



MARCELA ANDREOTTI RICALDONI

**USO DE SEMENTES CRIOPRESERVADAS E CULTIVO
PROTEGIDO PARA A PRODUÇÃO DE MUDAS DE *Coffea*
arabica L.**

**LAVRAS-MG
2019**

MARCELA ANDREOTTI RICALDONI

**USO DE SEMENTES CRIOPRESERVADAS E CULTIVO PROTEGIDO PARA A
PRODUÇÃO DE MUDAS DE *Coffea arabica* L.**

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

Pesq. Dra. Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa
Orientadora

**LAVRAS-MG
2019**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Ricaldoni, Marcela Andreotti.

Uso de sementes criopreservadas e cultivo protegido para a
produção de mudas de *Coffea arabica* L. / Marcela Andreotti
Ricaldoni. - 2019.

75 p.

Orientador(a): Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2019.
Bibliografia.

1. Secagem. 2. Armazenamento. 3. Café. I. da Rosa, Sttela
Dellyzete Veiga Franco. II. Título.

MARCELA ANDREOTTI RICALDONI

**USO DE SEMENTES CRIOPRESERVADAS E CULTIVO PROTEGIDO PARA A
PRODUÇÃO DE MUDAS DE *Coffea arabica* L.**

**USE OF CRIOPRESERVED SEEDS AND PROTECTED CULTIVATION FOR THE
PRODUCTION OF CHUCKLES OF *Coffea Arabica* L.**

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

APROVADA em 22 de março de 2019.

Dr. Rubens José Guimarães	UFLA
Dra. Patrícia de Oliveira Alvim Veiga	IFSULDEMINAS
Dr. André Delly Veiga	IFSULDEMINAS
Dra. Danielle Pereira Baliza	IFSUDESTEMINAS

Pesq. Dra. Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa
Orientadora

**LAVRAS-MG
2019**

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Agricultura (DAG), em especial ao Setor de Sementes, pela oportunidade concedida para a realização desse trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa.

Agradeço à pesquisadora da Embrapa Dra. Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa, pelo melhor exemplo de profissionalismo e dedicação que eu poderia ter, pelos ensinamentos transmitidos nesses cinco anos de orientação, por ter sido sempre paciente e amável, por todos os conselhos, demonstrações de carinho e, principalmente, por sua amizade.

À pesquisadora da Embrapa Dra. Milene Alves de Figueiredo Carvalho pela coorientação, apoio e amizade.

Aos professores e pesquisadores do Setor de Sementes, pelos conhecimentos transmitidos e disposição em colaborar sempre.

A toda a equipe de orientados da pesquisadora Sttela, pela parceria, amizade, apoio e colaboração.

À banca examinadora, pela avaliação deste trabalho.

À Fundação Procafé (Programa Integrado de Apoio à Tecnologia Cafeeira), pelo fornecimento dos frutos de café.

Aos funcionários do Departamento de Agricultura e do Setor de Sementes, pelo apoio na execução das atividades.

À Marli, secretária do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, pela atenção, carinho, e colaboração de sempre.

À minha família, em especial aos meus amados pais Izabela e Domingos Vitor, por serem os meus maiores incentivadores, por serem o meu alicerce, por terem feito o possível e o impossível para que eu chegasse até aqui. O meu amor por vocês é incondicional, muito obrigada por serem exatamente como vocês são.

À minha avó Laura, por ter me recebido em Lavras com tanto amor e carinho, por ser meu exemplo de força e alegria, por todos os conselhos e orações.

Ao meu grande amor Arthur, por ter sido meu grande amigo e companheiro nessa jornada, por todo incentivo e motivação, por me fazer acreditar que tudo daria certo e, principalmente, por todo o esforço feito para estar sempre ao meu lado me alegrando com sua companhia.

Às minhas amadas amigas Madeleine, Cristiane e Marislaine, pela agradável convivência, pela amizade e momentos maravilhosos que passamos juntas, por não medirem esforços para me ajudar e por estarem sempre ao meu lado. Agradeço imensamente, do fundo do meu coração.

Aos amigos do setor de sementes, em especial ao Gabriel e Diego, pelos momentos felizes que passamos juntos, por todos os lanches compartilhados, pela ajuda na condução do meu experimento e pela agradável companhia.

A todos os meus amigos, pelos momentos de descontração e apoio.

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

Sobretudo, eu agradeço, principalmente a Deus, pela presença constante em minha vida, por transformar mais um sonho em realidade e por colocar em meu caminho pessoas incríveis que me inspiram a ser cada dia melhor.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

A propagação do cafeeiro da espécie arábica, ainda é, predominantemente, realizada por meio de mudas produzidas a partir do semeio de sementes, as quais apresentam lenta germinação e baixa tolerância a dessecação e longevidade. Estas características dificultam a produção das mudas em época de clima mais apropriado ao plantio e ao estabelecimento da lavoura. Desta forma, a proposta nestes estudos foi investigar a formação de mudas de cafeeiro, em diferentes épocas e ambientes, com sementes provenientes de diferentes tratamentos de secagem e de armazenamento. Neste sentido, a criopreservação ou armazenamento em nitrogênio líquido, por tempo indeterminado, das sementes adequadamente preparadas, é uma alternativa viável para o café. Assim, o objetivo no primeiro estudo foi investigar a formação de mudas a partir de sementes criopreservadas por seis meses, em duas safras consecutivas. Sementes de *Coffea arabica* L., cultivar 'Catuaí amarelo' IAC 62, foram colhidas no estágio de maturidade fisiológica, e submetidas a quatro tratamentos de secagem: sementes secadas em secador estacionário de pequena escala até atingirem 12% e 32% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; sementes secadas em solução salina saturada de NaCl até atingirem 17% de umidade, e sementes secadas em sílica gel até atingirem 17% de umidade, armazenadas em nitrogênio líquido. As mudas foram produzidas em viveiro, em sacos plásticos contendo Tropstrato, e com sementes recém-colhidas ou após seis meses de armazenamento, sendo que as com 12% e 32% de umidade foram armazenadas em câmara fria e, com 17%, em nitrogênio líquido. Foi constatado que sementes com 32% e 12% de umidade armazenadas em câmara fria, e com 17% de umidade armazenadas em nitrogênio líquido, após secagem em sílica gel, apresentam desempenhos fisiológicos iguais. A utilização de sementes de café secadas em sílica gel e criopreservadas é uma alternativa viável para a produção das mudas. No segundo estudo foi investigada a formação de mudas de café sob cultivo protegido em casa de vegetação, sistema utilizado com sucesso para espécies florestais. Neste estudo, objetivou-se investigar a formação de mudas de *Coffea arabica* L., provenientes de sementes submetidas a diferentes metodologias de secagem e armazenamento, incluindo a criopreservação em diferentes safras e locais de produção das mudas. Foi constatado que sementes de café com umidade de 32% armazenadas em câmara fria, e sementes com 17% criopreservadas, apresentam mesma germinação e vigor após seis meses de armazenamento. O desenvolvimento vegetativo de mudas de café arábica em casa de vegetação foi superior ao sistema convencional em viveiro na maioria das avaliações.

Palavras-chave: Secagem. Armazenamento. Nitrogênio líquido. Café.

ABSTRACT

The propagation of arabica coffee is still predominantly carried out by seedlings produced from seed sowing, which present slow germination and low tolerance to desiccation and longevity. These characteristics make it difficult to produce seedlings in a climate season that is more appropriate to planting and establishing the crop. Thus, the proposal in these studies was to investigate the formation of coffee seedlings, at different times and environments, with seeds from different drying and storage treatments. Cryopreservation or storage in liquid nitrogen for an indefinite period of properly prepared seeds is a viable alternative to coffee. In that way, the objective in the first study was to investigate the formation of seedlings from cryopreserved seeds for six months, in two consecutive harvests. Seeds of *Coffea arabica* L., 'Catuaí amarelo' IAC 62 cultivar were harvested at the physiological maturity stage and submitted to four drying treatments: seeds dried in a small scale stationary dryer until reaching 12% and 32% humidity and stored in a cold and dry room; seeds dried in saturated NaCl solution until they reached 17% humidity; and seeds dried on silica gel until reaching 17% humidity stored in liquid nitrogen. The seedlings were produced in the nursery, in plastic bags containing Tropstrato. The seeds used were freshly harvested or with six months of storage, those with 12 and 32% humidity were stored in a cold room and those with 17% humidity were stored in liquid nitrogen. Seeds with 32% and 12% of humidity stored in cold rooms and with 17% of humidity stored in liquid nitrogen, after silica gel drying, showed the same physiological performance. The use of *Coffea arabica* L. seeds cryopreserved and dried on silica gel is a viable alternative for the production of seedlings. In the second study was investigated the formation of coffee seedlings under protected cultivation under greenhouse conditions, a system successfully used for forest species. The objective with this study was to investigate the formation of *Coffea arabica* L. seedlings from seeds submitted to different drying and storage methodologies, including cryopreservation, in different crop year and seedling production sites. It was verified that coffee seeds with 32% humidity stored in cold room and cryopreserved seeds with 17% humidity had the same germination and vigor after six months of storage. The vegetative development of *Coffea arabica* L. seedlings in greenhouse was superior to the conventional nursery system in most evaluations.

