram alocadas em esquema fatorial nas parcelas e os períodos de armazenamento (0, 2, 4, 6, 8, 10 e 12 meses) nas subparcelas.

Em ambos experimentos, os testes para avaliação da qualidade fisiológica das sementes foram conduzidos com quatro repetições, enquanto que os testes bioquímicos foram conduzidos com três repetições para teor de lipídios e quatro repetições para açúcares solúveis e taxa respiratória.

Os dados dos dois experimentos foram inicialmente submetidos a testes de normalidade, os quais evidenciaram um ajuste adequado à distribuição normal e dispensaram a transformação. Posteriormente, foram submetidos à análise de variância em parcela subdividida. Quando a interação simples foi significativa efetuou-se o desdobramento. A fonte de variação referente a interação tripla, quando não significativa, foi inserida no erro b (Gomes, 1990).

Para os fatores quantitativos (períodos de armazenamento e envelhecimento artificial), foram aplicadas análises de regressão para os testes fisiológicos, porém, para os testes bioquímicos, optou-se pela representação dos resultados em forma de gráficos com médias e desvio padrão, pois não se conseguiu um bom ajuste de regressão, associado com o efeito biológico. Os modelos de regressão foram aqueles disponíveis na opção REGREAMD1 do programa SAEG (Sistemas de Análises Estatísticas e Genéticas), desenvolvido pelo Setor de Processamento de Dados da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. O processamento de todas as análises de variância foi realizado com o uso do programa SAS (SAS, 1989), procedimentos ANOVA e GLM.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Grau de umidade das sementes

Os graus de umidade das sementes, determinados nos diferentes tempos de envelhecimento para cada cultivar, encontram-se no Quadro 1. Nota-se que houve acréscimo gradual no grau de umidade das sementes à medida que se aumentou o tempo de envelhecimento artificial, até 96 horas, sendo que, a partir deste período, o aumento no grau de umidade foi de apenas 1%, em ambas as cultivares de café.

No Quadro 2 encontram-se os valores dos graus de umidade das sementes, determinados no decorrer do armazenamento para cada cultivar e ambiente de armazenamento. Observa-se que, aos quatro meses de armazenamento, houve uma ligeira elevação no teor de água para as sementes de ambas as cultivares em condição de ambiente, o que pode ser atribuído a umidade relativa em torno de 80% neste período (Figura 1). Nos demais períodos de armazenamento o grau de umidade das sementes foi semelhante nas duas condições de armazenamento, tanto para o Catuaí Vermelho como Rubi. A umidade é o fator que mais influencia a taxa respiratória das sementes. A respiração das sementes aumenta consideravelmente com o aumento da umidade e, conseqüentemente, promove aumento na taxa de deterioração (Bewley e Black, 1994; Athié et al., 1998).

A partir do oitavo mes de armazenamento, não foi feita a determinação do grau de umidade das sementes sob condição de ambiente, por apresentarem germinação nula, não justificando realizar tal determinação.

Quadro 1 - Valores médios do grau de umidade (% base úmida) determinados após cada período de envelhecimento artificial das sementes de café, cultivares Catuaí Vermelho e Rubi.

Cultivares	Período de envelhecimento artificial (horas)					
	0	24	48	72	96	120
Catuaí Vermelho	12,7	16,6	22,32	23,8	30,1	31,0
Rubi	12,1	17,9	21,19	23,8	32,3	33,4

Quadro 2 - Valores médios do grau de umidade (% base úmida), determinados durante o armazenamento das sementes das cultivares de café Catuaí Vermelho e Rubi, armazenadas em ambiente e em câmara fria (CF)

Cultivares	Condição de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)						
		0	2	4	6	8	10	12
Catuaí	Ambiente	12,3	12,8	14,9	11,7	--	--	--
Vermelho	CF	12,0	12,5	12,4	11,7	12,4	13,5	11,5
Rubi	Ambiente	12,4	12,7	15,4	11,7	--	--	--
	CF	12,1	12,9	13,9	11,8	12,1	13,9	11,5

4.2. Qualidade fisiológica das sementes

Nos Quadros 3 e 4, encontram-se os resumos das análises de variância dos dados obtidos nos testes de avaliação da qualidade fisiológica das sementes de café Catuaí Vermelho e Rubi submetidas a diferentes períodos de envelhecimento artificial e de armazenamento em câmara fria e ambiente.

4.2.1. Germinação

A análise de variância dos dados obtidos nos testes de germinação, conduzidos após os diferentes períodos de envelhecimento artificial, mostra efeito significativo para o fator período de envelhecimento artificial quando analisado isoladamente (Quadro 3).

Quadro 3 - Resumo da ANAVA conjunta para avaliação do efeito do envelhecimento artificial na germinação (TG), primeira contagem de germinação (PC), envelhecimento acelerado (EA), peso de matéria verde (MV), peso de matéria seca (MS), condutividade elétrica (CE) e da classificação do vigor das plântulas (VP), das sementes de duas cultivares de café submetidas a seis períodos de envelhecimento artificial

F.V.	G.L..	Teste F						
		TG	PC	EA	MV	MS	CE	VP
Cultivar (C)	1	0,35	136,70**	2,52	27,44**	54,52**	42,89**	158,14**
Resí duo (a)	6							
Perí odo (P)	5	3,13*	6,34**	65,48**	4,10**	4,04**	36,66**	35,90**
C x P	5	0,50	0,47	3,92**	0,73	0,20	1,59	2,37
P/C ₁	5			29,88**				
P/C ₂	5			33,85**				
Resí duo (b)	30							
C.V. (a) (%)		5,23	14,20	8,41	2,47	2,24	13,64	17,42
C.V. (b) (%)		5,06	17,05	6,44	4,37	5,87	9,71	13,24
Média		87,94	45,37	72,40	180,53	22,30	11,31	32,42

** e * significativo a 1 e 5% de probabilidade, pelo teste F.

C₁ - Catuaí Vermelho; C₂ - Rubi.

Quadro 4 - Resumo da ANAVA conjunta para avaliação do efeito do armazenamento em câmara fria e em ambiente na germinação (TG), primeira contagem (PC), envelhecimento acelerado (EA), peso de matéria verde (MV), peso de matéria seca (MS), condutividade elétrica (CE) e classificação do vigor das plântulas (VP), das sementes de duas cultivares de café submetidas ao armazenamento

F.V.	G.L.	Teste F						
		TG	PC	EA	MV	MS	CE	VP
Cultivar (C)	1	0,15	144,15**	3,26	3,86	1,54	49,53**	565,17**
Condição (A)	1	1926,34**	196,18**	657,89**	422,81**	284,35**	3,57	492,05**
C x A	1	17,64**	3,54	13,73**	0,03	0,76	0,06	26,95*
A/C ₁	1	20,81**		2,63				8,92**
A/C ₂	1	13,85**		2,06				7,95**
Resí duo (a)	12							
Perí odo (P)	6	251,52**	40,81**	366,37**	117,18**	118,51**	22,54**	181,15**
C x P	6	4,09**	2,97*	4,70**	0,95	0,86	1,53	21,27**
P/C ₁	6	3,75**	2,55*	9,11**				6,62**
P/C ₂	6	4,93**	5,21**	13,77**				7,46**
A x P	3	332,03**	27,60**	112,02**	168,21**	136,05**	4,69**	71,53**
P/A ₁	3	21,42**	3,81*	110,72**	4,68**	12,09**	8,81**	4,52**
P/A ₂	3	302,00**	28,25**	443,74**	418,18**	336,70**	8,46**	29,12**
C x A x P	3	7,61**	1,58	4,77**	0,65	0,36	0,21	7,68**
Resí duo (b)	54							
C.V. (%) (a)		4,16	18,11	10,68	5,93	7,65	18,23	12,44
C.V. (%) (b)		5,47	19,41	11,31	6,60	7,54	16,03	12,30
Média		73,02	35,98	49,29	160,71	19,25	11,71	25,54

** e * significativo a 1 e 5% de probabilidade, pelo teste F.

C₁ - Catuaí Vermelho; C₂ - Rubi.

A₁ - Câmara fria; A₂ - Ambiente

Analisando a Figura 2, observa-se que a germinação apresentou resposta linear e decrescente ao longo do período de envelhecimento para as sementes de ambas as cultivares de café. Nota-se que até 24 horas de envelhecimento, as sementes de Rubi tiveram qualidade fisiológica superior às de Catuaí Vermelho; porém, após 48 horas de envelhecimento artificial, há uma inversão no comportamento das cultivares, com menor germinação para as sementes de Rubi. Observa-se, ainda, que o tempo de 72 horas de envelhecimento não diferenciou bem as sementes das duas cultivares quanto à qualidade fisiológica. Porém, períodos superiores a 72 horas permitiram identificar diferenças na qualidade fisiológica das sementes. Verifica-se, ainda, que no tempo zero (sementes não envelhecidas) houve germinação de 91% para Catuaí Vermelho e de 92% para Rubi. Após serem envelhecidas artificialmente (120 horas), as sementes atingiram 86% de germinação para a cultivar Catuaí Vermelho e 83% para a cultivar Rubi. Portanto, não houve redução expressiva na porcentagem de germinação das sementes à medida que se aumentou o tempo de envelhecimento artificial. Resultados semelhantes foram verificados por Pérez e Argüello (1995) em sementes de amendoim envelhecidas artificialmente por zero, um, dois, três e quatro dias a 45°C e 100% de umidade relativa.

No Quadro 4 encontra-se o resumo da análise de variância para os testes de germinação realizados durante o armazenamento das sementes em condição de câmara fria e ambiente. Verifica-se que houve efeito significativo para os fatores condição e períodos de armazenamento. As interações duplas e triplas entre esses fatores mostraram-se altamente significativas. Isso demonstra o efeito simultâneo destes fatores sobre a germinação das sementes de café.

Na Figura 3, observa-se que à medida que se aumentou o período de armazenamento houve redução linear no percentual de germinação das sementes de café armazenadas, tanto em condição ambiente como em câmara fria, em ambas as cultivares de café. No entanto, a redução na germinação das sementes armazenadas em condição ambiente foi mais drástica do que a observada em câmara fria, sendo que em ambiente ocorreu perda total do poder germinativo aos seis meses. Observa-se ainda, que já aos dois meses de armazenamento em ambiente, os valores de germinação foram de aproximadamente 70%, valor este estabelecido como mínimo para a comercialização das sementes de café (CESM, 1997).

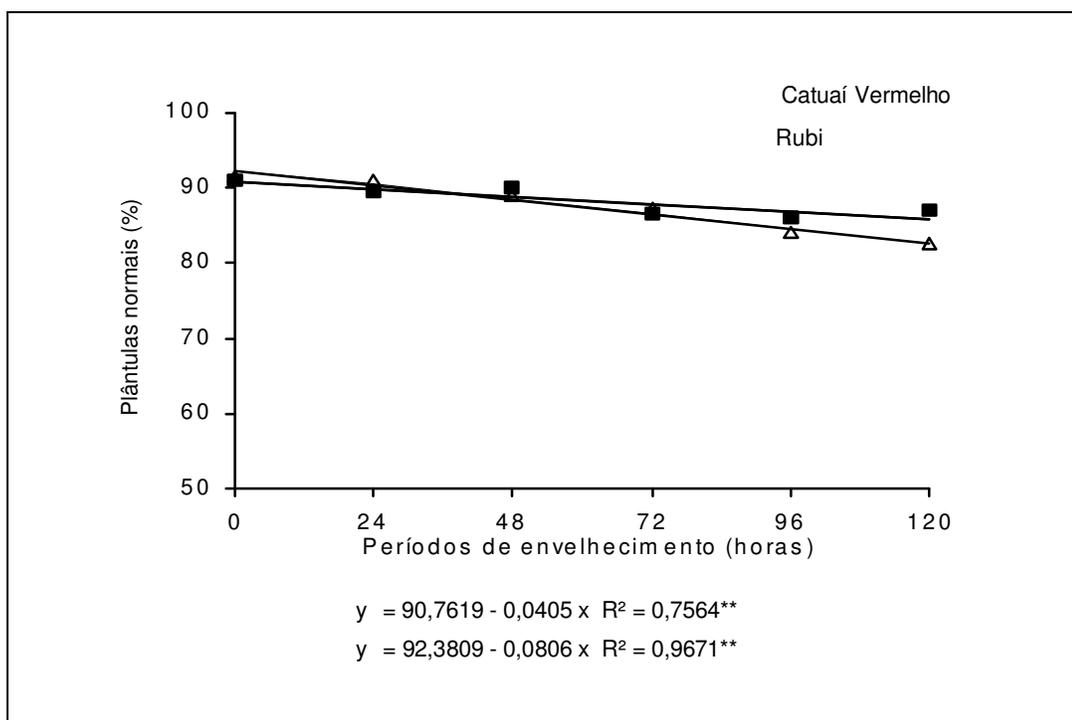


Figura 2 - Porcentagem de plântulas normais, obtidas no teste de germinação, em função dos períodos de envelhecimento artificial das sementes de duas cultivares de café.

O armazenamento em câmara fria foi mais benéfico à germinação das sementes de ambas as cultivares, sendo que até dois meses de armazenamento a qualidade fisiológica das sementes das duas cultivares foi similar, porém, após esse período, verifica-se redução mais acentuada na germinação das sementes da cultivar Rubi. Nota-se que aos 12 meses de armazenamento a germinação destas sementes foi de aproximadamente 70%, limite mínimo para comercialização de semente no País (CESM, 1997). Já as sementes de Catuaí Vermelho apresentaram, aos 12 meses, cerca de 80% de germinação. Assim, enquanto em condição ambiente a germinação foi praticamente nula aos seis meses, em câmara fria as porcentagens satisfatórias de germinação foram mantidas até os 12 meses de armazenamento.

Sabe-se que a viabilidade das sementes de café é seriamente comprometida entre quatro e seis meses de armazenamento (Vossen, 1979), sendo que um dos principais problemas enfrentados pelos produtores de sementes de café diz respeito a manutenção da qualidade das sementes no armazenamento (IBC, 1981). Segundo Sguarezi et al. (2002), a redução acentuada na viabilidade e no vigor das sementes de café no decorrer do

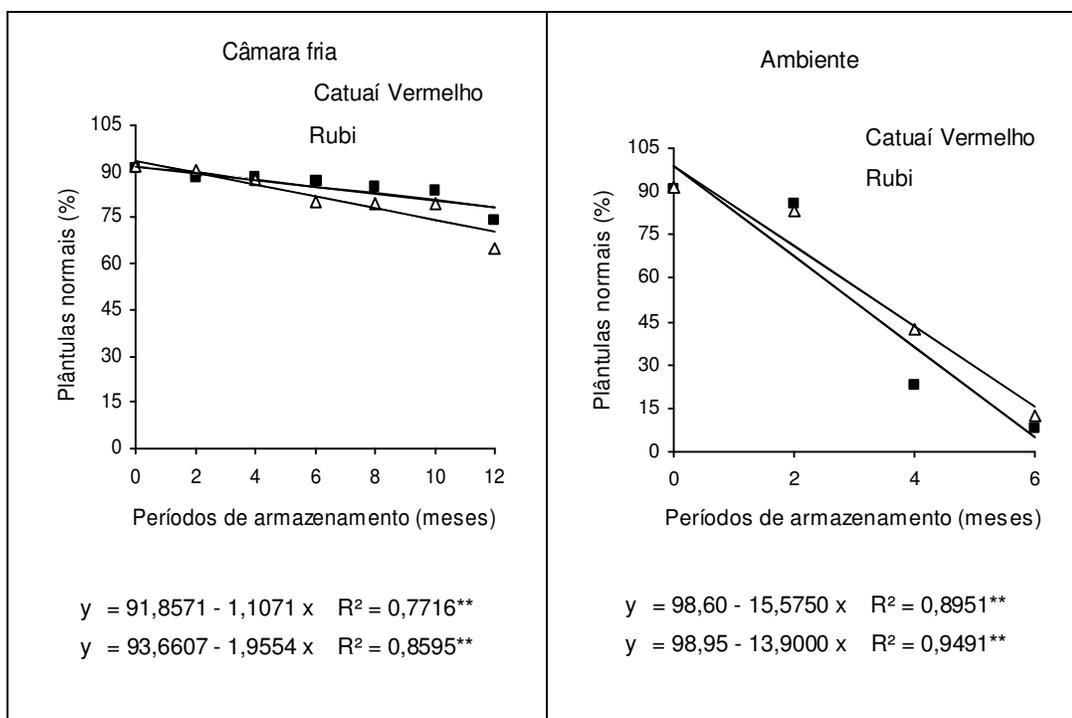


Figura 3 - Porcentagem de plântulas normais, obtidas no teste de germinação, em função do período e da condição de armazenamento das sementes de duas cultivares de café.

armazenamento pode ser explicada pelo avanço no processo de deterioração, em virtude principalmente da elevada incidência de fungos.

Comparando-se estes resultados com aqueles obtidos no envelhecimento artificial (Figura 2) verifica-se que a redução na germinação provocada pelo aumento do tempo de envelhecimento artificial foi bem menos drástica do que a verificada no armazenamento. Isto evidencia, portanto, diferenças entre as modificações fisiológicas promovidas pelo envelhecimento artificial e natural (armazenamento) das sementes.

Embora os efeitos do envelhecimento natural e do envelhecimento artificial se traduzam na queda do poder germinativo, ambos não agem de maneira semelhante sobre o metabolismo da semente, conforme destacaram vários autores, dentre os quais Abdul-Baki e Anderson (1970), Priestley e Leopold (1983) e Ganguli e Sen-Mandi (1990).

4.2.2. Primeira contagem de germinação

No Quadro 3, encontra-se o resumo da análise de variância relativa a primeira contagem do teste de germinação das sementes submetidas a diferentes períodos de envelhecimento artificial. Observa-se que os fatores cultivar e período de envelhecimento apresentaram efeitos significativos. No entanto, a interação entre eles mostrou-se não significativa.

Pela Figura 4, verifica-se que as sementes das duas cultivares sofreram redução no vigor, sendo os efeitos lineares e decrescentes com o aumento no período de envelhecimento artificial. Observa-se que as sementes de Catuaí Vermelho apresentaram qualidade fisiológica inferior quando comparadas às sementes da cultivar Rubi, ocorrendo redução no vigor à medida que se aumentou o tempo de envelhecimento artificial. Verifica-se, ainda, que no início do envelhecimento artificial a diferença de vigor entre as sementes das duas cultivares já era visível, mas com o avanço do envelhecimento artificial a diferença entre as cultivares tende a diminuir.

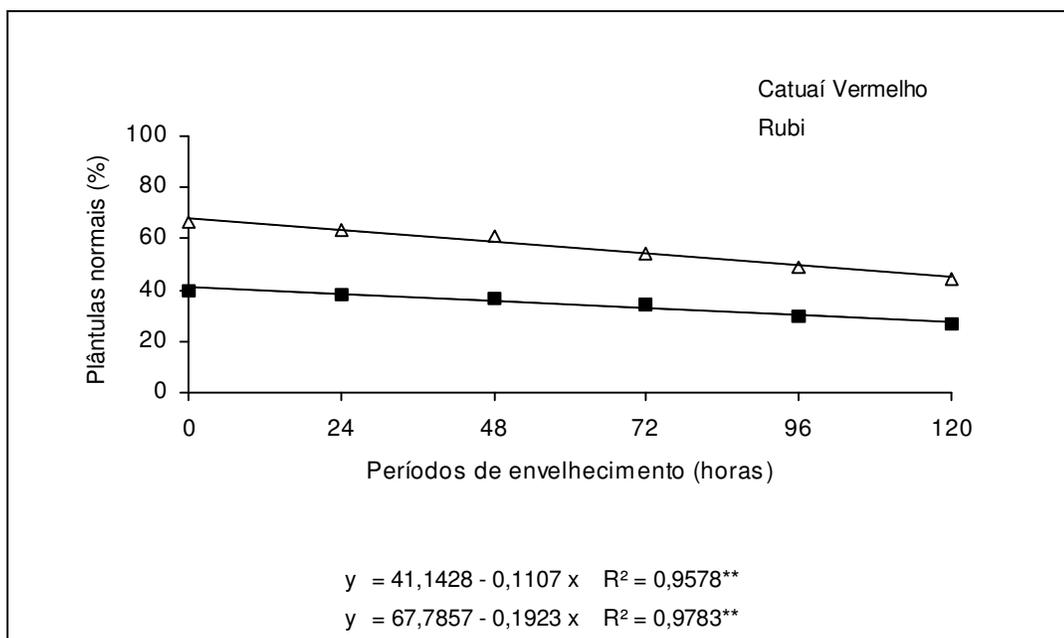


Figura 4 - Porcentagem de plântulas normais, obtidas na primeira contagem do teste de germinação, em função dos períodos de envelhecimento artificial das sementes de duas cultivares de café.

Nota-se que o vigor, avaliado pela primeira contagem de germinação (Figura 4) decresceu mais rapidamente do que a germinação (Figura 2) com o

aumento do período de envelhecimento artificial. Resultados semelhantes foram encontrados por Lin (1990) trabalhando com sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Prince) envelhecidas artificialmente a 45°C e 100% UR por um, dois, três e quatro dias.

No Quadro 4 encontra-se o resumo da análise de variância dos dados obtidos na primeira contagem de germinação das sementes armazenadas em ambiente e câmara fria. Verifica-se a existência de efeitos significativos dos fatores cultivar, condição e período de armazenamento. Entretanto, não houve efeito significativo para a interação entre cultivar e condição de armazenamento.

As sementes das cultivares Catuaí Vermelho e Rubi tiveram redução no vigor, apresentando respostas lineares e decrescentes, ao longo do período de armazenamento, tanto em condição de câmara fria como em ambiente (Figura 5). Nota-se que nas sementes armazenadas em câmara fria a redução no vigor aconteceu de forma mais lenta quando comparada à condição ambiente. Isso evidencia a melhor manutenção da qualidade fisiológica das sementes de café, quando armazenadas em câmara fria sob baixa temperatura.

Comparando os resultados de primeira contagem de germinação obtidos com as sementes envelhecidas artificialmente e com as sementes armazenadas observa-se comportamento semelhante, redução linear no vigor em função do aumento dos períodos de envelhecimento artificial e armazenamento. No entanto, os valores de porcentagens de plântulas normais obtidas no envelhecimento artificial foram mais próximos aos verificados no armazenamento em câmara fria.

Em estudo realizado por Priestley e Leopold (1983), o envelhecimento artificial, apesar de proporcionar redução no vigor, provocou alterações nas sementes de forma diferente do observado no envelhecimento natural. Powell e Harman (1985) questionaram se os eventos fisiológicos ocorridos durante o envelhecimento acelerado refletiam aqueles ocorridos durante o envelhecimento natural.

Os testes de vigor têm por finalidade distinguir níveis de qualidade fisiológica que não são detectados no teste de germinação (Krzyzanowski e França Neto, 2001). A primeira contagem do teste de germinação se mostrou sensível em avaliar o vigor das sementes de café, tanto para aquelas envelhecidas artificial como naturalmente.