Keywords: Drying. Liquid nitrogen. Storage. Coffee.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	
1	INTRODUÇÃO..... 11
2	REFERENCIAL TEÓRICO 13
2.1	Sementes de café 13
2.2	Armazenamento de sementes de café..... 13
2.2.1	Métodos convencionais 13
2.2.2	Criopreservação 15
2.3	Propagação 16
2.4	Mudas de café..... 17
2.5	Cultivo protegido 19
	REFERÊNCIAS..... 21
	SEGUNDA PARTE – ARTIGOS* 28
	ARTIGO 1 - Produção de mudas de <i>Coffea arabica</i> L. em diferentes épocas com sementes criopreservadas 29
1	INTRODUÇÃO..... 30
2	MATERIAL E MÉTODOS 33
2.1	Avaliação fisiológica das sementes 34
2.2	Produção e avaliação das mudas 35
2.3	Delineamento experimental 36
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 36
3.1	Avaliação fisiológica das sementes 36
3.2	Avaliação das mudas 42
4	CONCLUSÕES..... 45
	REFERÊNCIAS..... 46
	ARTIGO 2 - Produção de mudas de café convencionais e em cultivo protegido com sementes criopreservadas 50
1	INTRODUÇÃO..... 51
2	MATERIAL E MÉTODOS 53
2.1	Avaliação fisiológica das sementes 54
2.2	Produção e avaliação das mudas 55
2.3	Delineamento experimental 56
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 56

3.1	Avaliações fisiológicas das sementes	56
3.2	Avaliação das mudas	61
4	CONCLUSÕES.....	64
	REFERÊNCIAS.....	65
	ANEXOS	68

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

Há anos o Brasil se mantém como o maior produtor e exportador mundial de café (ARAÚJO et al., 2008; DULLO et al. 2009; MONDEGO et al., 2011; ABIC, 2015; CONAB, 2018). Em 2017, a produção brasileira foi de aproximadamente 45 milhões de sacas de café, correspondente a um terço das sacas produzidas anualmente no mundo, sendo Minas Gerais o principal estado produtor (CONAB, 2018).

Apesar da alta produção e exportação brasileiras de café, ainda existem desafios a serem superados na etapa de armazenamento de sementes e produção de mudas dessa espécie. As mudas de *Coffea arabica* L. são provenientes de sementes, as quais são classificadas como sementes intermediárias (ELLIS et al., 1991), ou seja, são capazes de tolerar níveis de dessecação relativamente mais baixos em comparação às sementes recalcitrantes, porém, não toleram perdas de água extremas como as sementes ortodoxas. Essas características intrínsecas à espécie dificultam a conservação destas sementes por períodos prolongados.

O conhecimento sobre as condições fisiológicas das sementes e seu comportamento ao longo do armazenamento, são fundamentais para auxiliar no estabelecimento de estratégias de conservação eficazes (FAO, 1993), potencializando sua exploração comercial, principalmente a produção de mudas em viveiros, de modo a contribuir para o sucesso agrônômico e financeiro do produtor. No entanto, o grau de umidade ideal para a conservação das sementes do café ainda não está completamente definido, em virtude das divergências entre os resultados obtidos nas pesquisas. Estudos propõem graus de umidade entre 9 e 11% como vantajosos (DUSSERT et al., 2006). Em contrapartida, umidades mais altas entre 31 e 48% também foram consideradas propícias para a conservação das sementes de café e, já outros autores, afirmam que as sementes de café podem ser armazenadas tanto secas como úmidas (VIEIRA et al., 2007; BRAGHINI; FAZUOLI, 2007).

Assim, estas consideráveis discordâncias entre os resultados das pesquisas impedem a definição do melhor grau de umidade para armazenar as sementes, podendo inclusive variar de acordo com o estágio de maturidade fisiológica, o tempo de armazenamento dessas sementes e o ambiente onde elas serão conservadas (ELLIS et al., 1990 e 1991; HONG; ELLIS, 1992).

De acordo com Chen (2011), a criopreservação é uma alternativa viável para a conservação de várias espécies possibilitando o armazenamento por períodos prolongados. Mas o sucesso desta técnica depende da compreensão dos mecanismos biológicos envolvidos na tolerância à dessecação e ao congelamento das sementes (BERJAK; PAMMENTER, 2014). Coelho et al. (2017) e Figueiredo et al. (2018), estudando conservação do gênero *Coffea*,

constataram alta viabilidade das sementes após armazenamento em nitrogênio líquido, sendo um método promissor e viável para conservar sementes de café.

Apesar de avanços na área de propagação vegetativa *in vitro*, a propagação da espécie de café arábica ainda é, predominantemente, realizada por meio de mudas produzidas por meio do semeio de sementes, as quais apresentam lenta germinação e baixa tolerância à dessecação e longevidade (ROSA et al., 2007; TATAGIBA et al., 2010). Estas características dificultam a produção das mudas em época mais apropriadas ao plantio e ao estabelecimento da lavoura (BALIZA et al., 2013).

Além dos procedimentos técnicos de secagem e armazenamnto das sementes, é importante considerar o tipo de ambiente no qual as mudas serão cultivadas. De maneira geral, a produção de mudas de café é realizada em viveiros que seguem um padrão de construção estabelecido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (MATIELLO et al., 2005). Entretanto, a utilização de ambientes protegidos para a produção de mudas de diversas espécies já é uma realidade e tem se mostrado vantajosa (FERREIRA et al., 2004). Esses ambientes protegidos, como casa de vegetação, permitem amenizar situações adversas do meio ambiente favorecendo o desenvolvimento e qualidade fisiológica das mudas (MENDONÇA et al., 2008; REBOUÇAS et al., 2015), podendo ser também uma alternativa viável para a produção de mudas de café.

Portanto, estudar as possibilidades de produção de mudas de café, em diferentes épocas e ambientes, com sementes provenientes de diferentes tratamentos de secagem e de armazenamento, pode propiciar atividades mais rentáveis e, principalmente, lavouras mais produtivas, com maior lucratividade para o produtor.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Sementes de café

O fruto do cafeeiro é uma drupa elipsoide que, geralmente, contém dois *locus* e duas sementes. As sementes são plano-convexas, elípticas ou ovais, sulcadas longitudinalmente na face plana, e que se constituem de embrião, endosperma e espermoderma (película prateada) (RENA; MAESTRI, 1986).

A semente de café apresenta germinação lenta, mas a causa dessa lentidão ainda não foi totalmente elucidada. Há evidências de que a presença do endocarpo (pergaminho) na semente exerça influência na sua germinação, por impedir a absorção de água e oxigênio pela semente (BENDANÃ, 1962; VÁLIO, 1980). A remoção do pergaminho, aliado ao aumento da temperatura até 30 °C, propicia a germinação em períodos menores (RENA; MAESTRI, 1986). Outros estudos apontam que a lenta germinação das sementes de café está relacionada com baixos teores de substâncias semelhantes ao ácido giberélico (VÁLIO, 1976).

Além da lenta germinação, as sementes de café apresentam limitações em relação à tolerância, dessecação e baixa longevidade. Sementes de *C. arabica* são classificadas como sementes intermediárias (ELLIS et al., 1991), ou seja, são capazes de tolerar níveis de dessecação relativamente mais baixos em comparação às sementes recalcitrantes, porém, não toleram a perdas de água extremas como as sementes ortodoxas.

Essas limitações dificultam a conservação de sementes de café por longos períodos. Neste sentido, diversos estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de aperfeiçoar a metodologia de armazenamento de sementes de café. Dentre as diversas tecnologias, a técnica de criopreservação vem sendo amplamente pesquisada, sendo bastante promissora para conservação de espécies intermediárias e recalcitrantes (PAMMENTER; BERJAK, 2014; MICHALAK et al., 2015; KAYA et al., 2017; COELHO et al., 2015; FIGUEIREDO et al., 2017).

2.2 Armazenamento de sementes de café

2.2.1 Métodos convencionais

O comportamento intermediário das sementes de *Coffea arabica* L. foi proposto por Ellis et al. (1990, 1991) baseado no fato de que estas sobrevivem ao armazenamento por até

doze meses sob temperatura de 15 °C após dessecação a aproximadamente 10% (-90 MPa), mas apresenta redução na germinação com progressivas reduções na umidade das sementes e na temperatura do ar de armazenagem.

Inicialmente, as sementes de *Coffea arabica* L. foram classificadas como recalcitrantes (KING; ROBERTS, 1979), como ortodoxas (ROBERTS et al., 1984) e, posteriormente, inseridas numa categoria intermediária (ELLIS et al., 1990). Estas divergências quanto à classificação das sementes de café ainda persistem. Sementes ortodoxas têm sua longevidade ampliada com a redução do teor de água até um limite de $\pm 5\%$ (ELLIS et al., 1990) e as recalcitrantes são danificadas quando o seu grau de umidade se reduz abaixo de um valor relativamente alto, geralmente de 20%, variável com a espécie (ROBERTS, 1973). Já as sementes de comportamento intermediário toleram uma considerável secagem, comparado às sementes recalcitrantes, mas não toleram tão extrema perda de água como as ortodoxas e têm sua longevidade diminuída com a redução da temperatura de armazenamento e do grau de umidade.

No entanto, o grau de umidade ideal para a conservação das sementes do café ainda não está completamente definido, em virtude das divergências entre os resultados obtidos das pesquisas. Graus de umidade entre 9 e 11% foram admitidos como vantajosos em inúmeros estudos desde os anos de 1950 (BACCHI, 1955; BENDANNA, 1962; MIGLIORANZA, 1982; ROBERTS et al., 1984; HONG; ELLIS, 1992; HONG; ELLIS, 1995; EIRA et al., 1999; GENTIL et al., 2001; DUSSERT et al., 2006). Por outro lado, altas umidades, entre 31 e 48 também foram consideradas ideais para a conservação das sementes (KINDS, 1925; VARGAS, 1955; WELLMAN, 1961; BOUHARMONT, 1971; VÁLIO, 1976; VANDER DER VOSSEN, 1979; COUTURON, 1980; BARBOZA; HERRERA, 1990; BRACCINI et al., 1998; DUSSERT et al., 1998; BRACCINI et al., 1999; GUIMARAES et al., 2002; ROSA et al., 2005); e, adicionalmente, outros autores (MIRANDA, 1993; VEIGA et al., 2007; VIEIRA et al., 2007; BRAGHINI; FAZUOLI, 2007) verificaram que sementes de café podem ser armazenadas tanto secas como úmidas.

Assim, estas consideráveis discordâncias entre os resultados das pesquisas, impedem a definição do melhor grau de umidade para armazenar as sementes, para a obtenção das mudas em épocas mais adequadas ao plantio. Para a produção comercial de sementes de café, atualmente, prevalece a recomendação da colheita no estágio de maturação cereja, secagem até grau de umidade em torno de 11-12% (bu) e armazenamento em embalagens herméticas sob temperaturas entre 10 e 15 °C (ELLIS et al., 1990, 1991; HONG; ELLIS, 1992), ou armazenamento em ambiente com baixa umidade relativa. No entanto, as sementes perdem

qualidade após secagem e após o armazenamento, limitando, desta forma, a produção das mudas, que ainda é predominantemente realizada por meio da semeadura das sementes, para a espécie *Coffea arabica* L.

2.2.2 Criopreservação

Segundo Chen (2011), a criopreservação é uma das alternativas para a conservação de diversas espécies, tendo como vantagens a segurança e a possibilidade de armazenamento por longos períodos. Atualmente, considera-se que o material vegetal mais apropriado para esta conservação são as sementes, pois geralmente possuem tamanho reduzido, ocupam pequeno espaço, demandam menor custo para armazenamento e são de fácil manuseio (PRITCHARD, 2007; RAMALHO et al., 2012).

A criopreservação de sementes é feita basicamente por desidratação e posterior congelamento (PANIS; LAMBARDI, 2005; KAVIANI, 2011), mas atrelado ao sucesso desta técnica, está a compreensão dos mecanismos biológicos envolvidos na tolerância à dessecação e congelamento destas sementes. De acordo com Berjak e Pammenter (2014), o estresse causado pela dessecação pode ser considerado uma das principais causas de danos celulares associados à criopreservação.

Sendo assim, as estratégias utilizadas durante as etapas do congelamento de sementes, para manter a viabilidade e a integridade genética do germoplasma armazenado, depende dos atributos físicos, fisiológicos, de diferentes tipos de tecidos e diferentes espécies (WALTERS et al., 2008). Segundo Wang et al. (2014), os danos causados no material vegetal criopreservado podem ser graves ou moderados dependendo das técnicas utilizadas. Esses danos estão diretamente relacionados à sobrevivência e recuperação das plantas após o armazenamento em nitrogênio líquido.

Sementes ricas em óleo, consideradas intermediárias, como o citrus e o café, apresentam elevadas taxas de germinação após a criopreservação, devido a sua capacidade de evitar a formação de gelo intracelular (HOR et al., 2005; KAYA et al. 2017; DUSSERT et al., 2001; GRAVIER et al., 2011).

Além disso, Marzalina e Krishnapillay (1999), estudando a conservação de sementes intermediárias, reportaram que, para se conservar a alta germinação das sementes após a criopreservação deve-se armazená-las com 20% de umidade ou menos. No entanto, Kaya et al. (2017) estudando seis cultivares de citrus concluíram que a resposta à dessecação e o sucesso após a criopreservação desse gênero pode variar de acordo com a cultivar. Esses estudos têm

resultados semelhantes ao de Gravier et al. (2011) que constataram uma diminuição na sobrevivência das sementes de *Citrus reticulata* L., *Citrus sinensis* L., e *Citrus paradisi* L., após o armazenamento com alta umidade em nitrogênio líquido.

Coelho et al. (2015) estudando a criopreservação de sementes de café, concluíram que quanto mais rápida é a secagem, menores são os teores de água tolerados pelas sementes. Além disso, a tolerância das sementes de café a baixas temperaturas, depende da taxa em que são secadas e do teor de água das mesmas. Concomitantemente, Figueiredo et al. (2017), constataram que o teor de água de 20% (bu) permite maior sobrevivência das sementes de *Coffea arabica* L. à criopreservação, principalmente, quando são resfriadas a uma velocidade de $-1\text{ }^{\circ}\text{C min.}^{-1}$ até temperatura final de $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, antes da imersão no nitrogênio líquido. A melhor forma de criopreservar sementes de *Coffea arabica* L., no entanto, foi constatado por Coelho et al. (2017), os quais recomendam a secagem em sílica gel até 20% (bu) e imersão direta em nitrogênio líquido. Desta forma, as sementes apresentam alta porcentagem de germinação, após armazenamento por tempo indeterminado.

2.3 Propagação

A produção de mudas saudáveis e vigorosas é o primeiro passo para a formação de uma lavoura cafeeira produtiva. Atualmente, avanços na área de propagação do cafeeiro são alcançados utilizando-se técnicas como a propagação vegetativa *in vitro*, a exemplo da embriogênese somática e cultura de brotos apicais e axilares (VIEIRA; KOBAYASHI, 2000). Mas ainda assim, o modo mais utilizado para formação de lavouras de café é por meio de mudas provenientes de sementes, principalmente para a espécie *Coffea arabica* L. (CARVALHO; MÔNACO, 1965; ROSA et al. 2007; TATAGIBA et al., 2010).

A espécie *Coffea canephora* é uma planta diplóide ($2n=22$ cromossomos), auto-estéril e alógama por auto-incompatibilidade do tipo gametofítica (CONAGIN; MENDES, 1961). Por essa razão, Silveira e Fonseca (1995) descreveram uma metodologia de propagação assexuada a partir de fragmentos de ramos da planta, para obtenção de cultivares mais uniformes e produtivas. A propagação por via assexuada garante a transmissão das características desejáveis da planta mãe, possibilita escalonar a colheita, estimula a formação de ramos produtivos, proporciona maior resistência a doenças, e ainda permite a produção de mudas durante todo ano (PAULINO et al., 1985).

Já a espécie *Coffea arabica* L. é uma planta tetraploide, possui quatro conjuntos do número básico de cromossomos ($n=11$), totalizando 44 cromossomos. A propagação dessa

espécie é predominantemente por sementes, por se tratar de planta autógama. Isso significa que a sua reprodução ocorre, principalmente por meio de autofecundação, chegando a ter 90% das suas flores fertilizadas pela junção de pólen e óvulo oriundos da mesma planta (SAKIYAMA et al., 1999).

2.4 Mudanças de café

Para se obter um estande homogêneo e com longevidade produtiva é fundamental a formação de mudas vigorosas e sadias (COGO et al., 2012; BALIZA et al., 2013). Esses fatores são ainda mais decisivos quando a lavoura a ser formada for de espécies perenes, a exemplo do café, pois uma vez estabelecida, dificilmente será possível fazer correções. O recipiente e o substrato utilizados para a produção das mudas são fatores que podem influenciar no desenvolvimento inicial da lavoura de café.

Segundo Vallone et al. (2010), os recipientes mais usuais para a produção de mudas de cafeeiros são os saquinhos de polietileno e tubetes de polietileno rígido. Os saquinhos de polietileno apresentam dimensões de 9 a 11 cm de largura, por 18 a 22 cm de comprimento e são providos de furos na metade inferior para drenagem da água (GUIMARÃES; MENDES, 1998), enquanto que o tubete de polietileno rígido apresenta capacidade volumétrica inferior à dos saquinhos.