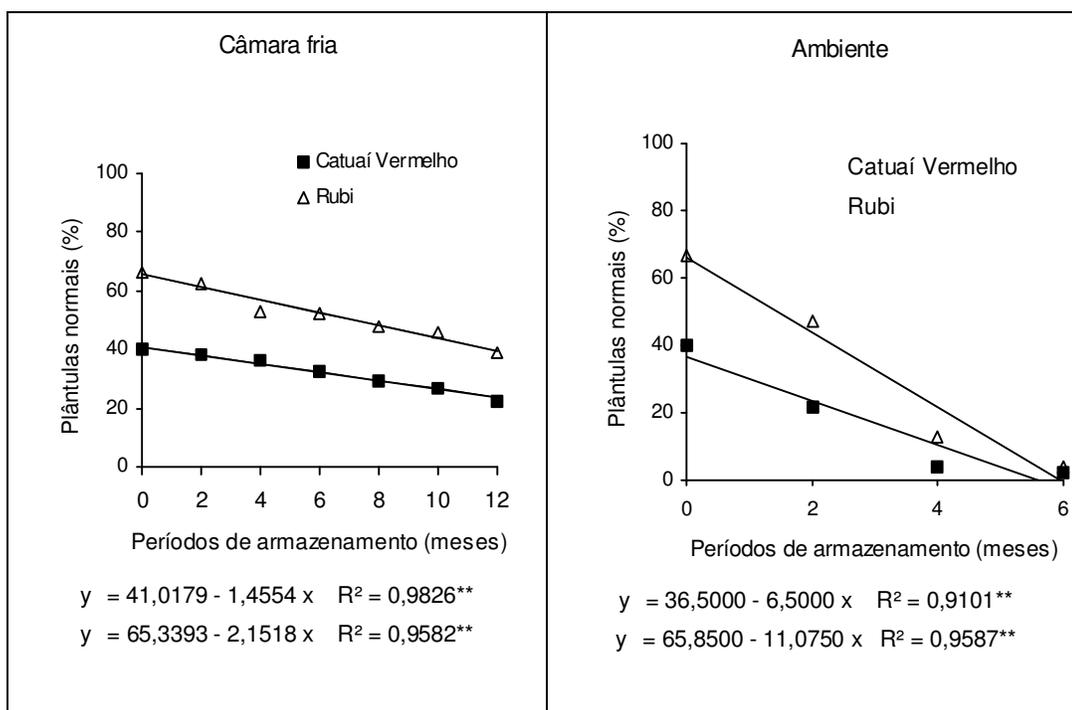


Figura 5 - Porcentagem de plântulas normais, obtidas na primeira contagem do teste de germinação, em função dos períodos e da condição de armazenamento das sementes de duas cultivares de café.

É importante destacar que diferenças no genótipo podem influenciar no vigor das sementes. Kalpana e Mandhava Rao (1994), trabalhando com sementes de amendoim envelhecidas a 40°C por oito dias, observaram diferenças entre as cultivares quanto à tolerância ao envelhecimento artificial.

4.2.3. Envelhecimento acelerado

No Quadro 3, encontra-se o resumo da análise de variância relativo aos testes de envelhecimento acelerado realizados com as sementes submetidas a diferentes períodos de envelhecimento artificial. Observa-se efeito altamente significativo para período de envelhecimento artificial e para a interação entre este e o fator cultivar.

Verifica-se, pela Figura 6, que houve queda linear no vigor das sementes de café com o aumento do período de tempo de envelhecimento, independente do cultivar, à semelhança do que foi observado na primeira contagem de germinação.

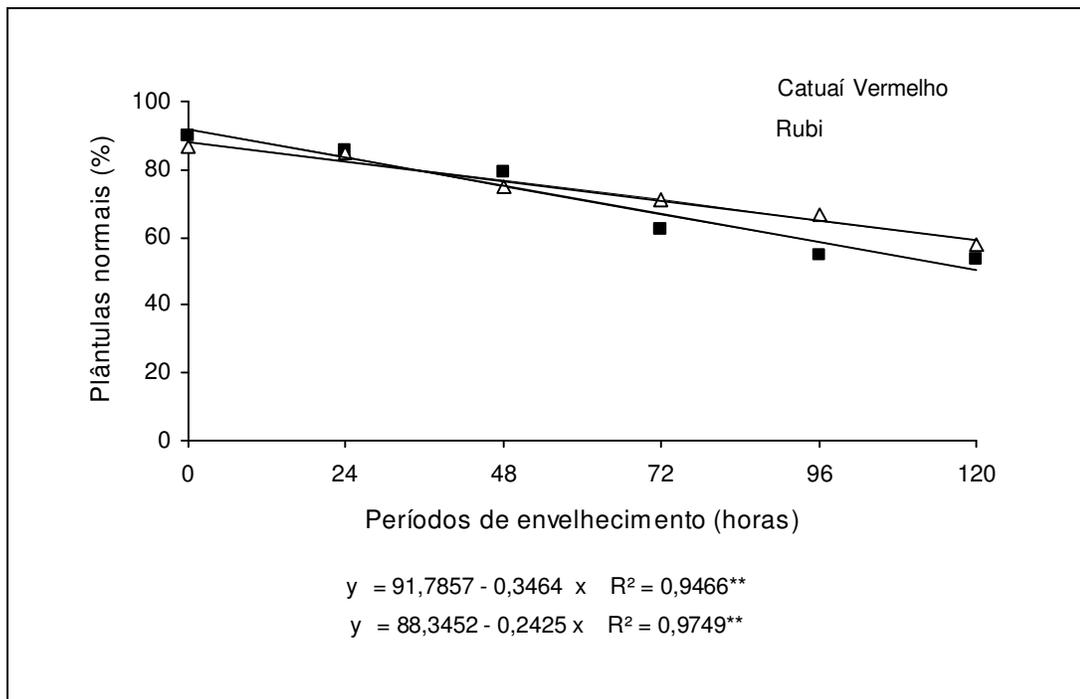


Figura 6 - Porcentagem de plântulas normais, obtidas no teste de envelhecimento acelerado, em função dos períodos de envelhecimento artificial das sementes de duas cultivares de café.

No Quadro 4 encontra-se o resumo da análise de variância para os resultados do teste de envelhecimento acelerado conduzido durante o armazenamento das sementes. Verifica-se que houve efeitos significativos para os fatores condição e períodos de armazenamento, porém, o fator cultivar mostrou-se não significativo. Entretanto, as interações duplas e triplas entre esses fatores mostraram-se altamente significativas. Ao analisar a interação entre os fatores cultivar x condição de armazenamento observa-se que há efeito significativo, porém, os seus desdobramentos não foram significativos. Portanto, o comportamento das cultivares independe da condição de armazenamento das sementes, mas quando avaliados em conjunto, nota-se efeito nos resultados do teste de envelhecimento acelerado. Porém, o mesmo não se repete quando se analisa a interação entre cultivar e período de armazenamento, mostrando haver efeito significativo na interação e também nos desdobramentos de ambas as cultivares dentro do fator período de armazenamento.

Verifica-se, na Figura 7, redução no vigor das sementes de ambas as cultivares durante o armazenamento em condição de câmara fria e ambiente, semelhantemente ao observado para os testes de germinação e primeira contagem de germinação. Nota-se que as sementes de café no início do

armazenamento apresentavam níveis semelhantes de vigor, tanto em câmara fria como ambiente. Houve redução acentuada no vigor tanto em condição de câmara fria como em ambiente. Nota-se, ainda, que as sementes armazenadas em condição ambiente aos dois meses atingiram valores em torno de 50% de plântulas normais após o envelhecimento acelerado. Entretanto, em câmara fria, valores semelhantes a este (50%) foram observados próximo aos seis meses.

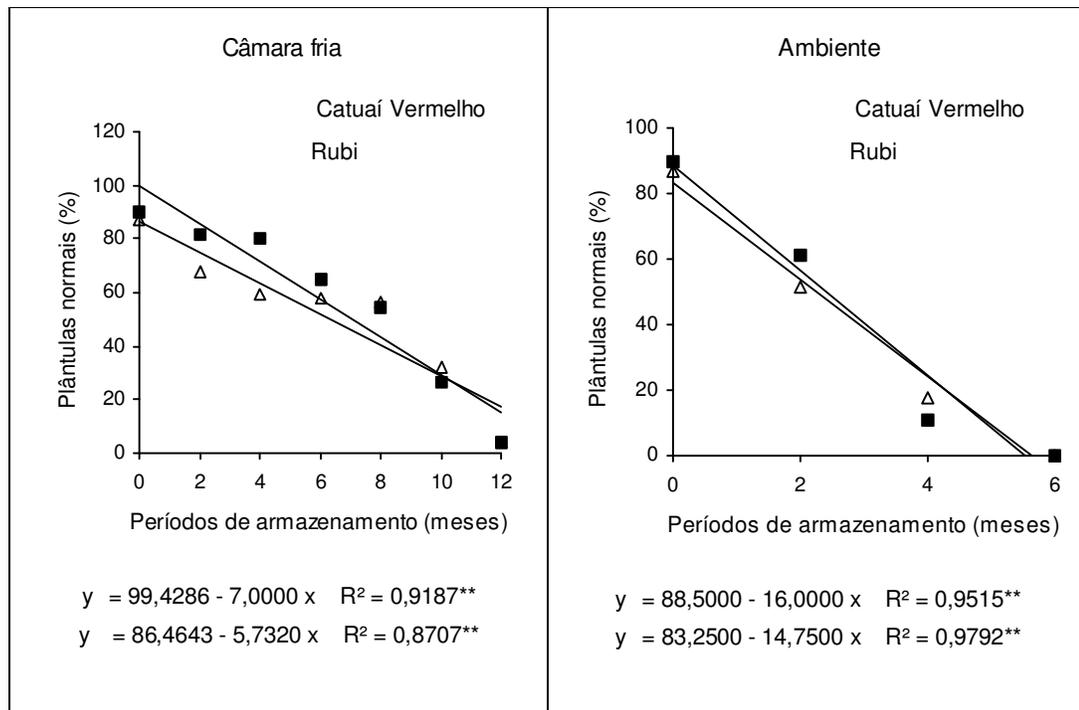


Figura 7 - Porcentagem de plântulas normais, obtidas no teste de envelhecimento acelerado, em função dos períodos e da condição de armazenamento das sementes de duas cultivares de café.

Verifica-se, por este teste, que a redução no vigor foi semelhante para as duas cultivares e que em condição ambiente já aos quatro meses o vigor das sementes era bastante reduzido (aproximadamente 20%), valor este que só foi observado aos 12 meses de armazenamento em câmara fria. Lima et al. (2001) verificaram que sementes de café em estágio avançado de deterioração exibiram sensibilidade elevada às condições de estresse impostas pelo teste de envelhecimento acelerado.

O teste de envelhecimento acelerado pode ser considerado como um dos mais sensíveis para avaliação do vigor, pois, segundo a seqüência hipotética da deterioração das sementes proposta por Delouche e Baskin (1973), o decréscimo

do potencial de armazenamento é a segunda manifestação fisiológica da deterioração, após a redução da velocidade de germinação.

A eficiência dos testes de vigor depende da escolha adequada do método, em função dos objetivos pretendidos. Vale destacar que o uso de apenas um único teste de vigor não é capaz de caracterizar com total segurança a qualidade fisiológica das sementes, podendo gerar informações incompletas. Assim, a tendência predominante é a combinação de resultados de vários testes, tendo sempre em mente a finalidade do uso dos resultados, pois nem sempre o teste mais indicado para avaliar o potencial de emergência das plântulas em campo é o mais adequado para detectar diferenças entre o potencial de armazenamento das sementes de determinada espécie (Marcos Filho, 1999).

A deterioração provocada pelo envelhecimento natural (armazenamento), observada na Figura 7, foi mais drástica do que a promovida pelo envelhecimento artificial (Figura 6), pois após seis e 12 meses de armazenamento em câmara fria e ambiente o vigor, avaliado pelo envelhecimento acelerado, foi de 20% e zero, respectivamente. Já após o envelhecimento artificial por 120 horas, os valores obtidos foram, em média, de aproximadamente 55%. Portanto, seria necessário um período maior de envelhecimento artificial para provocar um nível de deterioração compatível com aquela que ocorre no armazenamento.

4.2.4. Matéria verde das plântulas

Analisando o Quadro 3, verifica-se a existência de efeitos altamente significativos para cultivar e período de envelhecimento artificial, no peso de matéria verde das plântulas. Entretanto, observa-se efeito não significativo para a interação entre eles.

Pela Figura 8, observa-se que, à semelhança do que ocorreu nos testes anteriores, as sementes apresentaram redução linear na qualidade fisiológica, avaliada pelo peso de matéria verde das plântulas, à medida que se aumentou o tempo de envelhecimento artificial. Verifica-se que as sementes de Rubi apresentaram maiores valores de matéria verde, destacando-se, como de qualidade fisiológica superior. Nota-se que, no início do envelhecimento artificial, o peso de matéria verde das plântulas de ambas as cultivares era semelhante, valores em torno de 188 e 186 mg/plântula, para as cultivares Rubi e Catuaí Vermelho, respectivamente. Porém, após 120 horas de envelhecimento artificial

houve redução no peso de matéria verde para 180 mg de peso verde/plântula para Rubi e 167 mg de peso verde/plântula para Catuaí Vermelho.

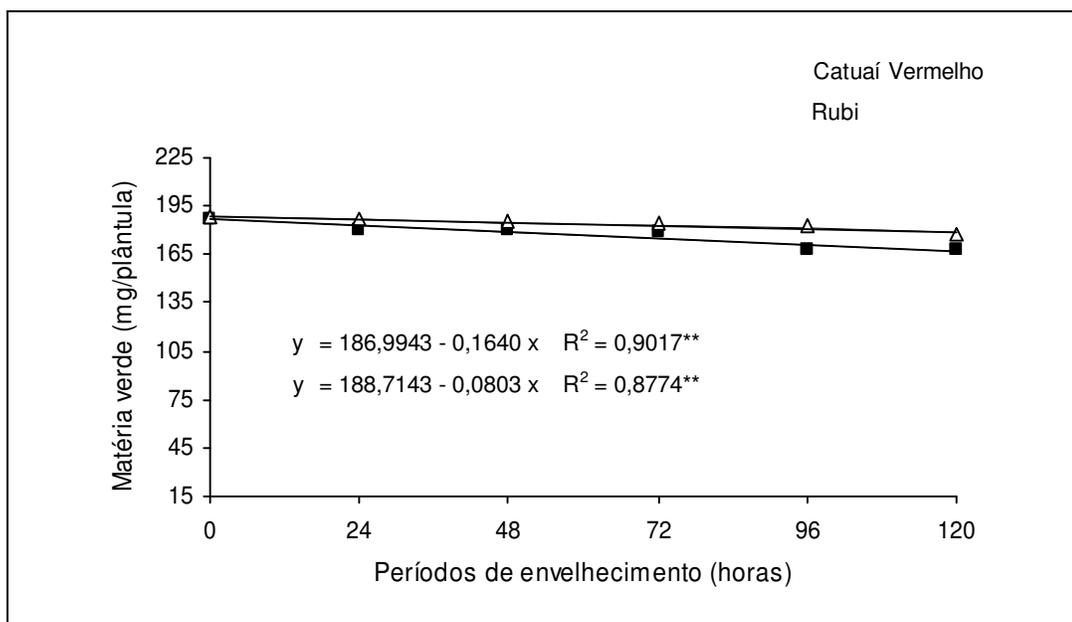


Figura 8 - Peso de matéria verde das plântulas de café, em função dos períodos de envelhecimento artificial das sementes de duas cultivares de café.

De acordo com os resultados da análise de variância referente ao peso de matéria verde das plântulas, em função do período e da condição de armazenamento das sementes (Quadro 4), verifica-se que não houve efeito significativo entre a interação dos fatores cultivar x condição de armazenamento e cultivar x período de armazenamento. Porém, a análise isolada dos fatores condição e período de armazenamento demonstraram haver efeito significativo sobre o peso de matéria verde das plântulas.

O armazenamento das sementes promoveu decréscimo linear no peso de matéria verde das plântulas, independente da condição (Figura 9). Verifica-se, novamente, que os maiores pesos de matéria verde das plântulas foram observados para as sementes de Rubi, armazenadas em câmara fria, à semelhança do ocorrido após o envelhecimento artificial. Verifica-se, portanto, que em ambiente, ocorreram decréscimos mais acentuados no peso de matéria verde de plântulas. Isso acontece devido à condição de ambiente ser mais favorável à deterioração.

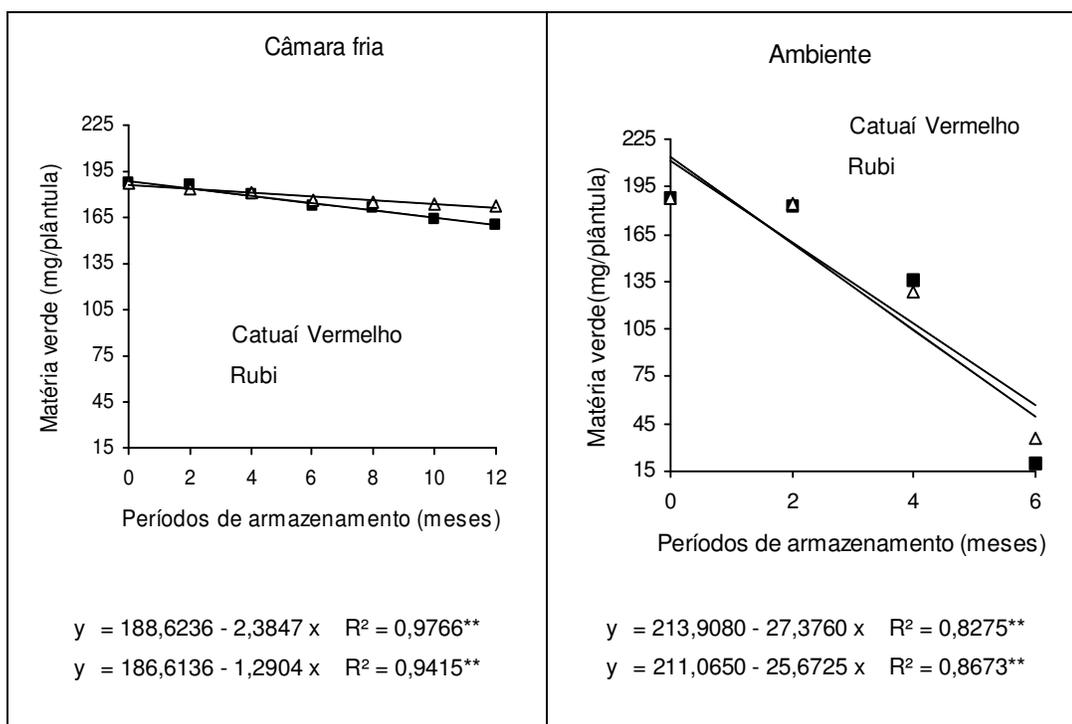


Figura 9 - Peso de matéria verde das plântulas de café, em função dos períodos e da condição de armazenamento das sementes de duas cultivares de café.

A deterioração é resultado de alterações de natureza fisiológica e bioquímica (Abdul-Baki e Anderson, 1972). Segundo Delouche e Baskin (1973), as manifestações da deterioração das sementes podem ser evidenciadas pela redução no crescimento ou no vigor das plântulas, podendo, portanto, ser avaliada pelo crescimento das plântulas. Nota-se que, à medida que se avança no processo de deterioração, tanto natural como artificial, há uma tendência de ocorrer decréscimo na matéria verde das plântulas das duas cultivares de café.

4.2.5. Matéria seca das plântulas

No Quadro 3 encontra-se o resumo da análise de variância dos dados referentes ao peso de matéria seca das plântulas obtidos durante o envelhecimento artificial das sementes. Notam-se efeitos altamente significativos dos fatores cultivar e período de envelhecimento artificial. Porém, destaca-se o efeito não significativo para a interação entre eles.

À semelhança do que ocorreu anteriormente com o peso de matéria verde, observa-se que há também redução linear no peso de matéria seca à medida que se aumentou o período de envelhecimento artificial (Figura 10). Portanto, o envelhecimento artificial promoveu redução no vigor das sementes de café. É importante destacar, à semelhança do peso de matéria verde, que as sementes da cultivar Rubi se mantiveram com nível superior de vigor durante todo o envelhecimento artificial.

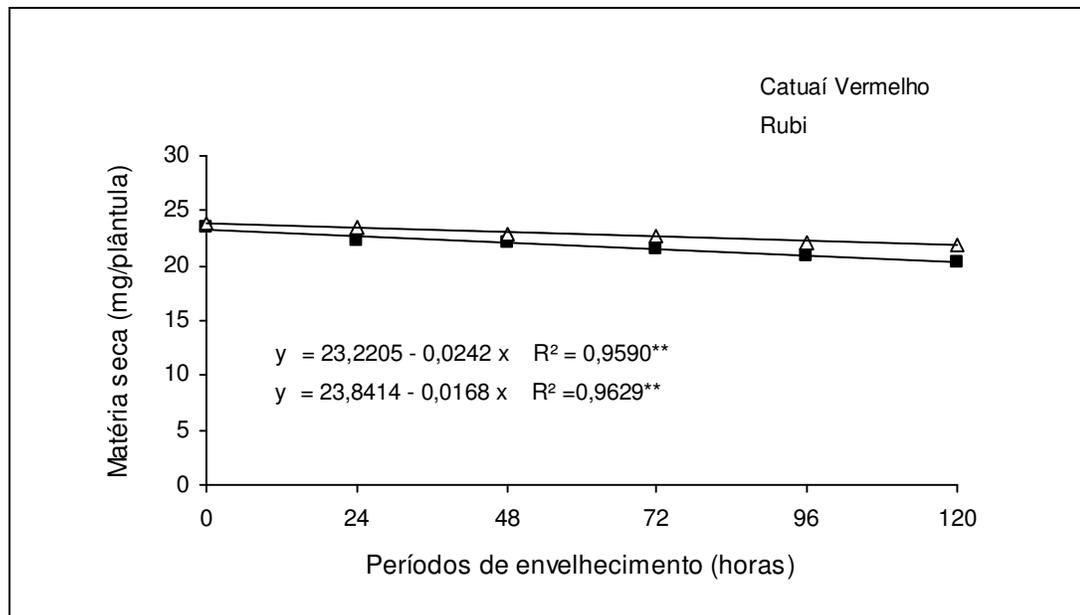


Figura 10 - Peso de matéria seca das plântulas de café, em função dos períodos de envelhecimento artificial das sementes de duas cultivares de café.

De acordo com McDonald Jr. (1980), sementes vigorosas são capazes de sintetizar mais eficientemente novos compostos e rapidamente transferi-los para o eixo embrionário em desenvolvimento, resultando em aumento do peso da matéria seca das plântulas.