Observa-se uma tendência em utilizar recipientes de menores capacidades volumétricas visando reduzir o custo de produção das mudas. Entretanto, Johnson et al. (1996), citados por Samôr et al. (2002), relatam que o pequeno volume dos recipientes proporciona uma condição de estresse a mudas e, nesses casos, tende a ocorrer aumento de alocação de fotoassimilados para as raízes, em detrimento da parte aérea. De acordo com Reis et al. (1989), caso haja restrições ao desenvolvimento radicular, a má formação inicial das raízes pode persistir após o plantio, prejudicando o desenvolvimento das plantas no campo.

Vallone et al. (2010), estudando diferentes recipientes e substratos na produção de mudas de café, constataram que os recipientes e os substratos utilizados influenciam significativamente no desenvolvimento das mudas, sendo que os recipientes de maior volume, como o saquinho de polietileno, proporcionam mudas mais vigorosas. Esses resultados corroboram com a pesquisa desenvolvida por Cunha et al. (2015), na qual avaliam a influência de diferentes recipientes, na formação das mudas. Os autores afirmam que as mudas produzidas em saquinhos de polietileno têm desenvolvimento superior aos demais recipientes.

Na escolha do substrato, deve ser levado em conta as suas características físicas e químicas, a espécie a ser plantada, além dos aspectos econômicos, como por exemplo, baixo custo e disponibilidade (FONSECA, 2001). Dificilmente se encontra um material com todas as características para atender as condições para o ótimo crescimento e desenvolvimento das plantas (SOUZA et al., 1995). De modo geral, observa-se que diferentes tipos de resíduos agroindustriais vêm sendo progressivamente aplicados como substrato, visando oferecer alternativas para produtores de mudas e minimizando o impacto ambiental provocado pelos resíduos sólidos gerados (ROSA et al, 2002).

Outro fator decisivo para a formação de mudas vigorosas para o plantio é a época em que as mudas são produzidas. Geralmente, os frutos de café estão maduros para a colheita nos meses de abril/maio e disponíveis para comercialização a partir de junho, época na qual as temperaturas são mais baixas devido a estação do ano. Sendo assim, os viveiristas realizam a semeadura logo após a colheita das sementes, em função do baixo potencial de armazenagem das sementes, concentrando a obtenção das mudas em épocas que nem sempre são as mais favoráveis para o plantio do café (DIAS; BARROS, 1993). Além disso, as sementes de café apresentam germinação lenta, o que dificulta a formação de mudas em tempo hábil e em épocas com condições climáticas ideais à implantação da lavoura (GUIMARÃES, 2002).

A temperatura ideal para a germinação das sementes de café é de 30 °C, na qual a plântula demora em torno de 30 dias para germinar e emergir, em condições ideais de laboratório. No viveiro, onde ocorrem temperaturas mais baixas, comuns nos meses de junho a setembro, as sementes podem levar até 120 dias para germinarem (WENT, 1957; ROSA et al., 2007). Essa lenta germinação pode ser um risco para a sanidade das mudas, que ficam expostas a possíveis contaminações por pragas e doenças, além de onerar a produção devido ao longo período de permanência e manejo no viveiro.

Segundo Guimarães (2002), as mudas de café são plantadas a partir de dezembro, em função da dificuldade de produção antecipada dessas. Sendo assim, o tipo de muda é determinado pela época em que se realiza a semeadura, podendo ser muda de meio ano, quando o semeio é realizado de maio a junho e o plantio em janeiro, e muda de ano quando o semeio é realizado em setembro a outubro e o plantio no período chuvoso do ano seguinte.

Alguns trabalhos foram desenvolvidos com o objetivo de antecipar o plantio de mudas de café no campo, enfatizando a importância da instalação da lavoura em época apropriada, no início do período chuvoso. Essa antecipação do plantio das mudas em condições climáticas favoráveis propiciou o seu desenvolvimento inicial com menor taxa de replantio, além da

obtenção de alto índice de rendimento da primeira safra (RENA; MAESTRI 1986; CARVALHO et al., 1998; BALIZA et al., 2013).

2.5 Cultivo protegido

O cultivo protegido é um instrumento de proteção ambiental para produção de plantas. Por definição, casas de vegetação são estruturas construídas com diversos materiais, cobertas com plástico transparente que permita a passagem da luz solar para crescimento e desenvolvimento das plantas. O uso destas estruturas pode ser de caráter parcial ou pleno, dependendo das características exploradas. Um exemplo característico do uso parcial é a utilização de cobertura da estrutura para obter o efeito ‘guarda-chuva’, muito comum em regiões tropicais (REIS, 2005).

Atualmente, segundo Rebouças et al. (2015) o Brasil tem 22 mil hectares de cultivo protegido, nos quais são produzidas hortaliças, flores e mudas (SILVA et al., 2014). Na produção de mudas, as hortaliças são as mais comumente utilizadas, principalmente o tomate, mas o cultivo protegido tem sido usado também na produção de mudas de reflorestamento, citrus, fumo e café.

Sabe-se que existe uma forte relação da temperatura do ar com a incidência de radiação solar dentro da casa de vegetação. Nesse sentido, Farias et al. (1993), ao observarem o efeito da cobertura plástica sobre a temperatura e a umidade relativa do ar, verificaram que essas variáveis climáticas estão intimamente relacionadas com as condições atmosféricas do ambiente externo. Além disso, os autores afirmam que a temperatura do ar no interior da casa de vegetação, depende dos processos de incidência da radiação solar e reflexão pelos objetos no interior do ambiente protegido, condução das paredes, renovação do ar e troca de calor com o solo.

De maneira geral, a temperatura média diária no interior da casa de vegetação é sempre mais elevada que no exterior, e as diferenças variam em torno de 0,5 a 9,0 °C. As maiores diferenças ocorrem das 12 às 16 horas, horários de temperaturas do ar mais elevadas (FARIAS et al., 1993). Já a temperatura mínima do ar no interior, é igual, ou ligeiramente superior a observada externamente (VILLELE, 1993; BURIOL et al., 1993; HELDWEIN et al., 2001).

Reis (2012) também enfatiza a conexão existente destas duas variáveis climáticas, temperatura e radiação solar, ao afirmar que o cultivo agrícola de maneira protegida permite evitar que as plantas sofram com temperaturas inadequadas ao seu metabolismo e alta intensidade de radiação solar, durante todo o seu crescimento.

A utilização de ambientes protegidos tem sido vantajosa, já que contribui para uma melhor produtividade e qualidade das mudas (FERREIRA et al., 2004). A casa de vegetação permite amenizar situações adversas do meio ambiente como: geadas, excesso de chuvas, queda acentuada da temperatura durante a noite, excesso de incidência da radiação, além de prevenir o ataque de pragas e doenças (MENDONÇA et al., 2008; REBOUÇAS et al., 2015).

Apesar dos inúmeros benefícios da utilização de cultivo protegido, o produtor deve considerar as desvantagens desse sistema. Deve-se definir bem a área de implantação da casa de vegetação, devido a difícil rotação da cultura em função da estrutura construída. Além do alto custo de implantação e manutenção da estrutura. Normalmente, o plástico utilizado para se fazer a cobertura da casa de vegetação dura em torno de três anos e, após o seu uso, precisa ter destinação adequada, para não se acumular no meio ambiente. Outras ameaças para o cultivo protegido bem-sucedido é a falta de mão de obra qualificada e escassa, e pesquisas básicas sobre a prática do cultivo protegido em diversas culturas (SILVA, 2014).