No Quadro 4 encontra-se o resumo da análise de variância para o peso de matéria seca das plântulas em função do armazenamento das sementes de café. Verifica-se que houve efeitos altamente significativos para os fatores condição e períodos de armazenamento, porém, o fator cultivar mostrou-se não significativo.

Pela Figura 11, verifica-se que as sementes das duas cultivares sofreram redução linear no peso da matéria seca plântulas, com o aumento do tempo de armazenamento das sementes, semelhantemente ao que ocorreu nas sementes

envelhecidas artificialmente. Porém, para o armazenamento em condição ambiente, a redução no peso de matéria seca das plântulas ocorreu de forma mais rápida do que em câmara fria. Aos seis meses, em condição ambiente, o conteúdo de matéria seca foi aproximadamente 5 mg/plântula. Observa-se que em câmara fria, aos seis meses, o peso de matéria seca estava em torno de 20 mg/plântula e que aos 12 meses este valor quase não alterou, permanecendo próximo a 20 mg/plântula. As plântulas oriundas de sementes armazenadas em câmara fria foram mais vigorosas. De acordo com Nakagawa (1994), sementes vigorosas proporcionam maior transferência de seus tecidos de reserva para o eixo embrionário na fase de germinação, originando plântulas com maior peso, em função do maior acúmulo de matéria. Nota-se ainda, que o peso de matéria verde das plântulas foi mais sensível para detectar diferenças no vigor das sementes em função do aumento do período de envelhecimento das sementes.

Conforme constatado nos testes anteriores, o armazenamento das sementes de café em condição ambiente se mostrou altamente favorável à deterioração das sementes, promovendo perdas acentuadas no vigor tanto para as sementes de Rubi como de Catuaí Vermelho. Arêdes (2002) verificou também que a redução do conteúdo de matéria seca das sementes de café varia em função do local em que as mesmas se encontram armazenadas, devido à interferência dos fatores climáticos na qualidade fisiológica das sementes.

A condição de armazenamento tem influência direta na deterioração das sementes de café. Destaca-se a câmara fria como o melhor ambiente para conservar o vigor das sementes de café. Sabe-se, entretanto, que a deterioração não pode ser evitada, mas o armazenamento adequado pode controlar a velocidade do processo, atenuando os seus efeitos. Portanto, as condições de temperatura e umidade relativa do ar durante o armazenamento são de grande relevância na evolução da deterioração (Popinigis, 1985), o que justifica possivelmente o comportamento diferenciado das duas cultivares de café em condição de câmara fria e ambiente.

É importante ressaltar que, tanto em câmara fria como em ambiente, a umidade relativa média foi de aproximadamente 75%. Desta forma, a temperatura parece ter sido a condição que mais afetou a conservação das sementes de café.

O envelhecimento artificial e o natural promoveram decréscimos no peso de matéria seca das plântulas de café, independentemente da condição de armazenamento. Resultados semelhantes foram verificados por Arêdes (2002)

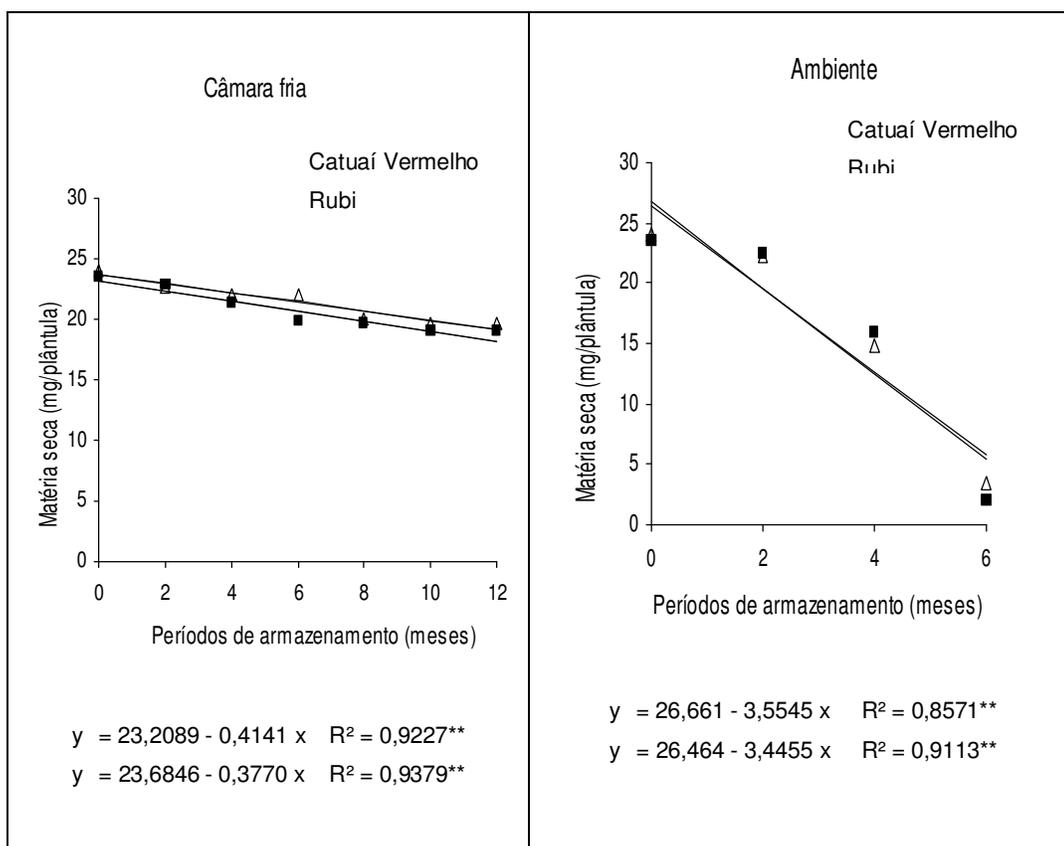


Figura 11 - Peso de matéria seca das plântulas de café, em função dos períodos e da condição de armazenamento das sementes de duas cultivares de café.

O envelhecimento artificial e o natural promoveram decréscimos no peso de matéria seca das plântulas de café, independentemente da condição de armazenamento. Resultados semelhantes foram verificados por Arêdes (2002) em sementes de café, devido possivelmente ao metabolismo de compostos orgânicos durante o processo respiratório.

4.2.6. Condutividade elétrica

O resumo da análise de variância dos dados obtidos no teste de condutividade elétrica das sementes (Quadro 3), submetidas a diferentes períodos de envelhecimento artificial, revela efeitos altamente significativos para cultivar e período de envelhecimento artificial.

Pelo teste de condutividade elétrica (Figura 12), verifica-se, para ambas cultivares, aumento na quantidade de eletrólitos liberados pelas sementes à medida que se aumentou o tempo de envelhecimento artificial, sendo os efeitos

lineares e crescentes com os períodos de envelhecimento. Verificam-se diferenças entre as cultivares de café quanto à qualidade fisiológica das sementes, avaliada pelo teste de condutividade elétrica, confirmando a superioridade das sementes de Rubi, o que também foi observado na primeira contagem de germinação, peso de matéria verde e seca das plântulas. Observa-se que, no tempo zero (sementes não envelhecidas), as sementes de Catuaí Vermelho apresentaram condutividade elétrica em torno de $9,5 \mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ e $6,9 \mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ para as sementes de Rubi. No entanto, no final do envelhecimento artificial (120 horas), a condutividade elétrica aumentou para $15,98 \mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ para as sementes de Catuaí Vermelho e $12,78 \mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ para as de Rubi.

Observa-se que à medida que se aumentou o período de envelhecimento artificial houve incremento na lixiviação de eletrólitos pelas sementes. Resultados semelhantes foram obtidos por Lin (1990), em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Prince) envelhecidas artificialmente a 45°C e 100% de umidade relativa por até quatro dias, onde o decréscimo no vigor e na germinação foi diretamente proporcional ao aumento na lixiviação eletrolítica de solutos pelas sementes, sugerindo uma relação entre deterioração da membrana e perda de vigor e germinação.

A análise de variância dos dados obtidos no teste de condutividade elétrica das sementes armazenadas (Quadro 4) revelou efeitos altamente significativos para cultivar e período de armazenamento, porém, o fator condição de armazenamento mostrou-se não significativo.

Pela Figura 13, observa-se comportamento semelhante ao obtido no envelhecimento artificial, pois à medida que se aumentou o tempo de armazenamento, houve redução no vigor e aumento da quantidade de eletrólitos liberados pelas sementes, sendo os efeitos lineares e crescentes com os períodos de armazenamento. Este teste também confirmou a superioridade da qualidade das sementes de Rubi, em ambas as condições de armazenamento. Verifica-se que no início do armazenamento (tempo zero de envelhecimento), para ambas as condições de armazenamento, as sementes apresentavam valores baixos de condutividade elétrica, próximo de $9 \mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ para Catuaí Vermelho e $7 \mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ para Rubi. Porém, observa-se que, aos 12 meses, as sementes armazenadas em câmara fria apresentaram valores de condutividade elétrica equivalentes aos das sementes armazenadas em ambiente aos seis meses, em torno de $17 \mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ para as sementes de Catuaí Vermelho e $12 \mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ para as de Rubi. Isso

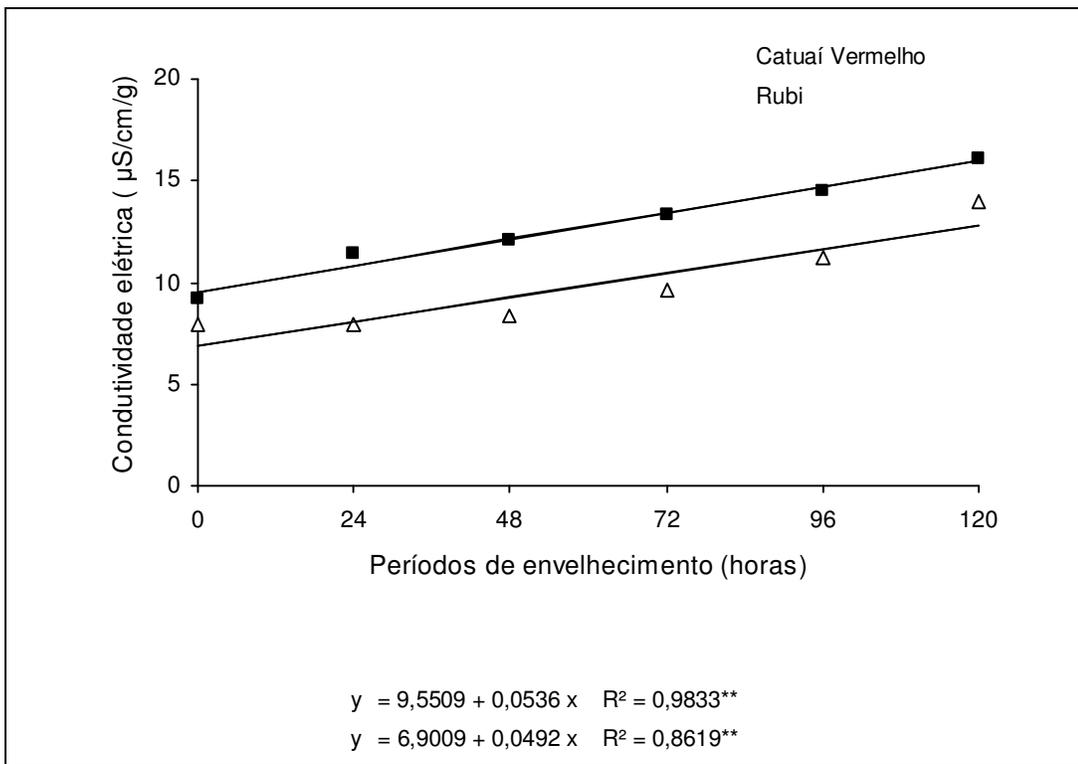


Figura 12 - Condutividade elétrica das sementes de duas cultivares de café, em função dos períodos de envelhecimento artificial.

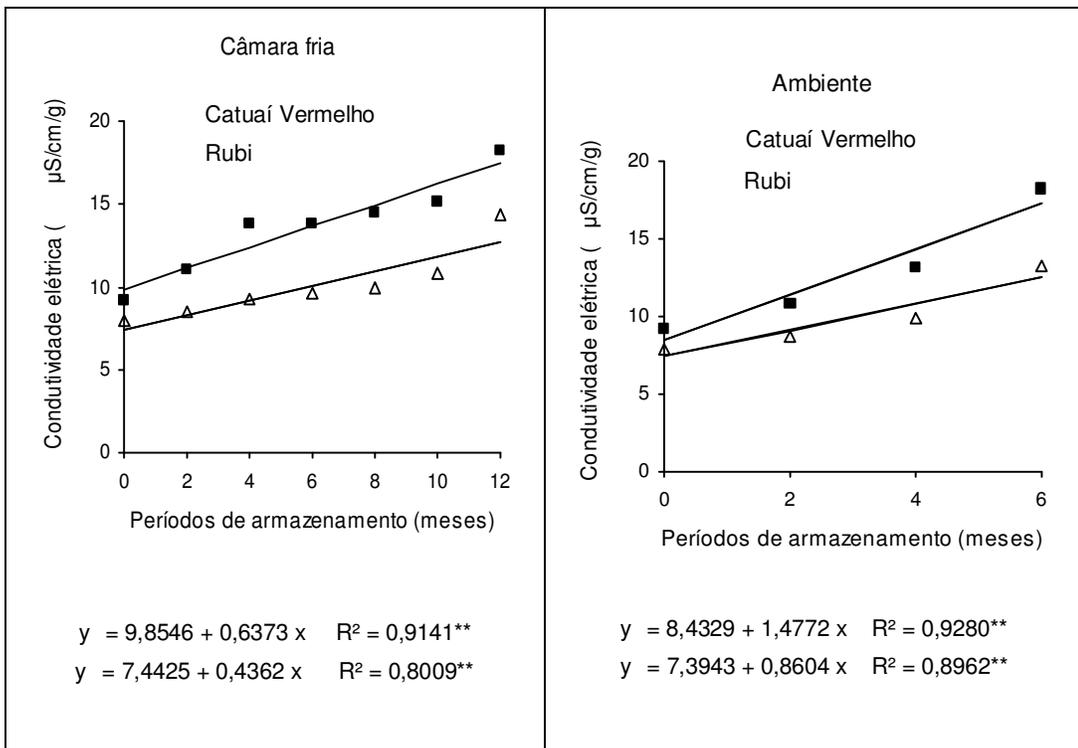


Figura 13 - Condutividade elétrica das sementes de duas cultivares de café, em função dos períodos e da condição de armazenamento.

evidencia a melhor conservação da qualidade fisiológica das sementes de café quando armazenadas em câmara fria. Provavelmente nas sementes armazenadas em câmara fria, as membranas celulares tenham se mantido bem organizadas e com isso controlaram melhor a lixiviação de solutos.

Sementes, assim como outros materiais biológicos, são compostas por células envolvidas por membranas plasmáticas semipermeáveis, que controlam trocas de água e solutos entre células e seu exterior. O processo de envelhecimento tem como consequência a desestruturação do sistema de membranas celulares das sementes. Assim, os maiores valores de condutividade elétrica tendem à aumentar à medida que o nível de deterioração aumenta. Prete (1992) verificou aumento significativo na condutividade elétrica como o decréscimo na qualidade fisiológica das sementes de café.

Os fosfolípidos são considerados as moléculas mais importantes da estrutura da membrana. Lin (1990), trabalhando com sementes de feijão anão francês envelhecidas artificialmente, verificou que houve tendência de decréscimo nos fosfolípidos totais, o que se refletiu na mudança da quantidade de fosfatidilcolina, fosfatidilinositol, fosfatidiletanolamina e ácido fosfático, devido ao envelhecimento. As mudanças peroxidativas foram consideradas as causas principais das alterações dos fosfolípidos da membrana plasmática das sementes envelhecidas.

Um dos principais sinais da deterioração das sementes é a degradação das membranas celulares (Delouche e Baskin, 1973). Nesse sentido, uma das teorias mais aceitas sobre o processo de deterioração das sementes, principalmente em função de um armazenamento prolongado, está relacionada com alteração ou perda de integridade das membranas celulares (Delouche e Baskin, 1973; Bewley e Black, 1985). Assim, a perda da integridade das membranas celulares, em função do armazenamento prolongado, pode ser comprovada pela quantidade de solutos lixiviados durante a embebição das sementes (Abdul-Baki e Anderson, 1973; Bewley e Black, 1994). Várias pesquisas têm demonstrado que podem ser lixiviados compostos orgânicos (açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos, proteínas e substâncias fenólicas) e inorgânicos, tais como fosfatos, íons Ca^{++} , K^+ , Mg^{++} e Na^{++} . Esses íons são importantes na ativação de enzimas, pois podem agir como cofatores de muitas enzimas importantes do metabolismo das sementes, além de poderem ser constituintes de

várias moléculas. Com o envelhecimento das sementes, pode haver descompartmentalização desses íons, afetando processos bioquímicos, como a respiração (Bewley e Black, 1994).

Ferguson et al. (1990), trabalhando com sementes de soja, verificaram que a lixiviação eletrolítica do eixo embrionário aumentou no início do armazenamento, antes da mudança do vigor da semente. A relação entre a lixiviação eletrolítica e a taxa respiratória foi altamente significativa, o que indica que baixa lixiviação e eficiência da respiração mitocondrial dependem da integridade das membranas. Eles sugeriram que o decréscimo na taxa respiratória poderia estar associado com as mudanças peroxidativas nos lipídios, e que estas mudanças ocorreriam antes da perda de vigor da semente. Porém, de acordo com Pearce e Abdel Samad (1980), verificaram que em sementes de amendoim envelhecidas sob temperatura de 38°C e 90% de umidade relativa, as composições de ácidos graxos das diferentes frações de lipídios das sementes envelhecidas artificialmente não foram alteradas; assim, sugeriram que a peroxidação provavelmente não foi importante na deterioração da membrana plasmática da semente envelhecida artificialmente.

4.2.7. Classificação do vigor de plântulas

A análise de variância da porcentagem de plântulas vigorosas (Quadro 3) revelou efeitos altamente significativos para cultivar e período de envelhecimento artificial, porém a interação entre eles mostrou-se não significativa.

Pela Figura 14, verifica-se que, à medida que se prolongou o período de envelhecimento artificial das sementes, houve redução linear na porcentagem de plântulas vigorosas de ambas as cultivares. No entanto, as sementes da cultivar Rubi tiveram qualidade fisiológica superior, apresentando maiores porcentagens de plântulas vigorosas em relação às da cultivar Catuaí Vermelho. Este teste permitiu identificar diferenças no vigor das sementes das duas cultivares de café, inclusive nos menores tempos de envelhecimento artificial. Observa-se que, no tempo zero, as sementes de Rubi possuíam porcentagem de plântulas vigorosas de 57,8% e o Catuaí Vermelho com 31,17%, porém, no final do envelhecimento artificial (120 horas) nota-se redução na porcentagem de plântulas vigorosas de 13,2% para Catuaí Vermelho e 27,6% para Rubi.

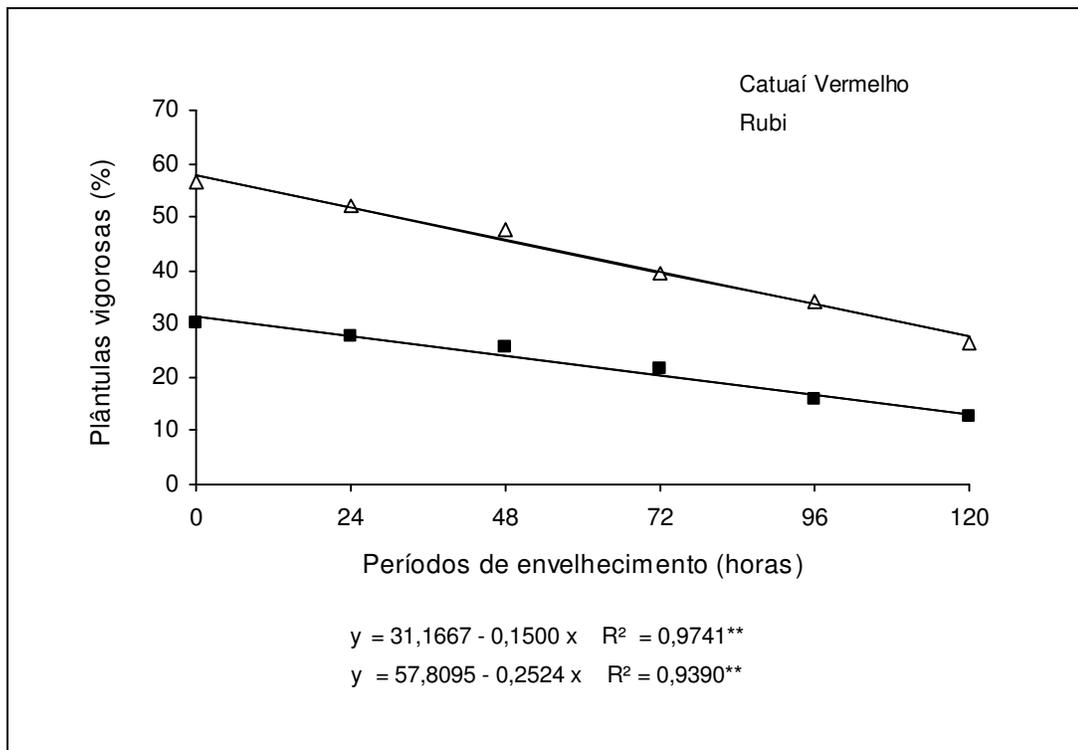


Figura 14 - Porcentagem de plântulas vigorosas de duas cultivares de café, em função dos períodos e da condição de armazenamento das sementes.

O Quadro 4 apresenta o resumo da análise de variância dos dados obtidos nos testes de classificação do vigor de plântulas, realizados após os diferentes períodos de armazenamento das sementes. Os fatores cultivar, condição e período de armazenamento foram significativos, assim como a interação entre eles.

Observa-se redução linear na porcentagem de plântulas vigorosas (Figura 15) à medida que as sementes permaneceram armazenadas, tanto em condição de câmara fria como ambiente. Porém, em ambiente a redução foi mais acentuada, principalmente a partir do quarto mês de armazenamento; sendo que maior porcentagem de plântulas vigorosas foi observada para as sementes da cultivar Rubi.

Segundo Nakagawa (1994), sementes vigorosas, mesmo em condições não favoráveis de armazenamento, tendem a apresentar melhor capacidade de originar plântulas mais desenvolvidas. Sementes mais vigorosas originam plântulas com maior taxa de crescimento, em função de apresentarem maior capacidade de transformação e de suprimento de reservas dos tecidos de

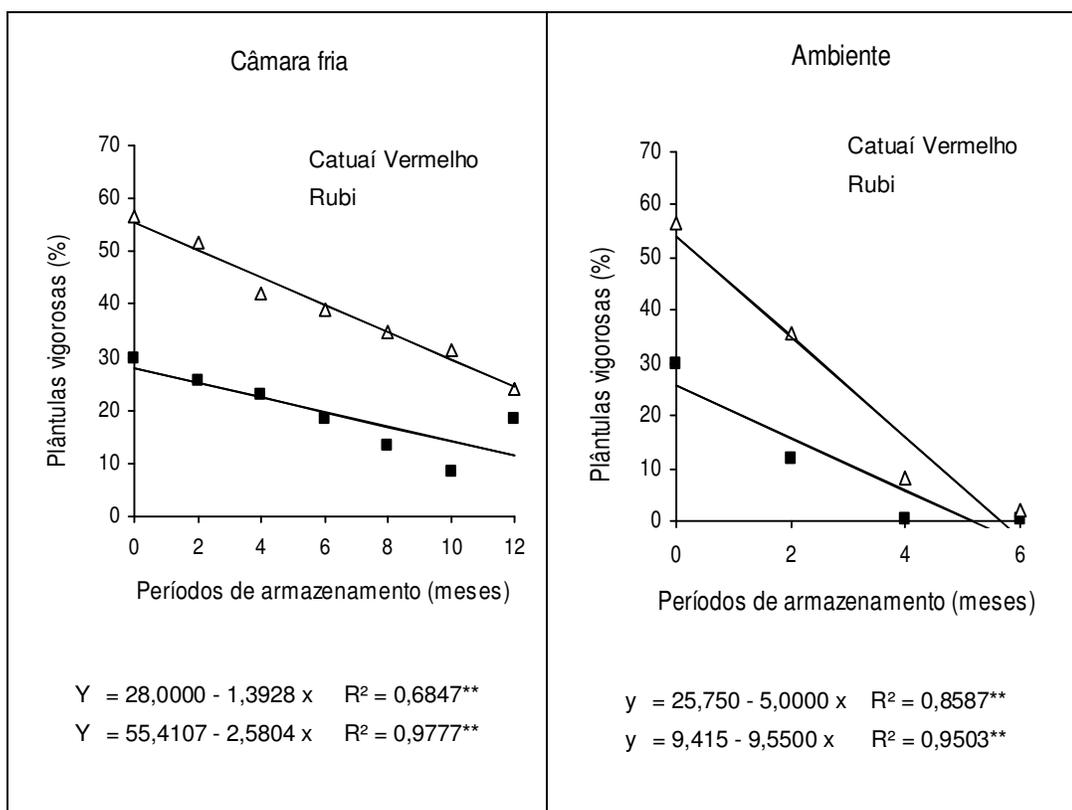


Figura 15 - Porcentagem de plântulas vigorosas de duas cultivares de café, em função dos períodos e da condição de armazenamento das sementes.

armazenamento e da maior incorporação destes pelo eixo embrionário (Dan et al., 1987).

Em câmara fria, observa-se que as sementes de Catuaí Vermelho apresentaram decréscimo na porcentagem de plântulas vigorosas; porém, em condição ambiente, a redução foi mais drástica. Em geral, verifica-se que houve tendência de redução na porcentagem de plântulas vigorosas, devido à deterioração natural das sementes.

Provavelmente, tal fato esteja relacionado às oscilações na umidade relativa do ar, ocorridas durante o armazenamento das sementes em condição ambiente. Com base nos resultados, vale ressaltar que o armazenamento das sementes de café em câmara fria contribuiu para preservar a qualidade fisiológica das sementes, retardando o processo de deterioração, que em condição de ambiente foi bem mais acentuado, com perda total de vigor e viabilidade antes de seis meses.

4.3. Avaliação bioquímica das sementes

4.3.1. Lipídios

A análise de variância referente aos teores de lipídios (Quadro 5) revelou efeito significativo para os fatores cultivar e período de envelhecimento artificial, bem como para a interação entre eles.

Quadro 5 - Resumo da análise de variância dos dados obtidos da determinação do teor de lipídios das sementes de duas cultivares de café submetidas a diferentes períodos de envelhecimento artificial.

Fonte de Variação	G.L.	Teste F	
Cultivar (C)	1	47,32**	
Resíduo (a)	4		
Período (P)	5	4,12**	
C x P	5	4,78**	
	P/C ₁	5	4,64*
	P/C ₂	5	4,85*
Resíduo (b)	20		
C.V. (a) (%)		4,02	
C.V. (b) (%)		4,98	
Média		10,96	

** e * significativo a 1% e 5% de probabilidade, pelo teste F.
C₁ - Catuaí Vermelho; C₂ - Rubi.

Nota-se que o teor de lipídios das sementes de café sofreu pequenas alterações com o envelhecimento artificial (Figura 16). Em geral, as sementes de Rubi apresentaram teores de lipídios superiores às da cultivar Catuaí Vermelho, a partir de 48 horas de envelhecimento artificial. Observa-se que, nas sementes da cultivar Rubi, entre zero e 48 horas de envelhecimento, não houve alteração no teor de lipídios, porém, a partir de 48 horas houve uma tendência de aumento. Já para as sementes da cultivar Catuaí Vermelho, verifica-se aumento no teor de lipídios entre zero e 24 horas, decrescendo a partir deste período para valores próximos aos obtidos nas sementes não envelhecidas (período zero).

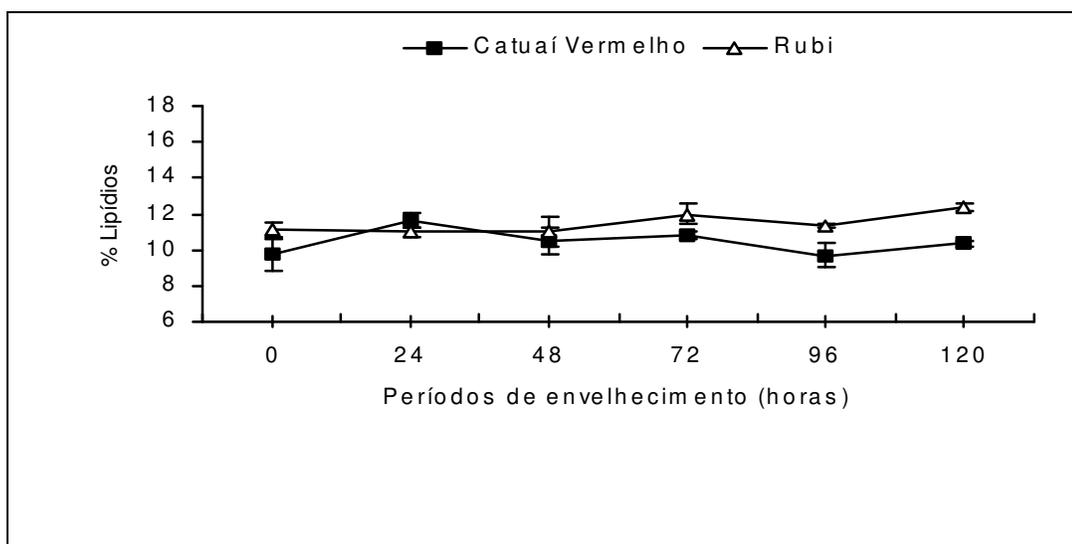


Figura 16 - Efeito do envelhecimento artificial na porcentagem de lipídios das sementes de duas cultivares de café (Média \pm Desvio Padrão).

O teor de lipídios em sementes de café varia entre 9 a 15% (Mazzafera et al., 1998). Observa-se, que para ambas as cultivares, durante todo o período de envelhecimento artificial, os valores obtidos situaram-se nessa faixa.

É importante ressaltar ainda, que os teores de lipídios verificados nas sementes não envelhecidas estiveram em torno de 9% para Catuaí Vermelho e 11% para Rubi, e foram próximos aos obtidos às 120 horas de envelhecimento, 10% para as sementes de Catuaí Vermelho e 12% para as de Rubi, indicando, portanto, que esta característica não parece estar associada ao vigor e deterioração das sementes de café.

Basra et al. (2003), trabalhando com sementes de algodão envelhecidas artificialmente a 40-44°C e 90-95% de umidade relativa por diferentes períodos, verificaram que houve redução na germinação e no vigor com o aumento no tempo de envelhecimento, acompanhada de um aumento linear no conteúdo de ácidos graxos livres e peróxidos em função da peroxidação de lipídios. Entretanto, Freitas (2003) verificou que, em sementes de algodão envelhecidas natural e artificialmente, houve decréscimos nos teores de lipídios das sementes com a queda de viabilidade e vigor. Esse decréscimo pode ser explicado pela oxidação dos lipídios presentes nas sementes, reação esta provocada pela intensificação do processo deteriorativo; além disso, notou-se que houve decréscimos na atividade das enzimas lipoxigenase e fosfatase ácida com o envelhecimento artificial e natural das sementes de algodão. É importante destacar, contudo, que

as sementes de algodão contém altos teores de lipídios (entre 25 e 40%), consideradas oleaginosas, sendo, portanto, bastante propensas à deterioração, porém, as sementes de café, apresentam baixo teor de óleo em sua constituição, apenas cerca de 5 a 9%.

O Quadro 6 apresenta o resumo da análise de variância das determinações do teor de lipídios após os diferentes períodos de armazenamento das sementes. Observa-se efeito altamente significativo apenas para o fator período de armazenamento e para a interação entre este e os fatores cultivar e condição de armazenamento.

Quadro 6 - Resumo da análise de variância dos dados obtidos da determinação do teor de lipídios das sementes de duas cultivares de café submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Fonte de Variação	G.L.	Teste F
Cultivar (C)	1	0,00
Condição (A)	1	0,08
C x A	1	0,00
Resíduo (a)	8	
Período (P)	6	22,46**
C x P	6	3,43**
	P/C ₁	6,35**
	P/C ₂	15,07**
A x P	4	8,58**
	P/A ₁	13,46**
	P/A ₂	10,84**
C x A x P	4	1,55
Resíduo (b)	40	
C.V. (%) (a)		14,11
C.V. (%) (b)		10,34
Média		12,35

** e * significativo a 1% e 5% de probabilidade, pelo teste F.

C₁ - Catuaí Vermelho; C₂ - Rubi.

A₁ - Câmara fria; A₂ - Ambiente.

Pelas Figuras 17 e 18, observa-se a ocorrência de alterações nos teores de lipídios das sementes de café armazenadas em câmara fria e em condição ambiente. Verifica-se que as sementes armazenadas em câmara fria apresentaram aumentos nos teores de lipídios até o 8º mês para Catuaí Vermelho e até o 6º mês para Rubi, declinando expressivamente a partir destes períodos, em ambas cultivares.

Nota-se ainda que, em câmara fria, o máximo teor de lipídios ocorreu em torno do 8º mês de armazenamento, verificando-se teores de 17,6% para Catuaí Vermelho e de 13,4% para Rubi. O teor mínimo de lipídios ocorreu no 12º mês, sendo de 9,9% para as sementes de Rubi e de 8,8% para as de Catuaí Vermelho.

Entretanto, em condição ambiente (Figura 18) o máximo teor de lipídios nas sementes ocorreu em torno do 6º mês, quando Catuaí Vermelho apresentou 15,5% e Rubi, com 15,87%. É importante destacar que, em ambas as condições, maiores alterações nos teores de lipídios ocorreram a partir do quarto mês de armazenamento. No início do armazenamento as sementes apresentaram teores de lipídios em torno de 9,9% para Catuaí Vermelho e 11,1% para Rubi, e aos 6 meses de armazenamento (germinação em torno de zero) apresentaram teores de lipídios em torno de 15,5 % para as sementes de Catuaí Vermelho e 15,9% para as de Rubi.

Smith e Berjak (1995) comentam que durante o processo de envelhecimento das sementes ocorre aumento no teor de ácidos graxos livres, em virtude da atividade lipolítica. Contudo, Bewley e Black (1994) e Araújo (1994, 1995), afirmam que a degradação peroxidativa de lipídios resulta, entre outros, na destruição de ácidos graxos. Os ácidos graxos insaturados representam o substrato inicial do processo de autooxidação de lipídios (Harman e Mattick, 1976; Wilson Jr. e McDonald Jr., 1986; Bewley e Black, 1994; Araújo, 1994, 1995; Smith e Berjak, 1995). Assim, a redução desses ácidos graxos pode ser indicadora de que os lipídios dessas sementes estariam passando por processo de peroxidação, pois, ao relacionar os dados de teor de ácidos graxos com os de condutividade elétrica e com os de germinação, observa-se que a redução dos ácidos é paralela à queda da germinação e ao aumento da condutividade à medida que avança o processo de deterioração das sementes.

Também, Pearce e Abdel Samad (1980), Stewart e Bewley (1980) e Powell e Matthews (1981) constataram redução no teor de lipídios, paralela ao aumento da condutividade, e concluíram que tais resultados eram indicadores de peroxidação

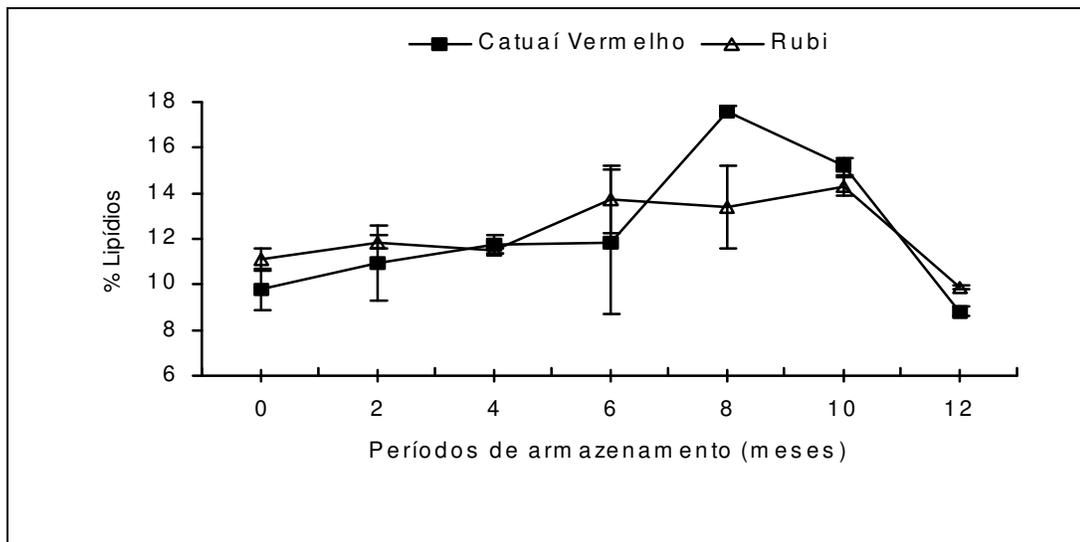


Figura 17 - Efeito do armazenamento em câmara fria na porcentagem de lipídios das sementes de duas cultivares de café (Média \pm Desvio Padrão).

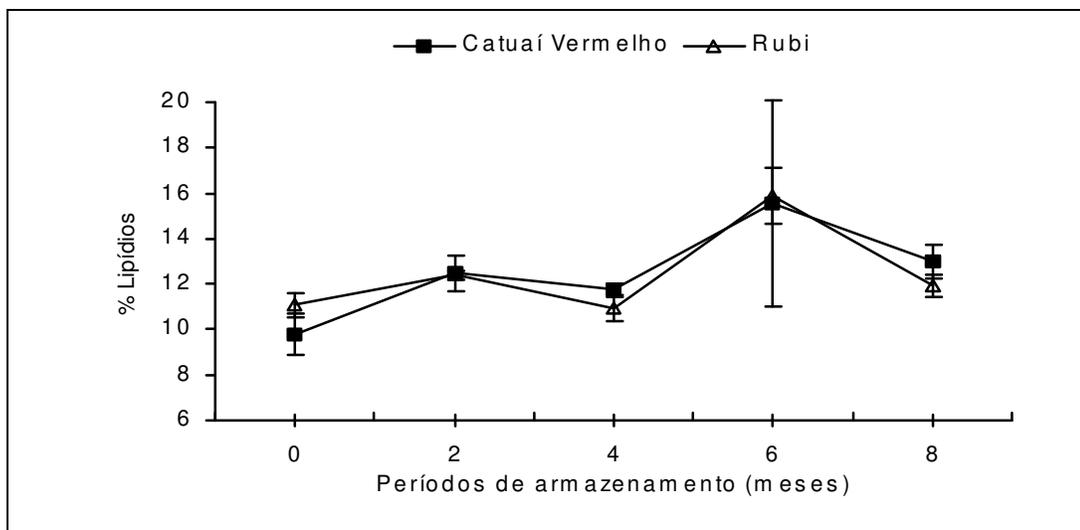


Figura 18 - Efeito do armazenamento em condição ambiente na porcentagem de lipídios das sementes de duas cultivares de café (Média \pm Desvio Padrão).

de lipídios nas sementes. Por sua vez, Freitas (2003) verificou decréscimos nos teores de lipídios com o aumento do tempo de armazenamento e de envelhecimento artificial das sementes de algodão.

Sementes de pepino armazenadas por cinco e dez anos apresentaram redução nos teores de lipídios (Koostra e Harrington, 1973). Paula et al. (1998) verificaram ligeiro aumento no teor de lipídios de sementes de seringueira

armazenadas a 5°C e 20°C por 90 dias, embora fosse esperado que ocorresse redução durante o processo de deterioração.

Segundo Agarwal e Sinclair (1996) muitos fungos presentes nas sementes podem induzir à mudanças bioquímicas nas mesmas, alterando o conteúdo de óleos e proteínas, entre outros. A porcentagem de óleo em sementes de canola decresceu e variou em função da espécie de fungo presente na semente (Ashraf e Basuchaudhary, 1986). Dhingra et al. (2001) observaram que sementes de soja infectadas por *Aspergillus ruber* tiveram maior acúmulo de ácidos graxos livres com o decréscimo da viabilidade durante o armazenamento, ressaltando que muitos estudos de envelhecimento natural e artificial em sementes têm sido feitos em condições que contribuem para o crescimento de fungos (temperaturas acima de 10°C e alta umidade). O aumento no teor de ácidos graxos livres em sementes induzido por fungos pode ser explicado porque estes possuem altas quantidades de enzimas lipases, as quais promovem a hidrólise dos lipídios (Agarwal e Sinclair, 1996).

Entretanto, segundo Vieira e Carvalho (1994), a correlação entre a peroxidação dos lipídios e a deterioração de sementes nem sempre tem sido verificada. Assim, para se entender melhor a peroxidação de lipídios é importante se estudar vários compostos provenientes da peroxidação como malonaldeído, aldeídos, ácidos graxos livres, hexanal, hidroperóxidos e também enzimas envolvidas como as lipoxigenases, para elucidar melhor o processo.

De acordo com Amorin e Silva (1968), compostos fenólicos presentes nas sementes de café, principalmente os ácidos clorogênicos e caféico, exercem uma ação protetora, antioxidante, dos aldeídos.

4.3.2. Açúcares solúveis

A análise de variância dos dados obtidos nas determinações de açúcares solúveis, realizadas após os diferentes períodos de envelhecimento artificial (Quadro 7), constatou efeitos não significativos para os fatores cultivar e períodos de envelhecimento artificial. Porém, a interação entre eles mostrou-se significativa.

Pela Figura 19, verifica-se que as sementes das duas cultivares de café apresentaram respostas diferenciadas, quanto ao conteúdo de açúcares solúveis em função dos períodos de envelhecimento artificial.

Quadro 7 - Resumo da análise de variância dos dados obtidos da determinação de açúcares solúveis das sementes de duas cultivares de café submetidas a diferentes períodos de envelhecimento artificial.

Fonte de Variação	G.L.	Teste F
Cultivar (C)	1	2,43
Resíduo (a)	6	
Período (P)	5	1,89
C x P	5	2,76*
P/C ₁	5	1,87
P/C ₂	5	3,10*
Resíduo (b)	30	
C.V. (a) (%)		14,12
C.V. (b) (%)		14,24
Média		395,03

* significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.
C₁ - Catuaí Vermelho; C₂ - Rubi.

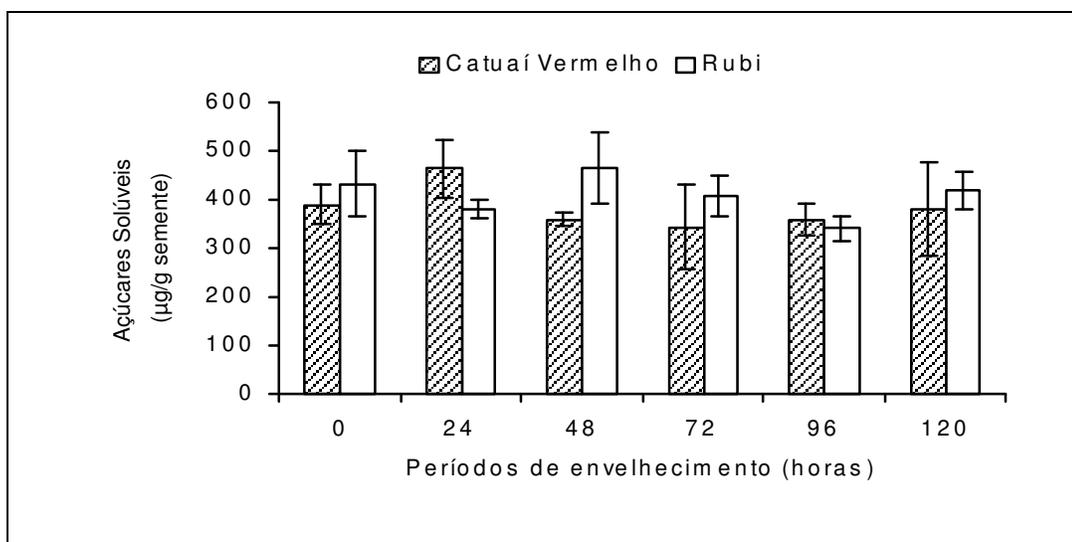


Figura 19 - Efeito do envelhecimento artificial nos teores de açúcares solúveis (µg/g semente) em sementes de duas cultivares de café (Média ± Desvio Padrão)

Verifica-se que as sementes de Catuaí Vermelho apresentaram entre zero e 24 horas aumento no teor de açúcares solúveis e, a partir deste período, ocorreu pequena redução. Quanto ao comportamento das sementes da cultivar

Rubi, o máximo teor de açúcares solúveis, em torno de 465,9 µg, ocorreu com 48 horas de envelhecimento artificial, observando-se uma tendência de redução nos teores a partir deste período, embora entre 96 e 120 horas tenha ocorrido um ligeiro aumento.

É importante destacar que, no tempo zero (sem deterioração), as sementes apresentavam teores de açúcares solúveis em torno de 389,4 µg/g de semente para Catuaí Vermelho e de 432,3 µg para Rubi. Entretanto, quando envelhecidas por 120 horas, observa-se que os teores de açúcares sofreram redução, atingindo valores em torno de 379,8 e 418,1 µg de açúcares solúveis/g semente, para as sementes de Catuaí Vermelho e Rubi, respectivamente.