REFERÊNCIAS

- ABIC. Associação Brasileira da Indústria de Café. **Produção Mundial de Café - Principais Países Produtores**. Safra 2015. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/cafe/cafeicultura-brasileira>>. Acesso em: 12 jan. 2019.
- ARAÚJO, R.F. et al. Conservação de sementes de café (*Coffea arabica* L.) despulpado e não despulpado. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 71-78, maio 2008.
- BACCHI, O. Seca de semente de café ao sol. **Bragantia**, Campinas, v. 14, n. 22, p. 225-236, nov. 1955.
- BALIZA, D.P. et al. Antecipação da produção e desenvolvimento da lavoura cafeeira implantada com diferentes tipos de mudas. **Coffee Science**, Lavras, v. 8, n. 1, p. 61-68, 2013.
- BARBOZA, R.; HERRERA, J. El vigor en la semilla de cafe y su relacion con la temperatura de secado, el contenido de humedad y las condiciones de almacenamiento. **Agronomia Costarricense**, San José, v. 14, n. 1, p.1-7, 1990.
- BENDAÑA, F.E. Fisiologia de los semillos de café I. Problemas relativos al almacenamiento. **Turrialba**, Costa Rica, v. 4, n.15, p. 93-96, 1962.
- BENDANNA, F.E. The physiology of coffee seeds. I. Problems related to storage. **Coffee**, San Jose, v. 4, n. 1, p. 73-75, jan./mar. 1962.
- BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. Cryostorage of germplasm of tropical recalcitrant-seeded species: Approaches and problems. **International Journal Plant Science**, Chicago, v. 175, n. 1, p. 29-39, jan. 2014.
- BOUHARMONT, P. La conservation des graines de cafeier, destinees a la multiplication au Cameroun. **Cafe, Cacao, The**, Paris, v. 15, n. 3, p. 202-210, jul./sept. 1971.
- BRACCINI, A.L. et al. Conservação de sementes de café-robusta (*Coffea canephora* Pierre ex Froehner) cultivar Conillon em função do grau de umidade e do tipo de embalagem. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 20, n. 2, p. 160-169, 1998.
- _____. Incidência de microrganismos em sementes de café robusta durante o armazenamento. **Bragantia**, v. 58, n. 2, p. 305-315, 1999.
- BRAGHINI, M.T.; FAZUOLI, L.C. Armazenamento de sementes de café. **O Agrônomo**, Campinas, v. 59, n. 1, p. 44-45, 2007.
- BURIOL, G.A. et al. Modificação na temperatura mínima do ar causado por estufas de polietileno transparente de baixa densidade. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 1, n. 3, p.43-49, set. 1993.
- CARVALHO, A.; MÔNACO, L.C. Botânica e melhoramento. In: KRUG et al. (Ed.). **Cultura e adubação do cafeeiro**. 2. ed. São Paulo: Instituto Brasileiro de Potassa, 1965. p. 49-62.

- CARVALHO, G. R. et al. Efeito do ácido giberélico e benzilaminopurina no crescimento in vitro de embriões de cafeeiro cv. Acaiá. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 6, p. 847-851, jun. 1998.
- CHEN, X. L. et al. Cryopreservation of in vitro-grow apical meristems of *Lilium* by droplet-vitrification. **South African Journal of Botany**, Amsterdam, v. 77, n. 2, p. 397-403, Apr. 2011.
- COELHO, S.V.B. et al. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de café secas em sílica gel e soluções salinas saturadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 50, n. 6, p. 483-491, jun. 2015.
- COGO, F.D.; SILVA, E.A.; CAMPOS, K.A. Formação de mudas de cafeeiro sob doses crescentes de fósforo. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 8, n. 14, p. 598-605, 2012.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: café**, terceiro levantamento, setembro 2017. Brasília: Conab, v. 4, n. 3, p. 1-106, 2018.
- CONAGIN, C.H.T.M.; MENDES, A.J.T. Pesquisas citológicas e genéticas em três espécies de *Coffea*; autoincompatibilidade em *Coffea canephora*. **Bragantia**, v. 20, p. 787- 804, 1961.
- 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. **Cafe Cacao The**, Paris, v. 24, n. 1, p. 27-32, 1980.
- CUNHA, A.J. et al. Influência da formação de mudas em diferentes recipientes sobre o desenvolvimento inicial de cafeeiros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 41., 2015, Poços de Caldas. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa Café, 2015. (1 CD-ROM), 2 p.
- DIAS, M.C.L.L.; BARROS, A.S.R. Conservação de sementes de café (*Coffea arabica* L) em diferentes embalagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 15, n. 2, p. 197-202, 1993.
- DULLOO, M.E. et al. Cost efficiency of cryopreservation as a long-term conservation method for coffee genetic resources. **Crop Science**, v. 49, n. 6, p. 2123-2138, 2009.
- DUSSERT, S. et al. Cryopreservation of seeds of four coffee species (*Coffea arabica*, *C. costatifructa*, *C. racemosa* and *C. sessiliflora*): importance of water content and cooling rate. **Seed Science Research**, v. 8, p. 9-15, 1998.
- DUSSERT, S. et al. Tolerance of coffee (*Coffea* spp.) seeds to ultra-low temperature exposure in relation to calorimetric properties of tissue water, lipid composition, and cooling procedure. **Physiologia Plantarum**, v. 112, n. 4, p. 495- 504, aug. 2001.
- DUSSERT, S. et al. Oxidative stress, phospholipid loss and lipid hydrolysis during drying and storage of intermediate seeds. **Physiologia Plantarum**, v. 127, p. 192-204, 2006.
- EIRA, M.T.S. et al. Tolerance of *coffea* spp. Seeds to desiccation and low temperature. **Rev. Bras. Fisiol. Veg.**, v. 11, v. 2, p. 97-105, jan. 1999.

ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H. An intermediate category of seed storage behavior? I. Coffee. **Journal of Experimental Botany**, Ottawa, v. 41, n. 230, p. 1167-1174, sept. 1990.

_____. An intermediate category of seed storage behavior? II. Effects of provenance, immaturity and imbibition on desiccation tolerance in coffee. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 42, n. 238, p. 653-657, 1991.

ELLIS, R.H. The longevity of seeds. **HortScience**, Alexandria, v. 26, n. 9, p. 1119-1125, 1991.

FAO. Food and Agriculture Organization. 1993. Ex situ storage of seeds, pollen and in vitro cultures of perennial woody plant species. **FAO Forestry Paper 113**. Rome, Italy, 1993.

FARIAS, J.R.B. et al. Efeito da cobertura plástica de estufa sobre a radiação solar. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 1, n. 1, p. 31-6, jan. 1993.

FERREIRA, M.A. et al. Modificação parcial do ambiente de cultivo da videira 'Cabernet Sauvignon' sobre diferentes porta-enxertos: efeito sobre a produção e o teor de sólidos solúveis. **Bragantia**, v. 63, p. 439-445, 2004.

FIGUEIREDO, M.A. et al. Exploratory studies for cryopreservation of *Coffea arabica* L. seeds. **J. Seed Sci.**, Londrina, v. 39, n. 2, p. 150-158, june. 2017.

FONSECA, T.G. **Produção de mudas de hortaliças em substratos de diferentes composições com adição de CO₂ na água de irrigação**. 2001. 72 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, 2001.

GENTIL, D.F.O.; SILVA, W.R.; MIRANDA, D.M. Grau de umidade e temperatura na conservação de sementes de café. **Bragantia**, Campinas, v. 60, n. 1, p. 53-64, 2001.

GRAIVER, N.; CALIFANO, A.; ZARITZKY, N. Partial dehydration and cryopreservation of Citrus seeds. **J Sci Food Agric**, v. 91, n. 14, p. 2544-2550, nov. 2011.

GUIMARÃES, R.J. et al. Efeitos da citocinina, giberelina e remoção do endocarpo na germinação de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 22, n. 3, p. 390-396, maio/jun. 1998.

GUIMARÃES, R.J.; MENDES, A.N.G.; SOUZA, C.A.S. **Cafeicultura**. Lavras: UFLA, 2002. 317 p.

GUIMARÃES, R.M. et al. Tolerância à dessecação em sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 1, p. 128-139, jan./fev. 2002.

HELDWEIN, A.B. et al. Variação vertical de temperatura do ar no interior de estufas plásticas. **Revista Argentina de Agrometeorologia**, v. 1, n. 1, p. 35-42, 2001.

HONG, T.D.; ELLIS, R.H. Optimum air-dry seed storage environments for arabica coffee. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 20, p. 547-560, 1992.

HONG, T.D.; ELLIS, R.H. Interspecific variation in seed storage behaviour within two genera – *Coffea* and *Citrus*. **Seed Sci. & Technol**, v. 23 p. 165-181, 1995.

HOR, Y.L. et al. Optimal hydration status for cryopreservation of intermediate oily seeds: citrus as a case study. **Ann Bot**, v. 95, n. 7, p. 1153-1161. jun. 2005.

JOHNSON, J.M. et al. Growth, water relations and solute accumulation in osmotically stressed seedlings of the *Colophospermum mopane*. **Tree Physiology**, v. 16, n. 8, p. 713-718, aug. 1996.

KAVIANI, B. Conservation of plant genetic resources by cryopreservation. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 6, p. 778-800, june, 2011.

KAYA, E. et al. Cryopreservation of citrus seed via dehydration followed by immersion in liquid nitrogen. **Turkish journal of biology**, v. 41, n. 1, p. 242-248, oct. 2017.

KINDS, R. Note relative a la conservation, a la duree germinative et a la resistance au froid des graines de cafeiers. **Bulletin Agricole du Congo Belge**, Congo, v. 16, n. 3-4, p. 540-541, sept. 1925.

KING, M.W.; ROBERTS, E.H. The storage of recalcitrant seeds: achievements and possible approaches. **International Board for Plant Genetic Resources**, Rome, 1979.

MARZALINA, M.; KRISHNAPILLAY, B. Recalcitrant Seed Biotechnology Applications to Rain Forest Conservation. In: BENSON, E.E. (Ed.). **Plant Conservation Biotechnology**. London: Taylor & Francis, 1999. p. 265-276.

MENDONÇA, V. et al. Diferentes ambientes e Osmocote® na produção de mudas de tamarindeiro (*Tamarindus indica*). **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 391-397, apr. 2008.