De acordo com Mandhava Rao e Kalpana (1994), sementes de *Cajanus cajan* (L.) envelhecidas artificialmente por até oito dias, a 40°C e 100% de umidade relativa, apresentaram redução nos níveis de açúcares solúveis com o envelhecimento, mas não houve relação com a redução da viabilidade. Esses pesquisadores concluíram que embora tenha ocorrido declínio nos teores de açúcares solúveis durante o envelhecimento artificial das sementes, estes parecem não ter função significativa no processo de deterioração.

Alizaga (1990), trabalhando com sementes de feijão com 16% de umidade e envelhecidas artificialmente por até 24 dias, a 35°C, observou que houve redução nos teores de amido e aumentos nos teores de açúcares solúveis para sementes de feijão com baixo vigor. Estes mesmos pesquisadores verificaram que pode ter ocorrido conversão de amido em açúcares solúveis, para possível utilização no processo respiratório das sementes. Um outro aspecto importante, considerado por Abdul-Baki (1980), é que a maioria das sementes armazena maior conteúdo de reservas do que normalmente necessitam para germinar e produzir uma plântula. Nesse sentido, Edje e Burris (1970) concluíram que a redução no conteúdo de carboidratos em sementes de soja deterioradas foi relativamente pequena para ser considerada a principal causa de perda de vigor. Entretanto, Yaklich (1985) observou que sementes de soja com menor conteúdo de açúcares solúveis apresentaram menor vigor.

Estudos realizados por Basavarajappa et al. (1991) e Bernal-Lugo e Leopold (1992) também verificaram que há uma tendência de redução no conteúdo de açúcares solúveis com o aumento do período de envelhecimento artificial das sementes. Segundo estes pesquisadores uma possível explicação para tal efeito é que pode haver redução no conteúdo de carboidratos das

sementes durante o envelhecimento artificial. Essa redução pode ser devido à utilização na respiração. A queda de metabólitos essenciais, incluindo a perda de fontes de reserva, é um dos fatores mais importantes responsáveis pela perda da viabilidade das sementes (Roberts, 1972).

O Quadro 8 apresenta o resumo da análise de variância para a determinação de açúcares solúveis durante o armazenamento das sementes. Verifica-se que houve efeito significativo apenas para o fator condição de armazenamento e para as interações duplas entre cultivares e período de armazenamento.

Analisando as Figuras 20 e 21, observa-se que houve alterações nos teores de açúcares solúveis durante o armazenamento em condição de câmara fria e ambiente. No armazenamento em câmara fria (Figura 20), no tempo zero, os teores de açúcares solúveis foram bem semelhantes para as sementes de Rubi (434,3 µg/g semente) e Catuaí Vermelho (409,8 µg/g semente).

Porém, no final do armazenamento (12 meses), as sementes de Rubi apresentaram teores de açúcares solúveis em torno de 497,5 µg/g semente e Catuaí Vermelho com 381,4 µg/g semente. Nota-se que as sementes de Rubi tiveram um pequeno aumento no teor de açúcares solúveis aos dois meses e a partir do oitavo mês, sendo que os valores observados aos quatro e seis meses foram semelhantes. Entretanto, as sementes de Catuaí Vermelho apresentaram aumentos nos teores de açúcares solúveis entre quatro e seis meses, com pequena redução no segundo e oitavo mês; porém, não houve alteração a partir do 10º mês.

Quanto ao armazenamento das sementes em condição de ambiente (Figura 21), verifica-se, para as sementes de Rubi, um pequeno acréscimo no teor de açúcares solúveis aos dois meses, entretanto, não houve variação a partir do quarto mês. Em geral, verifica-se que o valor obtido ao final do armazenamento (6º mês - germinação próximo a zero) foi bastante similar ao do início do armazenamento (mês zero). Para as sementes de Catuaí Vermelho, houve aumento nos teores de açúcares solúveis a partir do segundo mês, de 51,24 µg/g semente, porém, nos demais períodos não houve alterações. Quando se comparam os teores obtidos no início do armazenamento (390,4 µg/g semente) com aqueles verificados no 6º mês (379,6 µg/g semente) constata-se um ligeiro decréscimo nos açúcares solúveis com o decorrer do tempo de armazenamento (10,8 µg/g semente). É importante destacar que aos seis meses as sementes

Quadro 8 - Resumo da análise de variância dos dados obtidos da determinação de açúcares solúveis das sementes de duas cultivares de café submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Fonte de Variação	G.L.	Teste F
Cultivar (C)	1	1,27
Condição (A)	1	8,28*
C x A	1	6,82*
A/C ₁	1	0,10
A/C ₂	1	22,18**
Resíduo (a)	12	
Período (P)	6	1,03
C x P	6	6,69**
P/C ₁	6	1,87
P/C ₂	6	4,41
A x P	4	0,70
C x A x P	4	5,75**
Resíduo (b)	60	
C.V. (%) (a)		10,56
C.V. (%) (b)		8,27
Média		406,64

** e * significativo a 1% e 5% de probabilidade, pelo teste F.
C₁ - Catuaí Vermelho; C₂ - Rubi.

apresentavam germinação em torno de zero. Observa-se, portanto, que as alterações nos conteúdos de açúcares solúveis não refletiram o avanço da deterioração, provocado pelo envelhecimento natural e artificial das sementes, já que os testes de germinação e vigor mostraram redução acentuada na qualidade fisiológica com o envelhecimento das sementes, especialmente durante o armazenamento em condições ambiente.

Segundo Mandhava Rao e Kalpana (1994), maiores teores de açúcares solúveis indicam a probabilidade de maiores danos e, portanto, mais rápida deterioração das sementes. Verifica-se, para as sementes da cultivar Catuaí Vermelho armazenadas em condição ambiente, a partir do 4º mês, aumentos nos teores de açúcares solúveis. Nos testes de vigor (Figuras 5, 13 e 15), observa-se queda na qualidade fisiológica, a partir deste período.

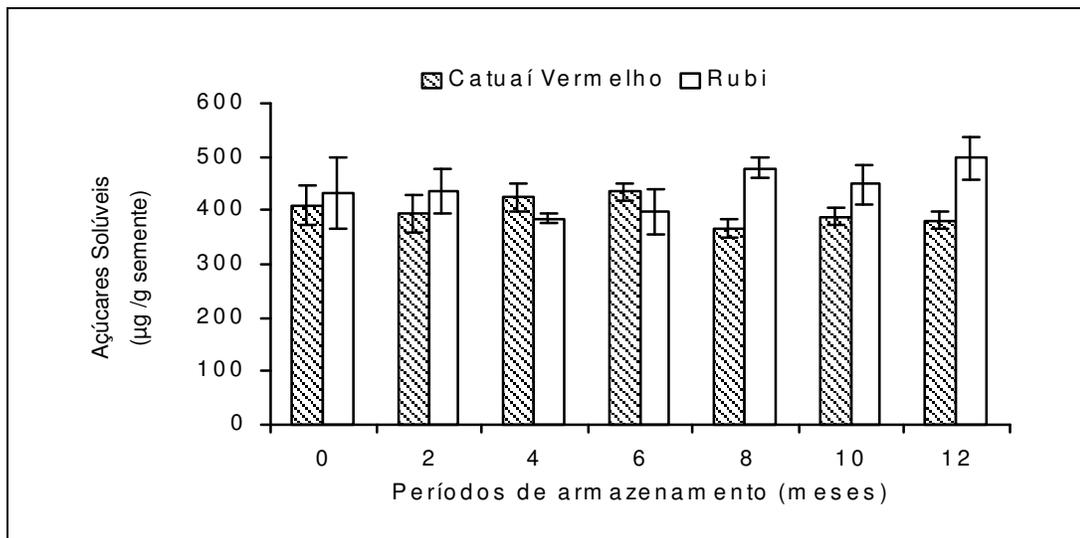


Figura 20 - Efeito do armazenamento em câmara fria nos teores de açúcares solúveis (μg açúcares solúveis/g semente) em sementes de duas cultivares de café (Média \pm Desvio Padrão).

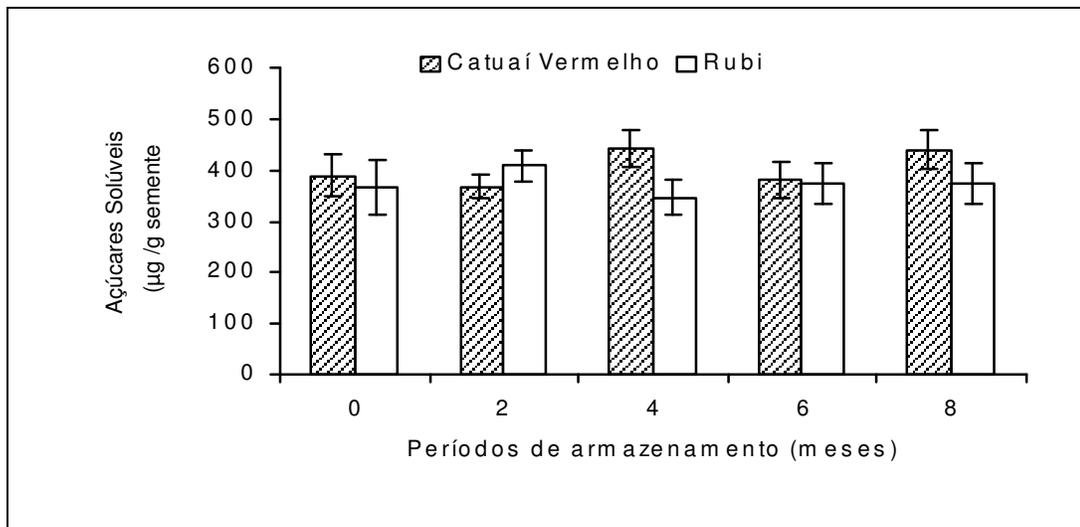


Figura 21 - Efeito do armazenamento em condição ambiente nos teores de açúcares solúveis ($\mu\text{g/g}$ de semente) em sementes de duas cultivares de café (Média \pm Desvio Padrão).

Durante a secagem das sementes de café ocorre elevação na concentração de açúcares redutores os quais podem sofrer degradação durante o armazenamento (Bucheli et al., 1998). A deterioração das sementes durante o armazenamento é um fenômeno complexo envolvendo várias mudanças em muitos componentes das sementes. A redução de metabólitos essenciais,

incluindo a perda de produtos de reserva, é um dos fatores mais importantes responsáveis pela perda na viabilidade das sementes (Roberts, 1972).

4.3.3. Taxa respiratória das sementes

A análise de variância da determinação da taxa respiratória das sementes de café Catuaí Vermelho e Rubi, envelhecidas artificialmente (Quadro 9), revelou efeitos significativos dos fatores cultivar, presença/ausência do endocarpo e período de envelhecimento artificial, bem como para as interações entre eles.

Quadro 9 - Resumo da análise de variância dos dados obtidos da determinação da taxa respiratória das sementes de duas cultivares de café submetidas a diferentes períodos de envelhecimento artificial.

Fonte de Variação.	G.L.	Teste F
Cultivar (C)	1	7,90*
Endocarpo (E)	1	56,71**
C x E	1	5,37*
E/C ₁	1	0,94
E/C ₂	1	2,25
Resíduo (a)	12	
Período (P)	5	239,93**
C x P	5	3,29*
P/C ₁	5	8,07**
P/C ₂	5	4,77**
E x P	5	300,61**
P/E ₁	5	105,84**
P/E ₂	5	183,84**
C x E x P	5	8,06**
Resíduo (b)	60	
C.V. (a) (%)		12,43
C.V. (b) (%)		9,48
Média		6,52

** e * significativo a 1% e 5% de probabilidade, pelo teste F.

A₁ - Câmara fria; A₂ - Ambiente.

C₁ - Catuaí Vermelho; C₂ - Rubi.

E₁ - Endocarpo ausente; E₂ - Endocarpo presente.

Pela Figura 22, verifica-se que a taxa respiratória das sementes de café foi influenciada pela presença e ausência do endocarpo, durante o envelhecimento artificial. É importante destacar que as menores taxas respiratórias foram encontradas no tempo zero (sementes não envelhecidas), independente da presença ou não do endocarpo nas sementes. No tempo zero, as sementes apresentaram umidade em torno de 12%.

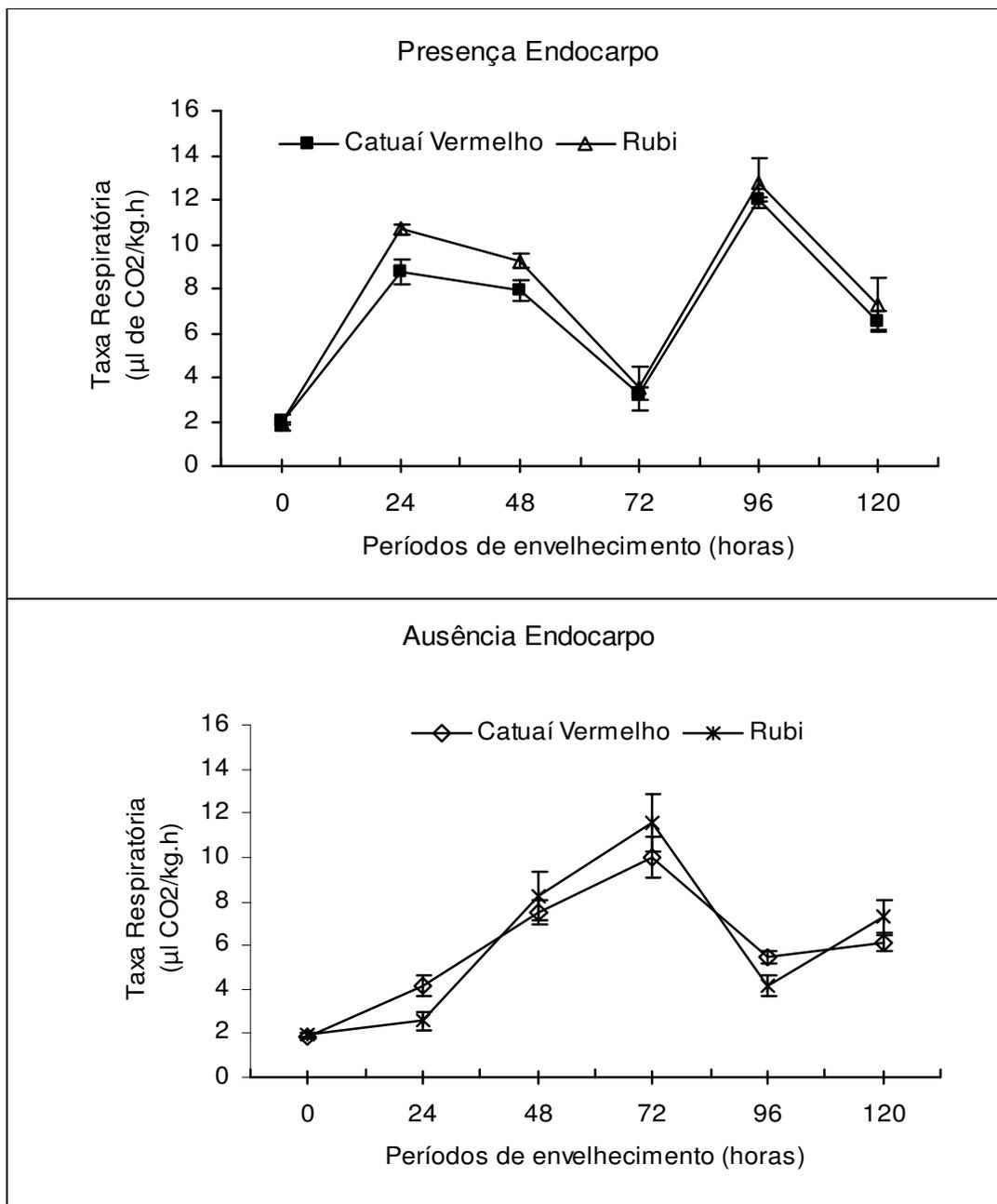


Figura 22 - Efeito do envelhecimento artificial na taxa respiratória ($\mu\text{l CO}_2/\text{kg}\cdot\text{h}$) das sementes de duas cultivares de café, com e sem endocarpo (Média \pm Desvio Padrão).

Verifica-se que as sementes de Catuaí Vermelho e Rubi com endocarpo tiveram aumento na taxa respiratória entre zero e 24 horas de envelhecimento artificial, ocorrendo redução entre 24 e 72 horas, com um novo aumento de 72 a 96 horas, declinando em seguida. Porém, em sementes de café sem o endocarpo, houve aumento da taxa respiratória entre os períodos de zero a 72 horas de envelhecimento artificial quando a taxa respiratória foi mais elevada, em torno de 10 a 11,5 $\mu\text{l CO}_2/\text{kg.h}$, diminuindo a seguir. De 96 a 120 horas de envelhecimento, houve um pequeno aumento na taxa respiratória. Conforme Quadro 1, observa-se que a umidade das sementes variaram de 17% (24 horas) a 26% (96 horas).

O aumento da taxa respiratória durante o envelhecimento artificial pode ser atribuído à elevação no teor de umidade das sementes, já que estas são submetidas à alta temperatura e alta umidade relativa. Por outro lado, a ocorrência de redução na taxa respiratória pode ser devido à desativação de enzimas ou danos ao nível de membrana devido à temperatura elevada e ao período prolongado de exposição. Segundo De Viseer et al. (1990), a respiração das sementes pode variar a intensidade dependendo da umidade, temperatura e presença de oxigênio. À temperatura de 10°C a respiração é insignificante; entre 20 e 30°C já é apreciável e, acima deste limite, muito intensa. Porém, acima de 40°C a respiração passa a ser limitada em razão da inativação de enzimas, exaustão do substrato, limitação no suprimento de oxigênio ou acúmulo de concentrações inibitórias de dióxido de carbono.

A presença do endocarpo pode dificultar a difusão de gases como o dióxido de carbono e o oxigênio, interferindo nos resultados da taxa respiratória das sementes de café. De acordo com Stewart et al. (1990), os conteúdos de oxigênio e dióxido de carbono na atmosfera que envolve as sementes influenciam na velocidade da respiração.

A respiração depende de enzimas que agem como catalizadores do processo, necessitando de umidade e temperatura para atuarem. De acordo com Athié et al. (1998), a umidade é o fator que mais influencia a taxa respiratória das sementes. Segundo Lambers et al. (1991), a respiração das sementes aumenta consideravelmente com o aumento da umidade. Sementes com até 11% de umidade respiram muito pouco, já para sementes com umidade acima de 13% ou quando a umidade relativa do ar é superior a 75%, a respiração das sementes é mais intensa. Durante o envelhecimento artificial das sementes de café, observa-

seque o teor de água variou em torno de 12% (tempo zero) a 31% (final do envelhecimento) (Quadro 1). Assim, altos teores de umidade provocam respiração mais ativa e, como consequência, há redução do vigor.

O Quadro 10 apresenta o resumo da análise de variância dos dados obtidos nas determinações da taxa respiratória das sementes das cultivares Catuaí Vermelho e Rubi, realizadas após os diferentes períodos de armazenamento das sementes. Verifica-se a existência de efeitos significativos dos fatores cultivar, presença/ausência de endocarpo, condição e período de armazenamento, conforme também observado no envelhecimento artificial. Porém, observam-se efeitos altamente significativos apenas para as interações entre endocarpo x período de armazenamento e entre condição x período de armazenamento.

Observando a Figura 23, verifica-se que houve alteração na taxa respiratória das sementes de café com e sem endocarpo, armazenadas em câmara fria, à medida que se avançou o processo de deterioração. Observa-se, para ambas as cultivares, que as sementes com e sem endocarpo apresentaram comportamento semelhante. Nota-se que em sementes com o endocarpo, a taxa respiratória manteve-se praticamente estável entre zero e quatro meses de armazenamento em câmara fria, porém, do 6º ao 8º mês houve redução, atingindo níveis mais baixos ao 8º mês, 0,399 $\mu\text{l CO}_2/\text{kg.h}$ para Catuaí Vermelho e 0,309 $\mu\text{l CO}_2/\text{kg.h}$ para Rubi, valor este que foi praticamente mantido até o 12º mês.

Quanto às sementes sem endocarpo, em ambas as cultivares, observa-se que entre zero e dois meses de armazenamento não houve alteração na taxa respiratória, ocorrendo um incremento do 2º ao 4º mês, constatando-se, a partir daí, redução expressiva na taxa de respiração, sendo que a taxa mínima foi verificada no 8º mês, 0,325 $\mu\text{l CO}_2/\text{kg.h}$ para as sementes de Catuaí Vermelho e 0,356 $\mu\text{l CO}_2/\text{kg.h}$ para as de Rubi, mantendo-se próximo a este valor até o final do armazenamento. Verifica-se que as maiores taxas respiratórias em sementes com endocarpo ocorreram aos dois meses, enquanto naquelas sem endocarpo, maiores valores ocorreram aos quatro meses de armazenamento em câmara fria, com a máxima taxa respiratória de 2,461 $\mu\text{l CO}_2/\text{kg.h}$ para as sementes de Catuaí Vermelho e 3,006 $\mu\text{l CO}_2/\text{kg.h}$ para as sementes de Rubi, no 4º mês.

Aumentos na taxa respiratória podem estar associados com oxidação de substratos, reservas comuns de degradação pela mitocôndria. Por outro lado, a

Quadro 10 - Resumo da análise de variância dos dados obtidos da determinação da taxa respiratória das sementes de duas cultivares de café submetidas a diferentes condições e períodos de armazenamento.

Fonte de Variação	G.L.	Teste F	
Cultivar (C)	1	5,69*	
Condição (A)	1	6,17*	
Endocarpo (E)	1	10,80**	
C x E	1	0,67	
C x A	1	4,16	
A x E	1	0,72	
Resíduo (a)	25		
Período (P)	6	132,20**	
C x P	6	1,71	
E x P	6	8,03**	
	P/E ₁	6	81,32**
	P/E ₂	6	41,12**
A x P	3	11,63**	
	P/A ₁	3	151,93**
	P/A ₂	3	40,65**
Resíduo (b)	123		
C.V. (%) (a)		22,61	
C.V. (%) (b)		24,73	
Média		1,52	

** e * significativo a 1% e 5% de probabilidade, pelo teste F.

A₁ - Câmara fria; A₂ - Ambiente.

E₁ - Endocarpo ausente; E₂ - Endocarpo presente.

De acordo com Woodstock e Grabe (1967) e Abdul-Baki (1980), danos nas mitocôndrias que são verificados em sementes de baixo vigor podem causar redução na taxa respiratória aeróbica. Por isso tem-se observado nestas sementes maior produção de etanol e acetaldeído, em virtude da maior taxa de respiração anaeróbica quando comparadas às sementes mais vigorosas (Woodstock e Taylorson, 1981; Pesis e Ng, 1984).

Analisando a Figura 24, observa-se a taxa respiratória das sementes armazenadas em condição ambiente. Nota-se que há diferenças em relação ao

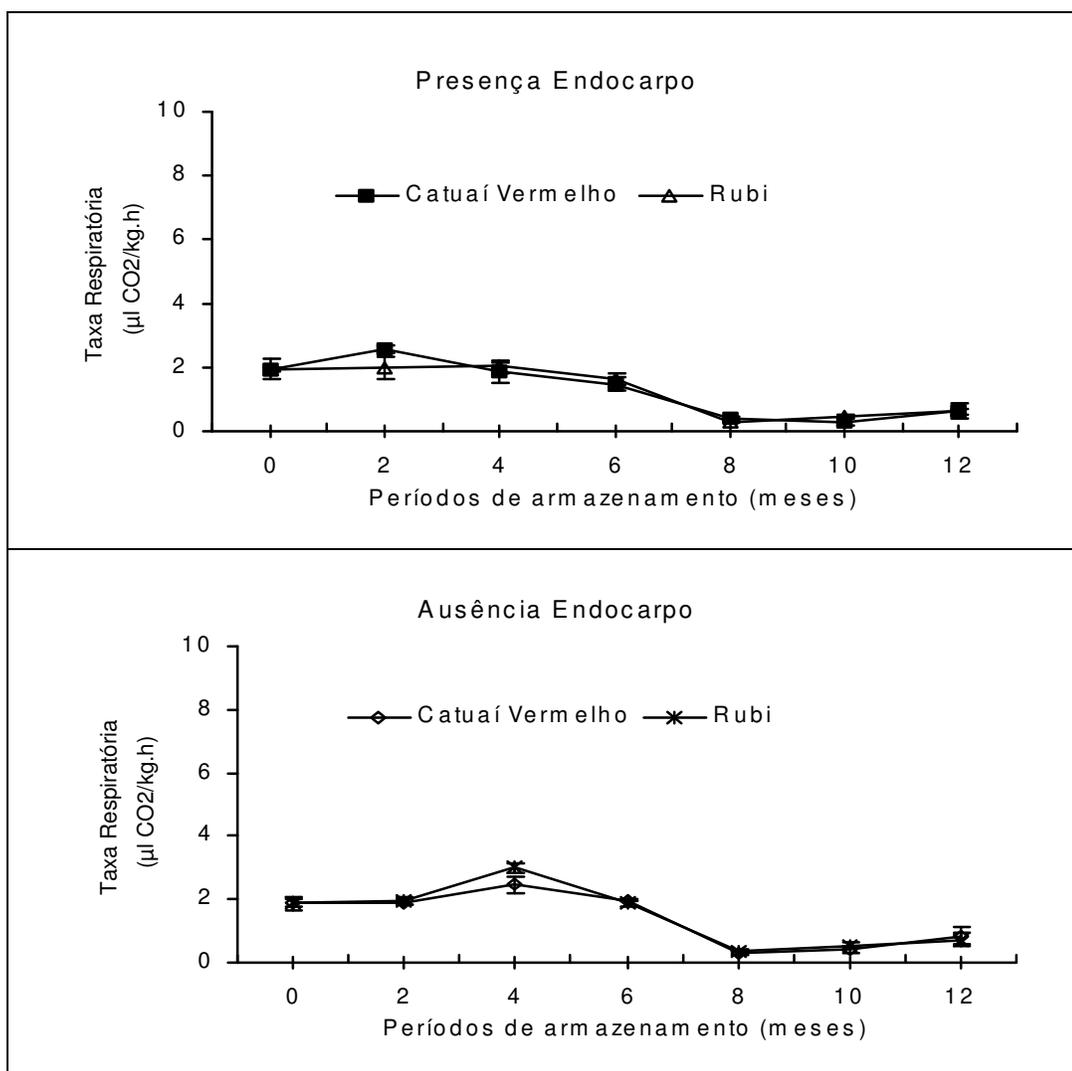


Figura 23 - Efeito do armazenamento em câmara fria na taxa respiratória ($\mu\text{l CO}_2/\text{kg.h}$) das sementes de duas cultivares de café, com e sem endocarpo (Média \pm Desvio Padrão).

armazenamento em câmara fria (Figura 23), observando-se maiores taxas respiratórias em condição ambiente de armazenamento. Observa-se que em condição ambiente as sementes tiveram o processo de deterioração acelerado e houve também ocorrência de maiores taxas respiratórias, porém, em condição de câmara fria nota-se que o processo de deterioração foi retardado e ocorreram menores taxas respiratórias.

Verifica-se que houve alteração das taxas respiratórias em função da presença do endocarpo nas sementes de ambas as cultivares de café. Para as sementes com endocarpo, nota-se que entre zero e dois meses de armazenamento houve decréscimos na taxa respiratória das sementes de Catuaí

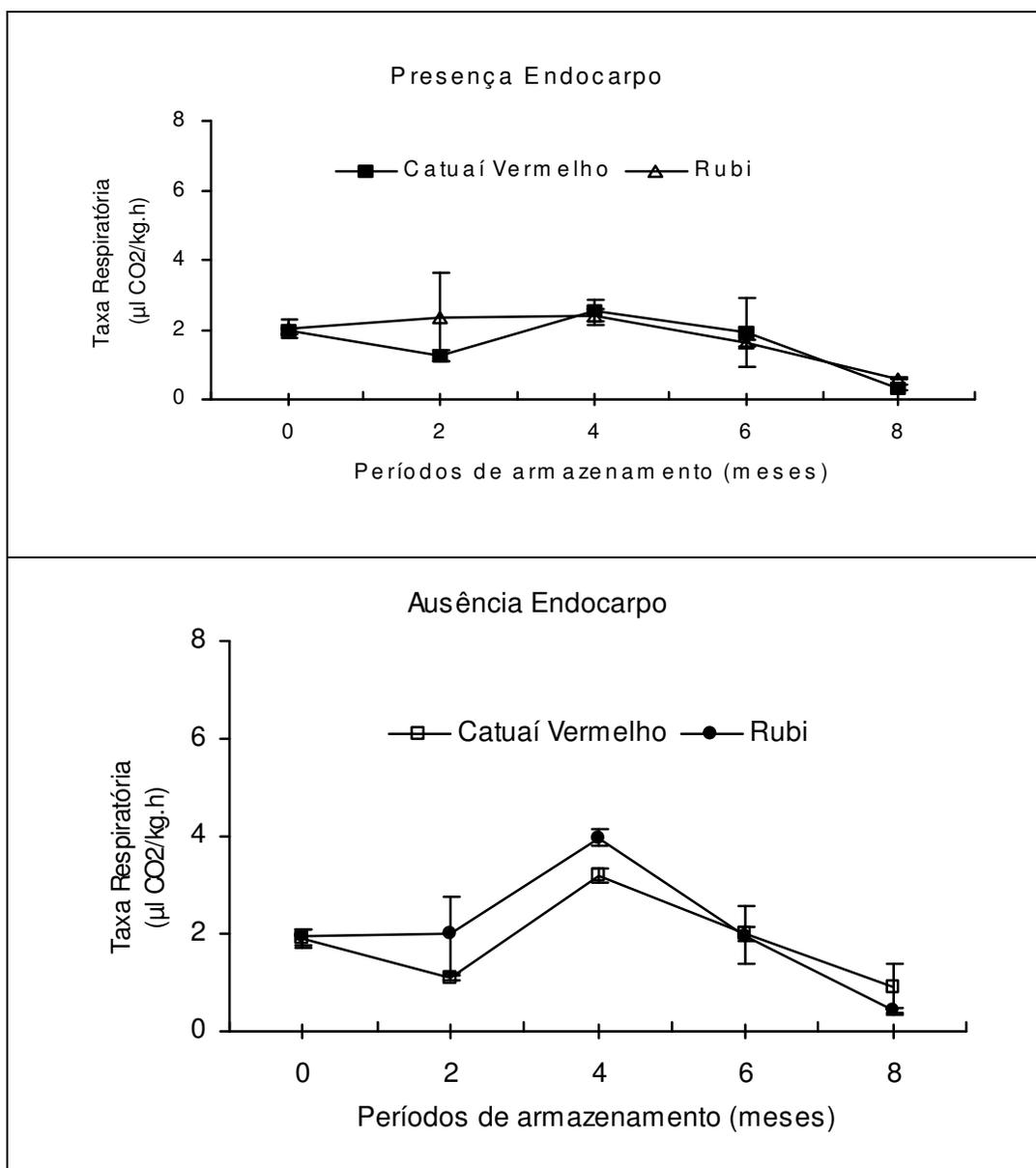


Figura 24 - Efeito do armazenamento em ambiente na taxa respiratória ($\mu\text{l CO}_2/\text{kg.h}$) das sementes de duas cultivares de café, com e sem endocarpo (Média \pm Desvio Padrão).

Vermelho aumentando em seguida até o 4^o mês e a partir daí, redução até o 8^o mês. Já para as sementes de Rubi (com endocarpo), verifica-se que entre zero e quatro meses houve ligeiro aumento na taxa respiratória, declinando em seguida. Entretanto, para ambas as cultivares armazenadas em ambiente, independente da presença ou não de endocarpo, a partir do 4^o mês de armazenamento houve redução na taxa respiratória para as sementes sem endocarpo, em ambas as cultivares.

Reduções mais expressivas na germinação e vigor ocorreram a partir do 4º mês quando a taxa respiratória das sementes também declinou significativamente, principalmente nas sementes sem endocarpo. Em condição ambiente, aos quatro meses as sementes apresentaram germinação em torno de 43% para Rubi e 36% para Catuaí Vermelho. A taxa respiratória máxima em sementes sem endocarpo ocorreu no 4º mês de armazenamento, atingindo 3,180 $\mu\text{l CO}_2/\text{kg.h}$ para Catuaí Vermelho e 3,957 para Rubi e a mínima no 8º mês, com 0,898 $\mu\text{l CO}_2/\text{kg.h}$ para Catuaí Vermelho e 0,407 $\mu\text{l CO}_2/\text{kg.h}$ para as sementes de Rubi. Para as sementes com endocarpo a taxa respiratória máxima foi de 2,55 $\mu\text{l CO}_2/\text{kg.h}$ para Catuaí Vermelho e 2,365 $\mu\text{l CO}_2/\text{kg.h}$ para Rubi e a mínima foi em torno de 0,306 $\mu\text{l CO}_2/\text{kg.h}$ no 10º mês para Catuaí Vermelho e 0,309 $\mu\text{l CO}_2/\text{kg.h}$ para Rubi no 8º mês. É importante destacar que para a germinação das sementes em condição ambiente, a partir do 4º mês houve maiores decréscimos e no 6º mês a germinação foi nula.

Portanto, os resultados obtidos indicam que a taxa respiratória pode ser considerada como uma característica importante para o fator monitoramento da deterioração das sementes. Segundo Bettey e Finch-Savage (1996), em sementes de baixo vigor ocorrem menores taxas respiratórias, devido à disponibilidade reduzida de substrato respiratório. Ao contrário, Kacser e Porteous (1987) acreditam que o fator limitante na respiração em sementes de baixo vigor seja a limitação na atividade enzimática e não limitação de substrato.

A respiração das sementes pode ser limitada por características intrínsecas à semente como a presença de determinadas estruturas como o endocarpo. A presença deste pode limitar a difusão de gases como oxigênio e dióxido de carbono, dificultando ou retardando a respiração. Edwards (1969) observou que o tegumento das sementes de abóbora pode inibir a troca de gases pela semente. Em contrapartida, Pesis e Ng (1986) verificaram que a remoção do tegumento de sementes de melão afetou a atividade respiratória, sendo que nas sementes intactas (com tegumento) a liberação de CO_2 foi relativamente mais alta, ou seja, a respiração foi maior que em sementes sem tegumento, onde houve aumento na absorção de O_2 resultando em quociente respiratório mais baixo. No presente trabalho, maiores taxas respiratórias foram observadas em sementes sem endocarpo.

Existem algumas controvérsias se o envelhecimento artificial produz exatamente as mesmas mudanças fisiológicas e bioquímicas do envelhecimento

natural. Gardía et al. (1995) observaram que o tratamento de envelhecimento artificial pode não causar danos às mitocôndrias pré-existentes nas sementes, podendo afetar provavelmente o desenvolvimento de novas mitocôndrias, afetando assim a taxa respiratória das sementes. Entretanto, ambos tipos de envelhecimento têm o mesmo efeito na síntese de DNA e na atividade da DNA polimerase (Gutiérrez et al., 1993), mas tem efeitos opostos na atividade de peroxidase em sementes de feijão mungo (Vimala, 1984).

A diminuição da capacidade respiratória tem sido demonstrada como sendo uma consequência de danos às membranas mitocondriais, sendo a membrana da mitocôndria a mais suscetível à peroxidação dos lipídios. Desta forma, além de apresentar um efeito acentuado na permeabilidade das membranas, a peroxidação dos lipídios irá afetar a atividade respiratória das células, por quebrar o gradiente protônico necessário para manter o acoplamento respiratório (Wilson Jr. e McDonald Jr., 1986). Pelos resultados do teste de condutividade elétrica (Figura 12 e 13) houve aumento na lixiviação de íons com o avanço da deterioração das sementes, devido a perda de integridade do sistema de membranas. Esta lixiviação de íons pode afetar a taxa respiratória das sementes, pois estes íons podem atuar como cofatores de enzimas importantes da rota respiratória.

Segundo Braccini et al. (2001), durante a deterioração há aumento da atividade respiratória no início da deterioração, ocorrendo, redução na respiração com o decorrer do armazenamento. Nota-se que no presente trabalho altas taxas respiratórias aconteceram próximas aos quatro meses de armazenamento, coincidindo com a perda do poder germinativo e do vigor das sementes próxima aos quatro meses.

Pimenta et al. (2000), avaliando o peso, a acidez, os sólidos solúveis, os açúcares e os compostos fenólicos de cafés colhidos em diferentes estádios de maturação, levantaram a hipótese de que os polissacarídeos presentes nos grãos de café, advindos da degradação do amido, podem ser metabolizados e produzir CO₂. Esses autores sugeriram que tal fato levou à perda de peso no armazenamento e de qualidade das sementes.

Abdul-Baki e Anderson (1970) afirmaram que a falta de correlação entre metabolismo de glicose e deterioração pode ser explicada pela descoberta de que mudanças no endosperma foram diferentes e independentes das alterações verificadas no embrião.

De acordo com Anderson e Abdul-Baki (1971), a produção de CO₂ a partir da glicose pelo endosperma decresce rapidamente antes do processo de deterioração ser detectado pelos testes de germinação e vigor. Em contrapartida, a produção de CO₂ pelo embrião, a partir da glicose, aumenta com a deterioração. Há similaridade entre o padrão de evolução da produção de CO₂ a partir da glicose quando se utilizam sementes inteiras e apenas o endosperma, sugerindo que o endosperma é o maior responsável, dominando o padrão metabólico das sementes. Assim, a taxa de metabolismo de carboidratos apresentada pelo endosperma não necessariamente indica a atividade metabólica do embrião.

Então, embrião e endosperma não são afetados na mesma intensidade pelo processo de deterioração, podendo haver inconsistências nos resultados de determinações bioquímicas quando se utilizam sementes inteiras em relação a estudos em que se considera apenas o embrião. Os resultados podem variar conforme a estrutura da semente que é usada, com o processo metabólico e com a condição utilizada para promover a deterioração.

5. CONCLUSÕES

Tanto o envelhecimento natural como o artificial acarretaram decréscimos na germinação e no vigor das sementes.

Os envelhecimentos natural e artificial promoveram alterações na taxa respiratória, nos teores de açúcares solúveis e de lípidos das sementes de café.

Não se verificou associação entre deterioração das sementes de café e alterações nos teores de açúcares solúveis e de lípidos.

As sementes de café armazenadas em condição ambiente perderam a viabilidade aos seis meses, enquanto em câmara fria ocorreu retardamento no processo de deterioração, conservando a germinação em torno de 70% aos 12 meses.

A primeira contagem do teste de germinação, a condutividade elétrica e a classificação do vigor das plântulas foram mais sensíveis que as determinações bioquímicas para monitorar o processo de deterioração das sementes de café.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdul-Baki, A.A. Biochemical aspects of seed vigor. **Hortscience**, Alexandria, v.15, p.765-771, 1980.
- Abdul-Baki, A.A., Anderson, J.D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In: KOZLOWSKI, T.T.(ed.). **Seed biology**. New York: Academic Press, 1972. v.2, p.283-315.
- Abdul-Baki, A.A., Anderson, J.D. Viability and leaching of sugars from germinating barley. **Crop Science**, Madison, v.10, p.31-34, 1970.
- Acuña, R., Bassüner, R., Beilinson, V., Cotina, H., Cadena-Gómez, G., Montes, V., Nielsen, N.C. Coffee seeds contain 11S storage proteins. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.105, p.122-131, 1999.
- Agarwal, V.K., Sinclair, J.B. **Principles of seed pathology**. (2.ed.). CRC Press, Inc. Florida. 1996. 632p.
- Alizaga, R. Alteraciones fisiológicas y bioquímicas en semillas de tres cultivares de *Phaseolus vulgaris* de alto y bajo vigor inducido. **Agronomía Costarricense**, Costa Rica, v.14, n.2, p.161-168, 1990.
- Amorin, H.V., Silva, O.M. Relationship between the polyfenoloxidase activity of coffee beans and quality of the beverage. **Nature**, New York, n.219, p.381-382, 1968.
- Anderson, J.D. Metabolic changes associated with senescence. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.1, p.401-416, 1973.
- Anderson, J.D., Abdul-Baki, A.A. Glucose metabolism of embryos and endosperms from deteriorating barley and wheat seeds. **Plant Physiology**, Washington, v.48, p.270-272, 1971.
- Araújo, J.M.A. **Oxidação de lípidios**. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1994. 22p.

- Araújo, J.M.A. **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1995. 335p.
- Araújo, R. F. **Influência do teor de umidade, da embalagem e do ambiente de armazenamento na conservação de sementes de café (*Coffea arabica* L.)**. Viçosa, MG, 1988. 56p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
- Arêdes, E.M. **Avaliação das perdas de matéria seca e de qualidade do café (*Coffea arabica* L.) beneficiado e armazenado em importantes municípios produtores da Zona da Mata Mineira e em Alegre - ES**. Viçosa, MG, 2002. 39p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
- Ashraf, S.S., Basuchaudhary, K.C. Effect of seedborne *Fusarium* species on the physico-chemical properties of repeseed oil. **Journal of Phytopathology**, Oxford, v.117, p.107, 1986.
- Athié, I., Castro, M.F.P.M. de, Gomes, R.A.R., Valentini, S.R.T. **Conservação de grãos**. Fundação Cargill: Campinas, 1998. 236p.
- Aung, U.T., McDonald, M.B. Changes in esterase activity associated with peanut (*Arachis hipogaea* L.) seed deterioration. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.23, p.101-111, 1995.
- Bacchi, O. Estudo sobre a conservação de sementes de café. **Bragantia**, Campinas, v.17, n.20, p.261-270, 1958.
- Bade, H., Stegemann, H. Protein patterns of coffee beans. Characterization by one- and two-dimensional electrophoresis. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Oxford, v.51, p.89-98, 1982.
- Bailly, C., Benamar, A., Corbineau, F., Côme, D. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.97, p.104-110, 1996.
- Basavarajappa, B.S., Shetty, H.S., Prakash, H.S. Membrane deterioration and other biochemical changes associated with accelerated ageing of maize seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.19, n.2, p.279-286, 1991.
- Basra, S.M.A., Ahmad, N., Khan, M.M., Iqbal, N., Cheema, M.A. Assessment of cottonseed deterioration during accelerated ageing. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.31, p.531-540, 2003.
- Baú, S.M.T., Mazzafera, P., Santoro, L.G. Seed storage proteins in coffee. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 13, n.1, p.33-40, 2001.
- Begnami, C.N., Cortelazzo, A.L. Cellular alterations during accelerated aging of French bean seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.24, p.295-303, 1996.

- Bernal-Lugo, I., Leopold, A.C. Changes in soluble carbohydrates during seed storage. **Plant Physiology**, Washington, v.98, p.1207-1210, 1992.
- Betty, M., Finch-Savage, W.E. Respiratory enzyme activities during germination in Brassica seed lots of differing vigour. **Seed Science Research**, Warwick, v.6, p.165-173, 1996.
- Bewley, J.D., Black, M. **Physiology and biochemistry of seed in relation to germination**. v.1, Berlin, Springer--Verlag, 1978. 306p.
- Bewley, J.D., Black, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2. ed., New York: Plenum Press, 1994. 445p.
- Bingham, C.D., Harris, A., McDonald, L. A comparative study of radicle and coleoptile extension in maize seedlings from age and unaged seed. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.22, p.127-139, 1994.
- Blackman, S.A., Obendorf, R.L., Leopold, A.C. Maturation proteins and sugars in desiccation tolerance of developing seeds. **Plant Physiology**, Rockville, v.100, n.1, p.225-230, 1992.
- Braccini, A.L., Braccini, M.C.L., Scapim, C.A. Mecanismos de deterioração das sementes: aspectos bioquímicos e fisiológicos. **Informativo ABRATES**, v.11, n.1, p.10-15, 2001.
- Braham, J.E., Bressani, R. **Pulpa de café: Composición, tecnología y utilización**. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, Guatemala, 1978. 152p.
- Brandão Júnior, D. da S. **Eletroforese de proteína e isoenzima na avaliação da qualidade de sementes de milho**. Lavras, MG, 1996. 110p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras.
- Brasil. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.
- Bruni, F., Leopold, A.C. Cytoplasmic glass formation in maize embryos. **Seed Science Research**, Warwick, v.2, p.251-253, 1992.
- Bucheli, P., Meyer, I., Pittet, A., Vuataz, G., Viani, R. Industrial storage of green Robusta coffee under tropical conditions and its impact on raw material quality and ochratoxin A content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.46, n.11, p.4507-4511, 1998.
- Carelli, M.C.L., Monaco, L.C. Conservação de sementes de café racemosa. **Bragantia**, Campinas, v.36, n.20, p.31-34, 1977.
- Carpenter, J.F., Crowe, L.M., Crowe, J.H. Stabilization of phosphofructokinase with sugars during freeze-drying. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v.923, p.109-115, 1987.