MICHALAK, M.; PLITTA, B.P.; CHMIELARZ, P. A new insight in desiccation tolerance and cryopreservation of mazzard cherry (*Prunus avium* L.) seeds. **Central European Journal of Biology**, v. 10, n. 1, p. 354-364, may. 2015.

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

MIRANDA, J.M. et al. Estudos de alguns fatores que influenciam a duração da viabilidade de sementes de café. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 15, n. 2, p. 215-220, 1993.

MONDEGO, J.M.C. et al. An EST-based analysis identifies new genes and reveals distinctive gene expression features of *Coffea arabica* and *Coffea canephora*. **BMC Plant Biology**, London, v. 11, n. 30, p. 1-23, feb. 2011.

PAMMENTER, N.W; BERJAK, P. Physiology of desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds and the implications for cryopreservation. **International Journal Plant Science**, Chicago, v. 175, n. 1, p. 21-28, jan. 2014.

- PANIS B.; LAMBARDI, M. Status of cryopreservation technologies in plants (crops and forest trees). In: INTERNATIONAL WORKSHOP –THE ROLE OF BIOTECHNOLOGY – FOR THE CHARACTERISATION AND CONSERVATION OF CROP, Forestry, Animal and Fishery Genetic Resources. 2005. **Anais...** Turin, 2005, p. 43–54.
- PAULINO, A.J.; MATIELLO, J.B.; PAULINI, A.E. **Produção de mudas de café conilon por estacas**. Rio de Janeiro, RJ: MIC/IBC/GERCA, 1985. 12 p. (IBC/GERCA. Instruções técnicas sobre a cultura de café no Brasil, 18).
- PRITCHARD, H.W. Cryopreservation of desiccation-tolerant seeds. In: DAY, J.G.; STACEY, G.N. (Eds.). **Cryopreservation and freeze-drying protocols**. New Jersey: Human Press Inc Totowa, 2007, p. 185-201.
- RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A.F.B.; SANTOS, J.B.; NUNES, J.A.R. **Aplicações da Genética Quantitativa no Melhoramento de Plantas Autógamas**. Lavras: UFLA, 2012. 522 p.
- REBOUÇAS, P.M. et al. Radiação solar e temperatura do ar em ambiente protegido. **Revista Agroambiental**, Pouso Alegre, v. 7, n. 2, p. 115-125, jun. 2015.
- REIS, G.G. et al. Crescimento de *Eucalyptus camaldulensis*, *E. grandis* e *E. cloeziana* sob diferentes níveis de restrição radicular. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 13, n. 1, p. 1-18, 1989.
- REIS, N.V.B. **Construção de estufas para produção de hortaliças nas Regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste**. Brasília, DF, dez. 2005. (Circular Técnica, 38).
- REIS, L.S.; Componentes da radiação solar em cultivo de tomate sob condições de ambiente protegido. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 16, n. 7, p. 739-744, 2012.
- 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: Potafos, 1986. p.13-85.
- ROBERTS, E.H; KING, M.W.; ELLIS, R.H. Recalcitrant seeds: their recognition and storage. In: **Crop genetic resources: conservation and evaluation**. (Eds.). HOLDEN, J.H.W.; WILLIAMS, J.T. London: George Allen and Unwim, 1984. p. 38-52.
- ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Technology**, v. 1, n. 4, p. 499-514, 1973.
- ROSA, M.F. et al. Caracterização do pó de casca de coco verde usado como substrato agrícola. **Embrapa Agroindústria Tropical**. n. 54, p 1-6, maio, 2002. (Comunicado técnico).
- ROSA, S.D.V.F. et al. Effects of different drying rates on the physiological quality of *Coffea canephora* Pierre seeds. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v. 17, n. 2, p. 199-205, apr./june 2005.

- ROSA, S.D.V.F. et al. Formação de mudas de *Coffea arabica* L. cv. rubi utilizando sementes ou frutos em diferentes estágios de desenvolvimento. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 349-356, abr. 2007.
- SAKIYAMA, N.S.; PEREIRA, A.A.; ZAMBOLIM, L. Melhoria de café arábica. In: BORÉM, A. (Ed.). **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999. p. 189-204.
- SAMÔR, O.J. M et al. Qualidade de mudas de angico e sesbânia, produzidas em diferentes recipientes e substratos. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 26, n. 2, p. 209-215, 2002.
- SILVA, B.A.; SILVA, A.R.; PAGIUCA, L.G. Cultivo Protegido: Em busca de mais eficiência produtiva! **Revista Técnica Hortifruti Brasil**, p. 10-18, 2014.
- SILVEIRA, J.S.M.; FONSECA, A.F.A. Produção de mudas clonais de café conilon em câmara úmida sob cobertura de folhas de palmeira. Vitória: EMCAPA, 1995. 15 p. (EMCAPA. Documentos, 85).
- SOUZA, M.M.; LOPEZ, L.C.; FONTES, L.E. Avaliação de substratos para o cultivo do crisântemo (*Chrysanthemum morifolium* Ramat., Compositae) White Polaris em vasos. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 1, n. 2, p. 71-74, 1995.
- TATAGIBA, S.D.; PEZZOPANE, J.E.M.; REIS, E.F. Crescimento vegetativo de mudas de café arábica (*Coffea arabica* L.) submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Coffee Science**, Lavras, v. 5, n. 3, p. 251-261, 2010.
- VÁLIO, I.F.M. Germination of coffee seeds (*Coffea arabica* L.) cv. Mundo Novo. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 27, n. 100, p. 983-991, 1976.
- _____. Inhibition of germination of coffee seeds (*Coffea arabica* L. cv. Mundo Novo) by the endocarp. **Journal of Seed Technology**, East Lansing, v. 5, n. 1, p. 32-39, 1980.
- VALLONE, H.S. et al. Diferentes recipientes e substratos na produção de mudas de cafeeiros. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 1, p. 55-60, jan./fev. 2010.
- VAN DER VOSSSEN, 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.
- VARGAS, E.V. Como conservar la semilla del cafe. **Rev. Agric. Comer**, Panamá, v. 13, n. 26, p. 44, 1955.
- VEIGA, A.D. et al. Armazenabilidade de sementes de café colhidas em diferentes estádios de maturação e submetidas a diferentes métodos de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 83-91, jan./fev. 2007.
- VIEIRA, L.G.E.; KOBAYASHI, A.K. Micropropagação do cafeeiro. In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL, 1., 2000. **Anais...** Poços de Caldas, v. 1, p. 147-167, 2000.
- VIEIRA, A.R. et al. Armazenamento de sementes de cafeeiro: ambientes e métodos de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 76-82, abr. 2007.

- VILLELE, O. Le contexte climatique et culture de la serre. 1 - La serre, agent de modification du climat. In: **L'INRA et les cultures sous serre**, Paris: INRA, 1993. p.21-27.
- WALTERS, C. et al. Cryopreservation of recalcitrant (i.e. desiccation-sensitive) seeds. In: REED, B. M. (Ed.). **Plant Cryopreservation: a practical guide**. New York: Springer, 2008. p. 465-484.
- WANG, R.R. et al. Shoot recovery and genetic integrity of *Chrysanthemum morifolium* shoot tips following cryopreservation by droplet-vitrification. **Scientia Horticulture**, v. 176, n. 11, p. 330–339, sep. 2014.
- WELLMAN, F.L. **Coffee: botany, cultivation and utilization**. London: Leonard Hill, 1961. 488 p.
- WENT, F. W. **The experimental control of plant growth: with special reference to the Earhart Plant Research Laboratory at the California Institute of Technology**. New York: The Ronald, 1957. 343 p. (Chronica Botanica - International Biological and Agricultural Series, v. 17).

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS*

ARTIGO 1 - Produção de mudas de *Coffea arabica* L. em diferentes épocas com sementes criopreservadas

RESUMO

As plantas de café produzem sementes com baixa tolerância a dessecação e sensíveis a baixas temperaturas, o que limita a conservação da sua viabilidade após o armazenamento. O uso da criopreservação (armazenamento em nitrogênio líquido) é uma alternativa promissora para a conservação de espécies recalcitrantes e intermediárias como o café. Sendo assim, a criopreservação é um método de armazenamento viável que pode favorecer a produção de mudas de café em épocas mais favoráveis para o plantio da espécie. Com isso, objetivou-se com esse trabalho estudar a formação de mudas de café em diferentes épocas, com o uso de sementes de *Coffea arabica* L. armazenadas em câmara fria e em criopreservação, submetidas a diferentes tipos de secagem. As sementes foram submetidas a quatro tratamentos de secagem, em secador estacionário até atingirem 12% e 32% de umidade, em solução salina saturada até atingirem 17% de umidade e em sílica gel até atingirem 17% de umidade. As sementes com 12% e 32% de umidade foram armazenadas em câmara fria e seca, e as sementes com 17% em criotânques, por período de seis meses. Antes e após o armazenamento, as sementes foram submetidas a avaliação fisiológica e, posteriormente, foram semeadas em saquinhos plásticos para a produção de mudas em viveiro e posterior avaliação dessas em duas safras consecutivas, 2015/2016 e 2016/2017. Observa-se o melhor desempenho fisiológico, antes e após o armazenamento, em mudas provenientes de sementes secadas até 32%. Além disso, as mudas provenientes de sementes secadas em sílica gel obtiveram resultados significativamente iguais aos das mudas provenientes de sementes 32% de umidade após o armazenamento de seis meses. Em contrapartida, as sementes secadas em solução salina saturada, e posteriormente criopreservadas, obtiveram os piores resultados em todas as análises realizadas, antes e após o armazenamento. A utilização de sementes de *Coffea arabica* L. secadas em sílica gel e criopreservadas é uma alternativa viável para a produção de mudas em qualquer época do ano.