- Carvalho, A., Monteiro Salles, F.J. A influência do tamanho da semente de café na germinação e crescimento das mudas. **Boletim da Superintendência dos Serviços do Café**, São Paulo, v.32, n.370, p.11-20, 1957.
- Carvalho, V.D.de., Chalfoun, S.M., Chagas, S.J. de. R. Relação entre classificação do café pela bebida e composição físico-química, química e microflora do grão beneficiado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 15, Maringá, 1989. **Resumos...**Rio de Janeiro:MIC/IBC, 1989. p.25-26.
- Chen, Y., Burris, J.S. Role of carbohydrates in desiccation tolerance and membrane behavior in maturing maize seed. **Crop Science**, Madison, v.30, n.4, p.971-975, 1990.
- Ching, T.M. Biochemical aspects of seed vigor. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.1, p.73-88, 1973.
- Comissão Estadual de Sementes e Mudanças de Minas Gerais. **Normas, Padrões e Procedimentos para a Produção de Sementes Básicas, Certificadas e Fiscalizadas**. Site: <http://www.ima.mg.gov.br> Acessado em Janeiro de 2004.
- Conn, E.C., Stumpf, P.K. **Introdução à bioquímica**. São Paulo:Edgard Bliicher, 1980. 451p.
- Coolbear, P. Mechanisms of seed deterioration. In: BASKA, A.S. (ed.). **Seed quality: basic mecanismos and agricultural implications**. New York: Food Products Press, 1995. p.223-277.
- Copeland, L.O., McDonald JR., M.B. **Principles of seed science and technology**. New York: McMillan, 1985. 321p.
- Costé, R. **El café**. Barcelona: Blume, 1969. 265p.
- Coughlan, S.J., Heber, U. The role of glycinebetaine in the protection of spinach thylakoids against freezing stress. **Planta**, Berlin, v.156, p.62-69, 1982.
- Couturon, E. Mantenimiento de la viabilidad de las semillas de cafetos por el control de su contenido en agua y de la temperatura de almacenamiento. **Café Cacao The**, Paris, v.24, n.1, p.27-32, 1980.
- Crowe, J.H., Hoekstra, F.A., Crowe, L.M. Anhydrobiosis. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.54, p.579-599, 1992.
- Dan, E.L.; Mello, V.D.C., Wetzel, C.T., Popinigis, F., Souza, E.P. Transferência de matéria seca como método de avaliação do vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.9, n.3, p.45-55, 1987.
- Das, G., Sem-Mandi, S. Scutellar amylase activity in naturally aged and accelerated aged wheat seeds. **Annals of Botany**, Oxford, v.69, p.479-501, 1992.

- De Visser, R., Dekhuijzen, H.M., Verkerke, D.R. Control of seed respiration and growth in *Vicia fava* by oxygen and temperature: no evidence for an oxygen diffusion barrier. **Plant Physiology**, Rockville, v.93, p.668-672, 1990.
- Dedeca, D.M. Anatomia e desenvolvimento ontogenético de *Coffea arabica* L. var. Typica Cramer. **Bragantia**, Campinas, v.16, p.315-355, 1957.
- Dedeca, D.M. Recent advances in our knowledge of coffee tree. 4. Anatomy. **Coffee and Tea Industries and the Flavor Field**, New York, v.18, 1958. p. 46-50
- Dell' Aquilla, A. Wheat seed ageing and embryo protein degradation. **Seed Science Research**, Wallingford, v.4, n.3, p.293-298, 1994.
- Delouche, J.C., Baskin, C.C. Accelerated ageing techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.1, n.3, p.427-452, 1973.
- Dentan, E. The microscopic structure of the coffee bean. In: Clifford, M.N., Wilson, K.C. Eds. **Coffee botany, biochemistry and production of beans and beverage**. The Avi Publishing Company, Westport, Connecticut, 1985. p.284-304.
- Dhingra, O.D., Mizubuti, E.S.G., Napoleão, I.T., Jham, G. Free fatty acid accumulation and quality loss of stored soybean seeds invaded by *Aspergillus ruber*. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.29, p.193-203, 2001.
- 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.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v.28, p.350-356, 1956.
- Edje, O.T., Burris, J.S. Physiological and biochemical changes in deteriorating soybean seeds. **Proceedings of the Association of Official Seed Analysts**, Oxford, v.60, p.158-166, 1970.
- Edwards, M.M. Dormancy in seeds in charlock. IV. Inter-relationships of growth, oxygen supply and concentration of inhibitor. **Journal of Experimental Botany**, London, v.20, p.876-894, 1969.
- Ellis, R.H., Hong, T.D., Roberts, E.H. An intermediate category of seed storage behaviour. I. Coffee. **Journal Experimental Botany**, London, v.41, n. 230, p.1167-1174, 1990.
- Estação Climatológica da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-Minas Gerais. Site: <http://www.ufv.br>. Acessado em Janeiro/2004.

- Estanislau, W.T. **Modelo funcional de desenvolvimento de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. Lavras, MG, 2003, 125p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras.
- Feldman, J.R., Ryder, W.S., Kung, J.T. Importance of non volatile compounds to the flavor of coffee. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v.17, p.733-739, 1969.
- Ferguson, J.M., Tekrony, D.M., Egli, D.E. Changes during early seed axes deterioration. II. Lipids, **Crop Science**, Madison, v.30, p.179-182, 1990.
- Fischer, W., Bergfeld, R., Plachy, C., Schafer, R., Schpfer, P. Accumulation of storage materials, precocious germination and development of desiccation tolerance during seed maturation in mustard (*Sinapis alba* L.). **Botanica Acta**, Stuttgart, v.101, p.344-354, 1988.
- Freitas, G.B, Silva, R.F., Araújo, E.F., Reis, F.P. Influência da condição de armazenamento na qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, v.17, nº 1, 2, p. 20-26, 1992.
- Freitas, R.A. **Qualidade fisiológica e caracterização bioquímica de sementes de algodão durante a deterioração e avaliação do seu potencial de armazenamento**. Viçosa: UFV, 2003. 102p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
- Ganguli, S., Sen-Mandi, S. Some physiological differences between naturally and artificially aged wheat seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.18, n.2, p.507-514, 1990.
- García, C.F., Hernández, V.A.G., Moreno, J.M., Ramos, J.M.V. Seed deterioration and respiration as related to DNA metabolism in germinating maize. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.23, p.477-486, 1995.
- Gidrol, X., Noubhani, A., Mocquot, B., Fournier, A., Pradet, A. Effect of accelerated aging on protein synthesis in two legume seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v.26, p.281-288, 1988.
- Godinho, R.P., Vilela, E.R., Oliveira, G.A., Chagas, S.J.R. Variações na cor e na composição do café (*Coffea arabica* L.) armazenado em côco e beneficiado. **Revista Brasileira de Armazenamento**. Viçosa – Especial - v.1, p.38-43, 2000.
- Gomes, F.P. **Curso de Estatística Experimental**. 13ª Ed. Piracicaba, São Paulo. 467p.
- Grilli, I., Bacci, E., Lombardi, T., Spano, C., Floris, C. Natural ageing: Poly (A) polimerase in germinating embryos of *Triticum durum* wheat. **Annals of Botany**, New York, v.76, p.15-21, 1995.
- Gutiérrez, G., Cruz, F., Moreno, J., González-Hernández, V.A., Vásquez-Ramos, J.M. Natural and artificial seed ageing in maize: germination and DNA synthesis. **Seed Science Research**, Wallingford, v.3, p.279-285, 1993.

- Halder, S., Kole, S., Gupta, K. On the mechanism of sunflower seed deterioration under two different types of accelerated ageing. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.11, 1983.
- Harman, G.E., Mattick, L.R. Association of lipid oxidation with seed ageing and death. **Nature**, London, v.260, p.323-324, 1976.
- Hong, T.D., Ellis, R.H. Interspecific variation in seed storage behaviour within two genera - Coffea and Citrus. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.23, n.1, p.165-181, 1995.
- Illy, A., Viani, R. **Espresso Coffee: The chemistry of quality**. San Diego. 1996. 253p.
- Instituto Brasileiro do Café. **Cultura do Café no Brasil: manual de recomendações**, 4. ed. Rio de Janeiro, 1981. 504 p.
- Kacser, H., Porteous, J.W. Control of metabolism: what do we have to measure? **Trends in Biochemical Science**, London, v.12, p.5-14, 1987.
- Kalpana, R., Mandhava Rao, K.V. Lowered lipoxygenase activity in seeds of pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp) cultivars during accelerated ageing. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.21, p.269-272, 1993.
- Kalpana, R., Mandhava Rao, K.V. Nucleic acid metabolism of seeds of pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp) cultivars during accelerated ageing. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.25, p.293-301, 1997.
- Kalpana, R., Mandhava Rao, K.V.M. Absence of the role of lipid peroxidation during accelerated ageing of seeds of pigeonpea (*Cajanus cajan* L.) Millsp.) cultivars. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.22, p.253-260, 1994.
- Karmas, R., Buera, M.P., Karek, M. Effect of glass transition on rate of non enzymatic browning in food systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.40, p.873-879, 1992.
- Kays, S.J. **Postharvest physiology of perishable plant products**. New York: Van Nostrand Reinhold. 1991. 532p
- Koostra, P., Harrington, J. Biochemical effects of age on membranal lipids of *Cucumis sativus* L. seed. **Proceedings International Seed Testing Association**, v.34, p.329-340, 1973.
- Koster, K. Glass formation and desiccation tolerance in seeds. **Plant Physiology**, Rockville, v.96, p.302-304, 1991.
- Koster, K.L., Leopold, A.C. Sugars and desiccation tolerance in seeds. **Plant Physiology**, Rockville, v.88, n.4, p.829-832, 1988.
- Krzyzanowski, F.C., França Neto, J.B. Vigor de sementes. **Informativo ABRATES**, Londrina, v.11, n.3, p.81-84, 2001.

- Kuo, T.M., Vanmiddles Worth, J.F., Wolf, W.J. Content of raffinose oligosaccharides and sucrose in various plant seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.36, n.1, p.32-36, Jan/Feb. 1988.
- Lambers, H., van der Werf, A., Konings, H. Respiratory patterns in roots in relation to their functioning. In: WAISEI, Y., ESHEL, P., KAFKAKI, U. **Plant Roots**. The Hidden Half. (eds.). Marcel Dekker Inc., New York, pp. 229-263, 1991.
- Leite, I.P. **Influência do local de cultivo e do tipo de colheita nas características físicas, composição química do grão e qualidade do café (*Coffea arabica* L.)**. Lavras, MG. 1991. 135p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras.
- Leopold, A.C., Bruni, F., Williams, R.J. Water in dry organisms. In: Somero G.N., Osmond C.B., Bolis, CL. Eds. **Water and life**. Berlin: Springer-Verlag, p.161-169, 1992.
- Leprince, O., Hendry, G.A.F., Mckersie, B.D. The mechanisms of desiccation tolerance in developing seeds. **Seed Science Research**, Wallingford, v.3, n.3, p. 231-246, 1993.
- Lima, W.A.A., Dias, D.C.F.S., Alvarenga, E.M., Reis, M.S., Cecon, P.R. Preconditioning of coffee (*Coffea arabica* L.) seeds: effects on germination, vigour and storability. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.29, p.549-555, 2001.
- Lin, S.S. Alterações na lixiviação eletrolítica, germinação e vigor da semente de feijão envelhecida sob alta umidade relativa do ar e alta temperatura. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.2, n.2, p.1-6, 1990.
- Locher, R., Bucheli, P. Comparison of soluble sugar degradation in soybean seed under simulated tropical storage conditions. **Crop Science**, Madison, v.38, p.1229-1253, 1998.
- Mandhava Rao, K.V.M., Kalpana, R. Carbohydrates and the ageing process in seed of pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp) cultivars. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.22, p.495-501, 1994.
- Marcos Filho, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C., VIEIRA, R.D., FRANÇA NETO, J.B. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: Associação Brasileira de Tecnologia de sementes, 1999. Cap.3.
- Mazzafera, P., Soave, D., Zullo, M.A.T., Guerreiro Filho, O. Oil content of green beans from some coffee species. **Bragantia**, Campinas, v.57, p.45-48, 1998.
- McDonald Jr., M.B. Assessment of seed quality. **Hortscience**, Alexandria, v.15, n.6, p.22-27, 1980.
- McDonald Jr., M.B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 27, p.177-237, 1999.

- Miglioranza, E. **Conservação de sementes de café (*Coffea arabica* L. cv. Catuaí), com diferentes teores de umidade, armazenadas em embalagens hermeticamente fechadas.** Piracicaba, SP, 1982. 60p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz.
- Miranda, J.M., Valias, E.P. Estudo sobre a conservação da viabilidade de sementes de café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 11. 1984, Londrina. **Resumos...** Rio de Janeiro: Ministério da Indústria e do Comércio IBC, 1984, p. 160-161.
- Murray, D.R. Axis-cotyledon relationships during reserve mobilization. In: MURRAY, D.R. (Ed.) **Seed physiology.** New York: Academic Press, 1984. p.295.
- Nakagawa, J. Testes de vigor baseado na avaliação das plântulas. In: VIEIRA, R.D., CARVALHO, N.M. (Eds.). **Testes de vigor em sementes.** Jaboticabal: FUNEP, p. 49-85, 1994.
- Paula, N.F., Borges, E.E.L., Borges, R.C.G., Paula, R.C. Avaliações bioquímicas e fisiológicas em sementes de seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.20, n.2, p.239-248, 1998.
- Pearce, R.S., Abdel Samad, I.M. Change in fatty acid content of polar lipids during ageing of seeds of peanut (*Arachis hypogea* L.). **Journal Experimental of Botany**, London, v.31, p.1283-1290, 1980.
- Perdomo, A., Burris, J. Histochemical, physiological, and ultrastructural changes in the maize embryos during artificial drying. **Crop Science**, Madison, v.38, p.1236-1244, 1998.
- Pereira, R.G.F.A. **Efeito da inclusão de grãos defeituosos na composição química e qualidade do café (*Coffea arabica* L.) "estritamente mole".** Lavras: UFLA, 1997. 96p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras.
- Pérez, M.A.; Argüello, J.A. Deterioration in peanut (*Arachis hypogea* L. cv. Florman) seeds under natural and accelerated ageing. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.23, p.439-445, 1995.
- Pesis, E., Ng, T.J. The role of anaerobic respiration in germination muskmelon seeds. I. In relation to seed lot quality. **Journal of Experimental Botany**, London, v.35, p.356-365, 1984.
- Pesis, E., Ng, T.J. The effect of seedcoat removal on germination and respiration of muskmelon seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.14, p.117-125, 1986.
- Pimenta, C.J., Costa, L., Chagas, S.J.R. Peso, acidez, sólidos solúveis, açúcares e compostos fenólicos em café (*Coffea arabica* L.), colhidos em diferentes estádios de maturação. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa - Especial, v.1, p.23-30, 2000.
- Popiginis, F. **Fisiologia da semente.** Brasília: AGIPLAN, 1985. 289p.

- Powell, A.A., Harman, G.E. Absence of a consistent association of changes in membranal lipids with the ageing of pea seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.13, n.3, p.659-667, 1985.
- Powell, A.A., Matthews, S. Association of phospholipid changes with early stages of seed ageing. **Annals of Botany**, New York, v.47, p.709-712, 1981.
- Prete, C.E.C. **Condutividade elétrica do exsudato de grãos de café (*Coffea arabica* L.) e sua relação com a qualidade da bebida**. Piracicaba: ESALQ, 1992. 125p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz.
- Priestley, D.A., Leopold, A.C. Lipid changes during natural aging of soybean seeds. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.59, n.3, p.467-470, 1983.
- Randhawa, H.S., Dey, S.K., Kauri, J., Sharma, H.L., Hari, S., Khehra, A.S., Singh, H. Studies on the seed germination, seedling vigour and seed microflora of grated maize (*Zea mays* L.). **Annals of Biology**, Ludhiana, v.6, n.1, p.49-52, 1990.
- Ray, M.B., Halder, S., Gupta, K. Differential responses of early and late cultivars of rice (*Oryza sativa* L.) seeds under accelerated ageing. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.18, p.823-831, 1990.
- Rena, A.B., Maestri, M. Fisiologia do cafeeiro. In: Rena, A. B., Malavolta, E., Rocha, M., Yamada, T. **Cultura do cafeeiro: Fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: POTAFÓS, 1986. p.13-85.
- Roberts, E.H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.1, n.3, p.499-514, 1973.
- Roberts, E.H. Storage environment and the control of viability. In: Roberts, E.H. (Ed.). **Viability of seeds**. London, Chapman and Hall Ltd. 1972. p. 14-58.
- Rogers, W.J., Bézard, G., Deshayes, A., Meyer, I., Pétiard, V., Marraccini, P. Biochemical and molecular characterization and expression of the 11S-type storage protein from *Coffea arabica* endosperm. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v.37, p.261-272, 1999.
- Sabbagh, N.K.; Yokomizo, Y. Efeito da torração sobre algumas propriedades químicas de cafés Arábica e Robusta. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.7, p. 147-161, 1976.
- SAS Institute. **Statistical user's guide**, version 6, fourth edition, volume 2 Cary, NC: SAS Institute Inc, 1989. 846p.
- Senaratna, T., Gusse, J., Mckersie, D. Age induced changes in cellular membranes of imbibed soybean seed axes. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.73, p.85-91, 1988.

- Squarezi, C.N., Braccini, A.L., Scapim, C.A., Dalpasquale, V.A., Braccini, M.C.L., Schuab, S.R.P. Influência das condições de armazenamento na qualidade fisiológica e sanitária das sementes de café (*Coffea arabica* L.). **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, Especial, n.4, p.16-25, 2002.
- Shimada, Y., Roos, Y., Karel, M. Oxidation of methyl linoleate encapsulated in amorphous lactose-based food model. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.39, p.637-641, 1991.
- Shimizu, M.M., Mazzafera, P. Compositional changes of proteins and amino acids in germinating coffee seeds. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v.43, p.259-265, 2000.
- Silva, D.J. **Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos)**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1990. 165p.
- Silva, W.R., Dias, M.C.L.L. Influência do teor de umidade das sementes de café na manutenção de sua qualidade fisiológica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.20, n.5, p.551-560, 1985.
- Smith, M.T., Berjak, P. Deteriorative changes associated with the loss of viability of stored desiccation-tolerant and desiccation-sensitive seeds. In: Kigel, J., Galili, G. (eds.) **Seed Development and Germination**. Marcel Dekker, Inc., New York, p. 701-746, 1995.
- Stewart, R.C., Martin, A., Reding, L., Cerwick, S. Respiration and alternative oxidase in corn seedling tissues during germination at different temperatures. **Plant Physiology**, Washington, v.92, p.755-760, 1990.
- Stewart, R.R., Bewley, J.D. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. **Plant Physiology**, Washington, v.65, n.2, p.245-248, 1980.
- Sung, J.M., Jeng, T.L. Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes associated with accelerated ageing of peanut seed. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.91, n.1, p.51-55, 1994.
- Trawatha, S.E., Tekrony, D.M., Hildebrand, D.F. Soybean lipoxygenase mutants and seed longevity. **Crop Science**, Madison, v.35, p.862-868, 1995.
- Vaccarelli, V.N. **Frutificação e caracterização de frutos e sementes de híbridos arabustas tetraplóides (*Coffea arabica* x *C. canephora*)**. Campinas: IAC, 2001. 77p. Dissertação (Mestrado) – Instituto Agrônomo.
- Vasconcelos, L.M., Groth, D., Razera, L.F. Efeito de processos de secagem, diferentes graus de umidade e tipos de embalagens na conservação de sementes de café (*Coffea arabica* L. cv. Catuaí Vermelho). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.14, n.2, p.181-188, 1992.
- Vieira, R.D., Carvalho, N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 184p.

- Vimala, Y. Changes in certain enzymes accompanying natural and induced loss of seed viability. **Journal of the Indian Botanical Society**, v.63, p.61-68, 1984.
- Vossen, H.A.M. Methods of preserving the viability of coffee seed in storage. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.7, n.1, p.65-74, 1979.
- Wettlaufer, S.H., Leopold, A.C. Relevance of Amadori and Maillard reactions to seed deterioration. **Plant Physiology**, Washington, v.97, p.165-169, 1991.
- Williams, R.J, Leopold, A.C. The glass state in corn embryos. **Plant Physiology**, Washington, v. 89, p.977-981, 1989.
- Wilson Jr., D.O., McDonald Jr., M.B. The lipid peroxidation model of seed ageing. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.14, n.2, p.269-300, 1986.
- Wolfrom, M.L., Laver, M.L., Patin, D.L. Carbohydrates of coffee bean. II. Isolation and characterization of a mannan. **Journal of Organic Chemistry**, v.26, p.4533-4536, 1961.
- Wolfrom, M.L., Patin, D.L. Isolation and characterization of cellulose in the coffee bean. **Agricultural and Food Chemistry**, v.12, p.376-377, 1964.
- Woodstock, L.W., Furrman, K., Solomons, T. Changes in respiratory during ageing in seeds and isolated axes of soybean. **Plant Physiology**, Washington, v.25, p.15-26, 1984.
- Woodstock, L.W., Grabe, D.F. Relationships between seed respiration during imbibition and subsequent seedling growth in *Zea mays* L. **Plant Physiology**, Washington, v.42, p. 1071-1076, 1967.
- Woodstock, L.W., Taylorson, R.B. Ethanol and acetaldehyde in imbibing soybean seeds in relation to deterioration. **Plant Physiology**, Washington, v.67, p.424-428, 1981.
- Yaklich, K.M. Effect of aging on soluble oligosaccharide content in soybean seeds. **Crop Science**, Madison, v.25, p.701-704, 1985.
- Zhang, M., Maedo, Y., Furihata, Y., Nakamar, Y., Esashi, Y. A mechanism of seed deterioration in relation to the volatile compounds evolved by dry seeds themselves. **Seed Science Research**, Wallingford, v.4, p. 49-56, 1994.

APÊNDICE

APÊNDICE

- QUADROS REFERENTES AOS TESTES FISIOLÓGICOS (A)

Quadro 1A - Grau de umidade (% base úmida), determinado após o envelhecimento acelerado das sementes de duas cultivares de café, armazenadas em condição ambiente e câmara fria (CF)

Cultivares	Condição de armazenamento	Períodos de armazenamento (meses)						
		0	2	4	6	8	10	12
Catuaí Vermelho	Ambiente	12,3	27,7	31,4	27,7	--	--	--
	CF	12,0	33,1	29,5	29,2	31,6	31,8	28,2
Rubi	Ambiente	12,4	29,7	31,2	29,0	--	--	--
	CF	12,1	31,3	30,6	29,3	33,4	30,8	29,3

Quadro 2A - Grau de umidade (% base úmida), determinado após o envelhecimento acelerado das sementes de duas cultivares de café, para cada período de envelhecimento artificial

Cultivares	Períodos de envelhecimento artificial (horas)					
	0	24	48	72	96	120
Catuaí Vermelho	12,7	33,9	34,3	35,5	36,7	38,4
Rubi	12,1	35,3	36,7	37,8	38,3	40,8

Quadro 3A - Valores médios referentes à avaliação do efeito do envelhecimento artificial na germinação (TG), primeira contagem (PC), envelhecimento acelerado (EA), peso de matéria verde (MV), peso de matéria seca (MS), condutividade elétrica (CE), e classificação do vigor das plântulas (PV), das sementes de café da cultivar Catuaí Vermelho IAC144

Períodos de envelhecimento (horas)	TG	PC	EA	PV	CE	MV	MS
	------(%)-----				-(μ S/cm/g)-	------(mg/pl)-----	
0	91,0	40,0	90,0	30,0	9,2	187,5	23,5
24	91,5	38,5	85,5	27,5	11,4	180,7	22,2
48	90,0	37,0	79,5	25,5	12,0	179,8	22,0
72	86,5	34,5	62,5	21,5	13,3	179,0	21,5
96	86,0	30,0	55,0	16,0	14,5	168,3	21,0
120	84,0	27,0	53,5	12,5	16,1	167,5	20,3
Média	88,2	34,5	71,0	22,2	12,8	177,2	21,8

Quadro 4A - Valores médios referentes à avaliação do efeito do envelhecimento artificial na germinação (TG), primeira contagem (PC), envelhecimento acelerado (EA), peso de matéria verde (MV), peso de matéria seca (MS), condutividade elétrica (CE) e classificação do vigor das plântulas (PV), das sementes de café da cultivar Rubi MG 1192

Períodos de envelhecimento (horas)	TG	PC	EA	PV	CE	MV	MS
	------(%)-----				-(μ S/cm/g)-	------(mg/pl)-----	
0	91,5	66,5	87,0	56,5	7,9	187,8	23,9
24	89,5	63,0	85,0	52,0	7,9	186,7	23,4
48	89,0	61,0	75,0	47,5	8,4	185,2	22,8
72	87,2	54,0	71,0	39,5	9,6	183,8	22,7
96	84,0	49,0	66,7	34,0	11,2	182,7	22,1
120	82,5	44,0	58,0	26,5	13,9	177,0	22,0
Média	87,5	56,2	73,8	42,7	9,8	183,9	22,8

Quadro 5A - Valores médios, referentes aos testes para avaliação da qualidade fisiológica das sementes de café Catuaí Vermelho IAC144, em função dos diferentes períodos de armazenamento para os dois ambientes de armazenamento

Testes de germinação e vigor	Catuaí Vermelho IAC 144							
	Períodos de armazenamento (meses)							
	0	2	4	6	8	10	12	Médias
Germinação (%)	91,0	86,75	55,50	47,28	85,0	84,0	74,0	74,79
Primeira contagem (%)	40,0	29,7	20,2	17,5	29,5	27,0	22,5	26,6
Envelhecimento acelerado (%)	90,0	71,2	45,5	32,5	54,5	26,5	4,5	46,4
Matéria verde (mg/plântula)	187,5	184,2	157,9	96,3	171,4	163,3	160,6	160,2
Matéria seca (mg/plântula)	23,5	22,6	18,7	10,9	19,6	18,9	18,9	19,0
Condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$)	9,2	10,9	13,5	16,1	14,5	15,1	18,2	13,9
Classificação do vigor plântulas (%)	30,0	18,7	11,7	9,5	13,5	8,5	18,5	15,8
Médias	67,3	60,6	46,1	32,9	55,4	49,0	45,3	

Quadro 6A - Valores médios, referentes aos testes para avaliação da qualidade fisiológica das sementes de café Rubi MG1192, em função dos diferentes períodos de armazenamento para os dois ambientes de armazenamento

Testes de germinação e vigor	Rubi MG 1192							
	Períodos de armazenamento (meses)							Médias
	0	2	4	6	8	10	12	
Germinação (%)	91,5	86,7	64,7	46,2	79,5	79,5	65,0	73,3
Primeira contagem (%)	66,5	54,7	33,0	28,0	48,0	46,0	39,0	45,0
Envelhecimento acelerado (%)	87,0	59,5	38,2	29,0	56,5	32,0	4,5	43,8
Matéria verde (mg/plântula)	187,8	184,4	154,9	106,1	175,0	173,5	173,1	165,0
Matéria seca (mg/plântula)	23,9	22,5	18,4	12,7	20,1	19,6	19,6	19,6
Condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$)	7,9	8,7	9,6	11,4	9,9	10,8	14,3	10,4
Classificação do vigor plântulas (%)	56,5	43,5	25,0	20,5	35,0	31,5	24,0	33,7
Médias	74,5	65,7	49,1	36,3	60,6	56,1	48,5	

Quadro 7A - Valores médios, referentes aos testes para avaliação da qualidade fisiológica das sementes de duas cultivares de café, em função do período de armazenamento em câmara fria

Testes de germinação e vigor	Câmara fria							
	Períodos de armazenamento (meses)							
	0	2	4	6	8	10	12	Médias
Germinação (%)	91,2	89,2	87,7	83,2	82,2	81,7	69,5	83,5
Primeira contagem (%)	53,2	50,2	44,7	42,2	38,7	36,5	30,7	42,3
Envelhecimento acelerado (%)	88,5	74,5	69,5	61,5	55,5	29,2	4,5	54,7
Matéria verde (mg/plântula)	187,7	184,9	180,5	174,5	173,2	168,4	166,8	176,6
Matéria seca (mg/plântula)	23,7	22,7	21,7	20,9	19,8	19,3	19,3	21,0
Condutividade elétrica (μ S/cm/g)	8,6	9,8	11,5	11,7	12,2	13,0	16,3	11,9
Classificação do vigor plântulas (%)	43,2	38,5	32,5	28,7	24,2	20,0	21,2	29,7
Médias	70,9	67,1	64,01	60,4	58,0	52,6	46,9	

Quadro 8A - Valores médios, referentes aos testes para avaliação da qualidade fisiológica das sementes de duas cultivares de café, em função do período de armazenamento em condição ambiente

Testes de germinação e vigor	Ambiente							
	Períodos de armazenamento							
	0	2	4	6	8	10	12	Médias
Germinação (%)	91,2	84,2	32,5	10,2	0	0	0	54,5
Primeira contagem (%)	53,2	34,2	8,5	3,2	0	0	0	24,8
Envelhecimento acelerado (%)	88,5	56,2	14,2	0,0	0	0	0	39,7
Matéria verde (mg/plântula)	187,7	183,7	132,2	28,0	0	0	0	132,9
Matéria seca (mg/plântula)	23,7	22,4	15,4	2,7	0	0	0	16,0
Condutividade elétrica ($\mu\text{S/cm/g}$)	8,6	9,8	11,5	15,8	-	-	-	11,4
Classificação do vigor plântulas (%)	43,2	23,7	4,2	1,2	0	0	0	18,1
Médias	70,9	59,2	31,2	8,7	0	0	0	

Quadro 9A - Valores médios referentes aos testes para avaliação da qualidade fisiológica das sementes de café da cultivar Catuaí Vermelho IAC144, em função da condição de armazenamento em câmara fria e ambiente

Testes de germinação e vigor	Condição de armazenamento		
	Câmara fria	Ambiente	Médias
Germinação (%)	85,2	51,9	68,5
Primeira contagem (%)	32,2	17,0	24,6
Envelhecimento acelerado (%)	57,4	40,5	48,9
Matéria verde (mg/plântula)	174,3	131,8	153,0
Matéria seca (mg/plântula)	20,7	16,0	18,4
Condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$)	13,7	12,9	13,3
Classificação do vigor plântulas (%)	19,6	10,7	15,2
Médias	57,6	40,1	

Quadro 10A - Valores médios referentes aos testes para avaliação da qualidade fisiológica das sementes de café da cultivar Rubi MG1192, em função da condição de armazenamento em câmara fria e ambiente

Testes de germinação e vigor	Condição de armazenamento		
	Câmara fria	Ambiente	Médias
Germinação (%)	81,9	57,2	69,6
Primeira contagem (%)	52,4	32,6	42,5
Envelhecimento acelerado (%)	52,1	39,0	45,5
Matéria verde (mg/plântula)	178,9	134,0	156,5
Matéria seca (mg/plântula)	21,4	16,1	18,8
Condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$)	10,1	9,9	10,0
Classificação do vigor plântulas (%)	39,9	25,5	32,4
Médias	62,3	44,9	

Quadro 11A - Valores médios referentes ao teste de germinação, em função da condição e do período de armazenamento das sementes de duas cultivares de café

Cultivar	Condição armazenamento	Germinação (%)							
		Períodos de armazenamento (meses)							
		0	2	4	6	8	10	12	Médias
Catuaí Vermelho	Ambiente	91,0	85,5	23,0	8,0	0	0	0	29,6
	Câmara fria	91,0	88,0	88,0	86,5	85,0	84,0	74,0	85,2
Médias		91,0	86,7	55,5	47,2	42,5	42,0	37,0	
Rubi	Ambiente	91,5	83,0	42,0	12,5	0	0	0	32,7
	Câmara fria	91,5	90,5	87,5	80,0	79,5	79,5	65,0	91,9
Médias		91,5	86,7	64,7	46,2	39,7	39,7	32,5	

Quadro 12A - Valores médios referentes ao teste de primeira contagem, em função da condição e do período de armazenamento das sementes de duas cultivares de café

Cultivar	Condição armazenamento	Primeira contagem (%)							
		Períodos de armazenamento (meses)							
		0	2	4	6	8	10	12	Médias
Catuaí Vermelho	Ambiente	40,0	21,5	4,0	2,5	0	0	0	9,7
	Câmara fria	40,0	38,0	36,5	32,5	29,5	27,0	22,5	32,3
Médias		40,0	29,7	20,2	17,5	14,7	13,5	11,2	
Rubi	Ambiente	66,5	47,0	13,0	4,0	0	0	0	18,6
	Câmara fria	66,5	62,5	53,0	52,0	48,0	46,0	39,0	52,4
Médias		66,5	54,7	33,0	28,0	24,0	23,0	19,5	

Quadro 13A - Valores médios referentes ao teste envelhecimento acelerado, em função da condição e do período de armazenamento das sementes de duas cultivares de café

Cultivar	Condição armazenamento	Envelhecimento acelerado (%)							
		Períodos de armazenamento (meses)							
		0	2	4	6	8	10	12	Médias
Catuaí Vermelho	Ambiente	90,0	61,0	11,0	0	0	0	0	23,1
	Câmara fria	90,0	81,5	80,0	65,0	54,5	26,5	4,5	57,4
Médias		90,0	71,2	45,5	32,5	27,2	13,2	2,2	
Rubi	Ambiente	87,0	51,5	17,5	0	0	0	0	22,3
	Câmara fria	87,0	67,5	59,0	58,0	56,5	32,0	4,5	52,1
Médias		87,0	59,5	38,2	29,0	28,2	16,0	2,2	

Quadro 14A - Valores médios referentes ao peso de matéria verde das plântulas, em função da condição e do período de armazenamento das sementes de duas cultivares de café

Cultivar	Condição armazenamento	Matéria verde (mg/plântula)							
		Períodos de armazenamento (meses)							
		0	2	4	6	8	10	12	Médias
Catuaí Vermelho	Ambiente	187,5	182,8	136,3	20,5	0	0	0	75,3
	Câmara fria	187,5	185,67	179,5	172,2	171,4	163,3	160,6	174,3
Médias		187,5	184,2	157,9	96,3	85,7	81,7	80,3	
Rubi	Ambiente	187,8	184,6	128,2	35,5	0	0	0	76,6
	Câmara fria	187,8	184,3	181,5	176,8	175,0	173,5	173,1	178,9
Médias		187,8	184,4	154,9	106,1	87,5	86,8	86,5	

Quadro 15A - Valores médios referentes ao peso de matéria seca das plântulas, em função da condição e do período de armazenamento das sementes de duas cultivares de café

Cultivar	Condição armazenamento	Matéria seca (mg/plântula)							
		Períodos de armazenamento (meses)							
		0	2	4	6	8	10	12	Médias
Catuaí Vermelho	Ambiente	23,5	22,5	15,9	2,0	0	0	0	9,1
	Câmara fria	23,5	22,8	21,4	19,8	19,6	18,9	18,9	20,7
Médias		23,5	22,6	18,7	10,9	9,8	9,5	9,5	
Rubi	Ambiente	23,9	22,3	14,8	3,5	0	0	0	9,2
	Câmara fria	23,9	22,7	22,1	21,9	20,1	19,6	19,6	21,4
Médias		23,9	22,5	18,4	12,7	10,0	9,8	9,8	

Quadro 16A - Valores médios referente ao teste de condutividade elétrica das sementes, em função da condição e do período de armazenamento das sementes de duas cultivares de café

Cultivar	Condição armazenamento	Condutividade elétrica ($\mu\text{S/cm/g}$)							
		Períodos de armazenamento (meses)							
		0	2	4	6	8	10	12	Médias
Catuaí Vermelho	Ambiente	9,2	10,8	13,1	18,3				12,8
	Câmara fria	9,2	11,1	13,8	13,9	14,5	15,1	18,2	13,7
Médias		9,2	10,9	13,4	16,1	7,3	7,5	9,1	
Rubi	Ambiente	7,9	8,8	9,9	13,3				9,9
	Câmara fria	7,9	8,6	9,3	9,6	9,9	10,8	14,3	10,0
Médias		7,9	8,7	9,6	11,4	4,9	5,4	7,2	

Quadro 17A - Valores médios referentes ao teste de classificação das plântulas vigorosas, em função da condição e do período de armazenamento das sementes de duas cultivares de café

Cultivar	Condição armazenamento	Classificação do vigor das plântulas (%)							
		Períodos de armazenamento (meses)							
		0	2	4	6	8	10	12	Médias
Catuaí Vermelho	Ambiente	30,0	12,0	0,5	0,5	0	0	0	6,1
	Câmara fria	30,0	25,5	23,0	18,5	13,5	8,5	18,5	19,6
Médias		30,0	18,7	11,7	9,5	6,7	4,2	9,2	
Rubi	Ambiente	56,5	35,5	8,0	2,0	0	0	0	14,6
	Câmara fria	56,5	51,5	42,0	39,0	35,0	31,5	24,0	39,9
Médias		56,5	43,5	25,0	20,5	17,5	15,7	12,0	

- QUADROS REFERENTES AOS TESTES BIOQUÍMICOS (B)

Quadro 1B - Valores médios referentes à determinação de açúcares solúveis (μg /g semente) das sementes das cultivares de café Catuaí Vermelho e Rubi, determinado após cada período de envelhecimento artificial

Períodos envelhecimento artificial (horas)	Cultivar de café		Média
	Catuaí Vermelho	Rubi	
0	389,4	432,3	410,8
24	463,6	381,4	422,5
48	359,4	465,9	412,7
72	343,6	406,1	374,8
96	359,1	341,5	350,3
120	379,8	418,1	398,9
Média	382,5	407,6	

Quadro 2B - Médias e desvio-padrão, em porcentagem, do teor de lipídios de sementes de café das cultivares Catuaí Vermelho e Rubi, submetidas a diferentes períodos de envelhecimento artificial

Período envelhecimento artificial (horas)	Cultivares de Café	
	Catuaí Vermelho	Rubi
0	9,767 \pm 0,907	11,067 \pm 0,503
24	11,667 \pm 0,416	10,967 \pm 0,252
48	10,467 \pm 0,757	11,033 \pm 0,814
72	10,800 \pm 0,200	12,000 \pm 0,529
96	9,700 \pm 0,656	11,333 \pm 0,115
120	10,333 \pm 0,115	12,400 \pm 0,200

Quadro 3B - Médias e desvio-padrão, em porcentagem, do teor de lipídios de sementes de café Catuaí Vermelho, armazenadas em ambiente e câmara fria (CF)

Condição de armazenamento	Período de armazenamento (meses)	Teor de lipídios (%)
Ambiente	0	9,897 ± 0,909
CF		9,777 ± 0,907
Ambiente	2	12,467 ± 0,808
CF		10,933 ± 1,677
Ambiente	4	11,733 ± 0,305
CF		11,733 ± 0,416
Ambiente	6	15,533 ± 4,518
CF		11,867 ± 3,177
Ambiente	8	13,000 ± 0,721
CF		17,600 ± 0,200
Ambiente	10	-
CF		15,167 ± 0,351
Ambiente	12	-
CF		8,833±0,208

Quadro 4B - Médias e desvio-padrão, em porcentagem, do teor de lipídios de sementes de café Rubi, armazenadas em ambiente e câmara fria (CF)

Período de armazenamento (meses)	Condição de armazenamento		Teor de lipídios (%)
	Ambiente	CF	
0	Ambiente		11,087 ± 0,503
	CF		11,088 ± 0,504
2	Ambiente		12,400 ± 0,200
	CF		11,867 ± 0,305
4	Ambiente		10,933 ± 0,577
	CF		11,467 ± 0,115
6	Ambiente		15,867 ± 1,222
	CF		13,733 ± 1,447
8	Ambiente		11,933 ± 0,503
	CF		13,400 ± 1,778
10	Ambiente		-
	CF		14,333 ± 0,416
12	Ambiente		-
	CF		9,867 ± 0,115

Quadro 5B - Médias e desvio-padrão, em µg/g semente, de açúcares solúveis de sementes de café Catuaí Vermelho e Rubi, submetidas a diferentes períodos de envelhecimento artificial

Período de envelhecimento artificial (horas)	Cultivares de Café	
	Catuaí Vermelho	Rubi
0	389,402 ± 40,947	432,290 ± 66,483
24	463,609 ± 60,656	381,456 ± 19,781
48	359,369 ± 13,542	465,946 ± 74,334
72	343,593 ± 87,790	406,113 ± 42,402
96	359,135 ± 33,773	341,489 ± 25,190
120	379,820 ± 96,272	418,150 ± 38,167

Quadro 6B - Médias e desvio-padrão, em $\mu\text{g/g}$ semente, de açúcares solúveis ($\mu\text{g/g}$ semente) de sementes de café Catuaí Vermelho, submetidas a diferentes períodos de armazenamento em câmara fria e ambiente

Condição armazenamento	Período de armazenamento (meses)	Açúcares solúveis ($\mu\text{g/g}$ semente)
Ambiente	0	390,400 \pm 40,952
CF		409,853 \pm 36,602
Ambiente	2	367,432 \pm 23,897
CF		394,310 \pm 33,557
Ambiente	4	441,639 \pm 37,027
CF		424,928 \pm 25,926
Ambiente	6	379,586 \pm 36,215
CF		435,095 \pm 16,084
Ambiente	8	439,769 \pm 38,153
CF		366,381 \pm 17,742
Ambiente	10	-
CF		388,701 \pm 15,382
Ambiente	12	-
CF		381,456 \pm 14,734

Quadro 7B - Médias e desvio-padrão, em $\mu\text{g/g}$ semente, de açúcares solúveis ($\mu\text{g/g}$ semente) de sementes de café Rubi, submetidas a diferentes períodos de armazenamento em câmara fria e ambiente

Condição armazenamento	Período de armazenamento (meses)	Açúcares solúveis ($\mu\text{g/g}$ semente)
Ambiente	0	367,316 \pm 53,917
CF		434,290 \pm 66,583
Ambiente	2	407,866 \pm 31,441
CF		435,679 \pm 41,287
Ambiente	4	345,813 \pm 33,319
CF		383,909 \pm 8,782
Ambiente	6	372,341 \pm 39,534
CF		397,699 \pm 42,711
Ambiente	8	372,224 \pm 39,534
CF		479,619 \pm 18,166
Ambiente	10	-
CF		448,650 \pm 37,630
Ambiente	12	-
CF		497,498 \pm 39,216

Quadro 8B - Médias e desvio-padrão, em μl de $\text{CO}_2/\text{kg.h.}$, da taxa respiratória em sementes de café Catuaí Vermelho e Rubi, submetidas a diferentes períodos de envelhecimento artificial

Cultivares	Período de envelhecimento artificial (horas)	Endocarpo	
		Ausência	Presença
Catuaí Vermelho	0	1,889 \pm 0,168	1,925 \pm 0,070
	24	4,138 \pm 0,459	8,736 \pm 0,578
	48	7,523 \pm 0,542	7,891 \pm 0,476
	72	10,011 \pm 0,932	3,260 \pm 0,295
	96	5,455 \pm 0,303	11,997 \pm 0,128
	120	6,130 \pm 0,396	6,510 \pm 0,488
Rubi	0	1,922 \pm 0,081	1,950 \pm 0,335
	24	2,544 \pm 0,388	10,688 \pm 0,236
	48	8,228 \pm 1,079	9,255 \pm 0,338
	72	11,539 \pm 1,272	3,491 \pm 1,013
	96	4,147 \pm 0,456	12,734 \pm 1,093
	120	7,262 \pm 0,806	7,295 \pm 1,190

Quadro 9B - Médias e desvio-padrão, em μl de $\text{CO}_2/\text{kg.h.}$, da taxa respiratória em sementes de café Catuaí Vermelho, submetidas a diferentes períodos de armazenamento em câmara fria e ambiente

Período de armazenamento (meses)	Condição de armazenamento	Endocarpo	
		Ausência	Presença
0	Ambiente	1,890 \pm 0,194	1,957 \pm 0,066
	CF	1,875 \pm 0,189	1,925 \pm 0,070
2	Ambiente	1,076 \pm 0,049	1,253 \pm 0,153
	CF	1,922 \pm 0,076	2,555 \pm 0,116
4	Ambiente	3,180 \pm 0,131	2,553 \pm 0,313
	CF	2,461 \pm 0,249	1,852 \pm 0,332
6	Ambiente	1,996 \pm 0,134	1,914 \pm 0,980
	CF	1,980 \pm 0,054	1,487 \pm 0,200
8	Ambiente	0,898 \pm 0,495	0,329 \pm 0,064
	CF	0,325 \pm 0,079	0,399 \pm 0,096
10	Ambiente	-	-
	CF	0,411 \pm 0,110	0,306 \pm 0,136
12	Ambiente	-	-
	CF	0,850 \pm 0,279	0,638 \pm 0,088

Quadro 10B - Médias e desvio-padrão, em μl de $\text{CO}_2/\text{kg.h.}$, da taxa respiratória em sementes de café Rubi, submetidas a diferentes períodos de armazenamento em câmara fria e ambiente

Período armazenamento (meses)	Condição de armazenamento	Endocarpo	
		Ausência	Presença
0	Ambiente	1,935 \pm 0,179	2,040 \pm 0,258
	CF	1,892 \pm 0,113	1,950 \pm 0,335
2	Ambiente	1,985 \pm 0,797	2,344 \pm 1,278
	CF	1,948 \pm 0,107	1,999 \pm 0,346
4	Ambiente	3,957 \pm 0,168	2,365 \pm 0,249
	CF	3,006 \pm 0,153	2,019 \pm 0,210
6	Ambiente	1,968 \pm 0,600	1,625 \pm 0,103
	CF	1,869 \pm 0,070	1,617 \pm 0,177
8	Ambiente	0,407 \pm 0,067	0,590 \pm 0,042
	CF	0,356 \pm 0,014	0,309 \pm 0,018
10	Ambiente	-	-
	CF	0,537 \pm 0,090	0,470 \pm 0,073
12	Ambiente	-	-
	CF	0,732 \pm 0,222	0,643 \pm 0,231