Palavras-chave: Criopreservação. Sílica gel. Armazenamento. Café.

ABSTRACT

Coffee plants produce seeds with low desiccation tolerance and sensitive to low temperatures, what limitate the conservation of their viability after the storage. The use of cryopreservation (storage in liquid nitrogen) is a promising alternative for the conservation of recalcitrant and intermediate species such as coffee. With this, the cryopreservation is a viable storage method which allow the production of coffee seedlings in periods more favorable to the planting of the species. With this, the objective in this work was to study the formation of coffee seedlings at different periods, with the use of *Coffea arabica* L. seeds stored in a cold chamber and in cryopreservation, submitted to different types of drying. Seeds were submitted to four drying treatments in a stationary dryer until they reached 12% and 32% of humidity, in saturated salt solution until reaching 17% of humidity and in silica gel until reaching 17% of humidity. Seeds with 12% and 32% of humidity were stored in a cold and dry chamber, and the seeds with 17% in cryochambers for a period of six months. Before and after the storage, seeds were physiologically evaluated and after, were sown in plastic bags for the production of seedlings in nursery and subsequent evaluation of these in two consecutive harvests 2015/2016 and

2016/2017. The best physiological performance was observed, before and after storage, in seedlings from dried seeds up to 32%. Beyond this, seedlings from dried seeds on silica gel presented results significantly similar to seedlings from seeds with 32% of humidity after storage of six months. On the other hand, dried seeds in saturated saline solution and later cryopreserved obtained the worst results in all analyzes realized, before and after storage. The use of *Coffea arabica* L. dried seeds on silica gel and cryopreserved is a viable alternative for the production of seedlings at any period of the year.

Keywords: Cryopreservation. Silica gel. Storage. Coffe.

1 INTRODUÇÃO

Avanços na área de propagação do cafeeiro têm sido alcançados utilizando-se técnicas desenvolvidas em programas de melhoramento, como a propagação vegetativa *in vitro*. Mas ainda assim, o modo mais utilizado para formação de lavouras de café é por meio de mudas provenientes de sementes, principalmente para a espécie *Coffea arabica* L. (CARVALHO; MÔNACO, 1965; ROSA et al., 2007; TATAGIBA et al., 2010).

As espécies do gênero *Coffea*, produzem sementes recalcitrantes ou intermediárias, as quais apresentam fatores inerentes à espécie como a baixa tolerância à dessecação e a sensibilidade a baixas temperaturas, que limitam a produção e conservação da sua viabilidade (ARAÚJO et al., 2008; ABREU et al., 2014; COELHO et al., 2015; FIGUEIREDO et al., 2017).

Geralmente, os frutos de café estão maduros para a colheita nos meses de abril/maio e disponíveis para comercialização a partir de maio/junho, época na qual as temperaturas são mais baixas devido a estação do ano. Sendo assim, os viveiristas realizam a semeadura logo após a colheita das sementes, em função do baixo potencial de armazenagem dessas, concentrando a obtenção das mudas em épocas que nem sempre são as mais favoráveis para o plantio do café (DIAS; BARROS, 1993). Além disso, as sementes de café apresentam germinação lenta, o que dificulta a formação de mudas em tempo hábil e em épocas com condições climáticas ideais à implantação da lavoura (GUIMARÃES, 2002).

A temperatura ideal para a germinação das sementes de café é de 30 °C, na qual as sementes demoram em torno de 30 dias para germinarem e formarem plântulas em condições de laboratório. Em temperaturas mais baixas, comuns nos meses de junho a setembro, as sementes podem levar até 120 dias para germinarem em condições de viveiro (WENT, 1957; ROSA et al., 2007). Essa lenta germinação pode ser um risco para a sanidade das mudas, que

ficam expostas a possíveis contaminações por pragas e doenças, além de onerar a produção devido ao longo período de permanência e manejo no viveiro.

As mudas, para serem levadas ao campo, devem ter, no mínimo, de 3 a 6 pares de folhas verdadeiras. Segundo Matiello et al. (2005), as mudas com desenvolvimento normal estão aptas ao plantio, e as pouco desenvolvidas devem ser reencanteiradas para futuro aproveitamento, já as defeituosas devem ser descartadas.

Após a etapa de produção das mudas ocorre a implantação da lavoura e é nessa fase crítica para o sucesso do estande que o agricultor pode ter outro desafio. Como a disponibilidade de sementes para produção de mudas ocorre a partir do mês de junho e as mudas demoram em torno de 6 meses (muda de meio ano) para atingirem o desenvolvimento ideal de plantio, apenas em dezembro/janeiro essas mudas estarão prontas para serem levadas a campo. Mas nessa época, nas principais regiões produtoras de café do Brasil, comumente ocorre um fenômeno meteorológico onde se tem um período de estiagem, acompanhado por calor intenso (25-35 °C), forte insolação e baixa umidade relativa em plena estação chuvosa, conhecida como veranico (ASSUNÇÃO; LEITÃO JÚNIOR, 2006).

Em estudos prévios, Assunção e Leitão Júnior (2006), Menezes et al. (2008), Roldão e Ferreira (2015), identificaram e classificaram os veranicos em categorias, de acordo com sua duração. Esses estudos são pautados principalmente na relação do veranico com as práticas agrícolas. De acordo com Hernandez et al. (2003), as perdas nas produções variam com a intensidade e duração do estresse hídrico. Segundo Farias et al. (2008), o déficit hídrico afeta vários aspectos do crescimento vegetal e os efeitos mais discrepantes se referem à redução do tamanho das plantas, de sua área foliar e da produtividade da cultura. Lemos et al. (2010) constataram alterações no metabolismo de nitrogênio em plantas de café arábica, que foram afetadas pelo veranico.

Portanto, é possível constatar que a formação de mudas vigorosas e saudáveis é fator fundamental para se obter um estande homogêneo e com longevidade produtiva (COGO et al., 2012; BALIZA et al., 2013). Esses fatores são ainda mais decisivos quando a lavoura a ser formada for de espécies perenes, a exemplo do café, pois uma vez estabelecida, dificilmente será possível fazer correções. Para viabilizar a disponibilidade de sementes e mudas em épocas mais favoráveis, atendendo as necessidades dos produtores, é importante que a viabilidade das sementes de café seja mantida ao longo do período de armazenamento, possibilitando assim, a condução e implantação das mudas em épocas mais favoráveis à espécie no início do período chuvoso.

O armazenamento de sementes de café tem sido muito estudado, desde os anos de 1990 até recentemente. Apesar dos grandes esforços nas pesquisas, o teor de água ideal para a conservação de sementes de café ainda permanece indefinido, sendo constatadas discrepâncias e controvérsias. Tanto o armazenamento das sementes com mais alta umidade, em torno de 35 a 40% bu (VASCONCELOS et al., 1992; SILVA; DIAS, 1985; BARBOZA; HERRERA, 1990), como em condições secas, em torno de 10% bu (MIRANDA et al., 1993; MIGLIORANZA, 1982; ELLIS et al., 1991), tem sido comprovado como condições adequadas para a conservação da qualidade fisiológica.

Neste sentido, diversos estudos têm sido desenvolvidos com o objetivo de aperfeiçoar a metodologia do armazenamento de sementes de café. Dentre as diversas tecnologias, o uso de criopreservação (armazenamento em nitrogênio líquido) vem sendo amplamente pesquisado e tem se mostrado bastante promissor para a conservação de espécies intermediárias e recalcitrantes (BERJAK; PAMMENTER, 2013; MICHALAK et al., 2013; MICHALAK et al., 2015; KAYA et al., 2017).

Segundo Chen (2011), a criopreservação é uma das alternativas para a conservação de diversas espécies, tendo como vantagens a segurança e possibilidade de armazenamento por longos períodos. A criopreservação de sementes é feita, basicamente, por desidratação do material e posterior congelamento, mas atrelado ao sucesso dessa técnica está a compreensão dos mecanismos biológicos envolvidos na tolerância à dessecação e ao congelamento dessas sementes.

Em estudos desenvolvidos por Coelho et al. (2015) foi concluído que, quanto mais rápida é a secagem, menores são os teores de água tolerados pelas sementes de café. Além disso, a tolerância das sementes de café a baixas temperaturas depende da taxa em que são secadas e do teor de água das mesmas. Concomitantemente, Figueiredo et al. (2017), constataram que o teor de água de 20% (bu) permite maior sobrevivência das sementes de *Coffea arabica* L. à criopreservação, quando resfriadas a uma velocidade de $-1\text{ }^{\circ}\text{C min.}^{-1}$ até a temperatura final de $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Nestes estudos, foi confirmada a umidade de 17% (base úmida), correspondente a 20% em base seca, como a ideal para a conservação das sementes em nitrogênio líquido. Coelho et al. (2017) constataram que as sementes de ‘Catuaí amarelo’ secadas em sílica gel foram mais tolerantes a criopreservação.

Com isso, objetivou-se com esse trabalho, estudar a formação de mudas de cafeeiro em diferentes épocas, com o uso de sementes de *Coffea arabica* L. secadas por diferentes métodos, e armazenadas em câmara fria e em criopreservação.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Sementes da espécie *Coffea arabica* L., cultivar 'Catuaí amarelo' IAC 62, foram colhidas em lavouras da Fazenda Experimental da Fundação Procafé, município de Varginha, MG, Brasi, em duas safras consecutivas, 2015/2016 e 2016/2017. Os frutos foram descascados mecanicamente e as sementes desmuciladas por fermentação em água, por um período de 24 horas a 25 °C. Após o processo de fermentação, as sementes foram submetidas a uma pré-secagem para remoção da água superficial, antes da aferição do teor de água e da avaliação da qualidade inicial pela germinação.

A determinação do teor de água foi realizada pelo método de estufa a 105 °C, durante 24 horas (BRASIL, 2009), com duas repetições de 10 sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem com base no peso úmido das sementes.

Após a avaliação inicial, as sementes foram submetidas a quatro tratamentos de secagem: sementes secadas em secador estacionário de pequena escala até atingirem 12 % e 32% de umidade; sementes secadas em solução salina saturada de NaCl até atingirem 17% de umidade e; sementes secadas em sílica gel até atingirem 17% de umidade. A umidade das sementes foi calculada com base no peso úmido.

As secagens com sílica gel e solução salina saturada de NaCl foram realizadas colocando-se as sementes, com o teor de água inicial determinado, em recipientes herméticos contendo 60 gramas de sílica gel ativada ou 40 gramas de NaCl + 10 ml de água, os quais foram mantidos em câmaras B.O.D (*Biochemical Oxygen Demand*), reguladas a 25 °C, na ausência de luz. Tomou-se o cuidado para que as sementes não ficassem em contato direto com os agentes secantes e a perda de água durante a secagem foi monitorada até as sementes atingirem 17% (base úmida).

As sementes com 12% e 32% de umidade foram armazenadas em câmara fria e seca, e as sementes com 17% em criotânques, por período de seis meses. Antes e após o armazenamento, as sementes foram submetidas à avaliação fisiológica. Assim, os tratamentos investigados foram: sementes com 12% de umidade (S1) ou com 32% (S2) armazenadas em câmara fria e seca, em temperatura de 10 °C e umidade relativa de 45%; e com 17% secada em NaCl (S3) ou em sílica gel (S4), armazenadas em nitrogênio líquido, em temperatura de -196 °C (crioarmazenamento). Estes tratamentos utilizados para o estudo de formação de mudas também estão sumarizados na Tabela 1. O estudo foi realizado com sementes colhidas na safra 2015/2016 e repetido na safra seguinte, de 2016/2017.

Tabela 1 – Descrição dos tratamentos de secagem e de armazenamento das sementes de *Coffea arabica* L. colhidas em duas safras consecutivas, para a formação de mudas.

Tratamento	Umidade (bu) (%)	Método de secagem	Armazenamento
S1	12	Secador estacionário	Câmara fria*
S2	32	Secador estacionário	Câmara fria
S3	17	Solução salina saturada de NaCl	Nitrogênio líquido**
S4	17	Sílica gel	Nitrogênio líquido

*Temperatura de 10°C e umidade relativa de 45%; **Sob temperatura de -196°C.

Fonte: Da autora (2019).

2.1 Avaliação fisiológica das sementes

A avaliação das sementes foi realizada antes e após o período de armazenamento, por meio dos seguintes testes.

- a) Teste de germinação: realizado com quatro repetições de 25 sementes para cada tratamento, semeadas em papel de germinação umedecidos com água destilada, na quantidade de duas vezes e meia o peso do papel seco. Os rolos de germinação foram acondicionados em germinador, regulado a 30 °C, na presença de luz (BRASIL, 2009). Foram determinadas as porcentagens de protrusão radicular aos 15 dias e plântulas normais aos 30 dias após a semeadura, sendo computadas como plântulas normais, aquelas que apresentavam raiz principal e pelo menos duas raízes laterais saudáveis e bem formadas. No teste de germinação determinou-se também a porcentagem de plântulas normais fortes, sendo computadas aquelas que apresentavam alça hipocotiledonar com, no mínimo três centímetros; porcentagem de plântulas normais fracas, sendo computadas aquelas que apresentavam alça hipocotiledonar menor que três centímetros e; porcentagem de plântulas com folhas cotiledonares expandidas, aos 45 dias após a semeadura.
- b) Peso seco das plântulas: realizada aos 45 dias da semeadura, nas plântulas normais, sendo que as partes aéreas foram separadas das raízes, com auxílio de um bisturi e o material vegetal colocado em sacos de papel e submetido à secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60 °C por 4 a 5 dias ou até peso constante. O peso seco foi determinado em balança de precisão, sendo os resultados expressos em gramas/plântula.

2.2 Produção e avaliação das mudas

Após a análise fisiológica das sementes, foi realizada a semeadura em sacos plásticos para mudas (11 x 22 cm) contendo substrato comercial Tropstrato, semeando-se duas sementes por saquinho, sendo que, após emergência, uma delas foi erradicada. Após a semeadura, as sementes foram cobertas com dois centímetros de substrato. Antes da semeadura, as sementes criopreservadas foram descongeladas em banho-maria por 2 minutos a 40 °C, antes de serem semeadas.

As mudas foram instaladas em blocos casualizados, com três repetições, sendo que cada bloco continha quatro tratamentos com dezesseis mudas, totalizando sessenta e quatro mudas por bloco. As quatro mudas centrais de cada tratamento foram consideradas úteis para as avaliações.

Os saquinhos contendo as sementes de cada tratamento foram mantidos em viveiro, no Setor de Cafeicultura, do Departamento de Agricultura da UFLA. Os tratos culturais foram realizados de acordo com as recomendações de Guimarães e Mendes (1998). As mudas foram avaliadas quando pelo menos 90% das plantas do tratamento que mais se desenvolveu, alcançaram o estágio mínimo para comercialização, isto é, quando apresentaram de três a quatro pares de folhas verdadeiras (GUIMARÃES; MENDES, 1998).

Posteriormente, as mudas úteis de cada parcela experimental, foram avaliadas analisando-se as seguintes medições.

- a) Diâmetro de caule: obtido por meio de um paquímetro eletrônico, medindo-se os diâmetros no ponto imediatamente abaixo da inserção das folhas cotiledonares, e calculando-se os diâmetros médios, com os resultados expressos em mm por muda.
- b) Altura média da muda: obtido pela medição da região compreendida entre o colo e o ponto de inserção dos brotos terminais das mudas, do ramo ortotrópico, calculando-se a média entre as mudas consideradas úteis, com os resultados expressos em cm por muda.
- c) Área foliar: obtida por meio do produto da largura x comprimento x 0,667 (coeficiente de área foliar) x 2 (par de folhas), proposta por Barros et al. (1973) com os resultados expressos em cm².
- d) Número de pares de folhas verdadeiras: sendo computados os números de pares de folhas das plantas úteis da parcela e calculado o número médio de folhas verdadeiras por muda.
- e) Peso seco de parte aérea e de raízes: foi obtido após secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60 °C das raízes e das partes aéreas separadamente, até atingirem peso

constante. Posteriormente, foi feita a pesagem e os resultados médios expressos em gramas/muda.

2.3 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado para a avaliação fisiológica das sementes foi inteiramente casualizado com quatro repetições. As mudas foram instaladas em blocos casualizados com três repetições em esquema fatorial de 4 tratamentos (S1, S2, S3 e S4) x 2 épocas (antes e após seis meses de armazenamento) x 2 safras (safra 2015/2016 e safra 2016/2017), perfazendo 16 parcelas experimentais. Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade utilizando-se o programa estatístico Sisvar®.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação fisiológica das sementes

As sementes de café utilizadas nestes experimentos, para investigar a formação de mudas em época mais propícia ao plantio, apresentaram após colheita e pré-secagem, teores de água de 43% (primeira safra) e 42% (segunda safra), bem como porcentagem de germinação de 90% e 94%, respectivamente.

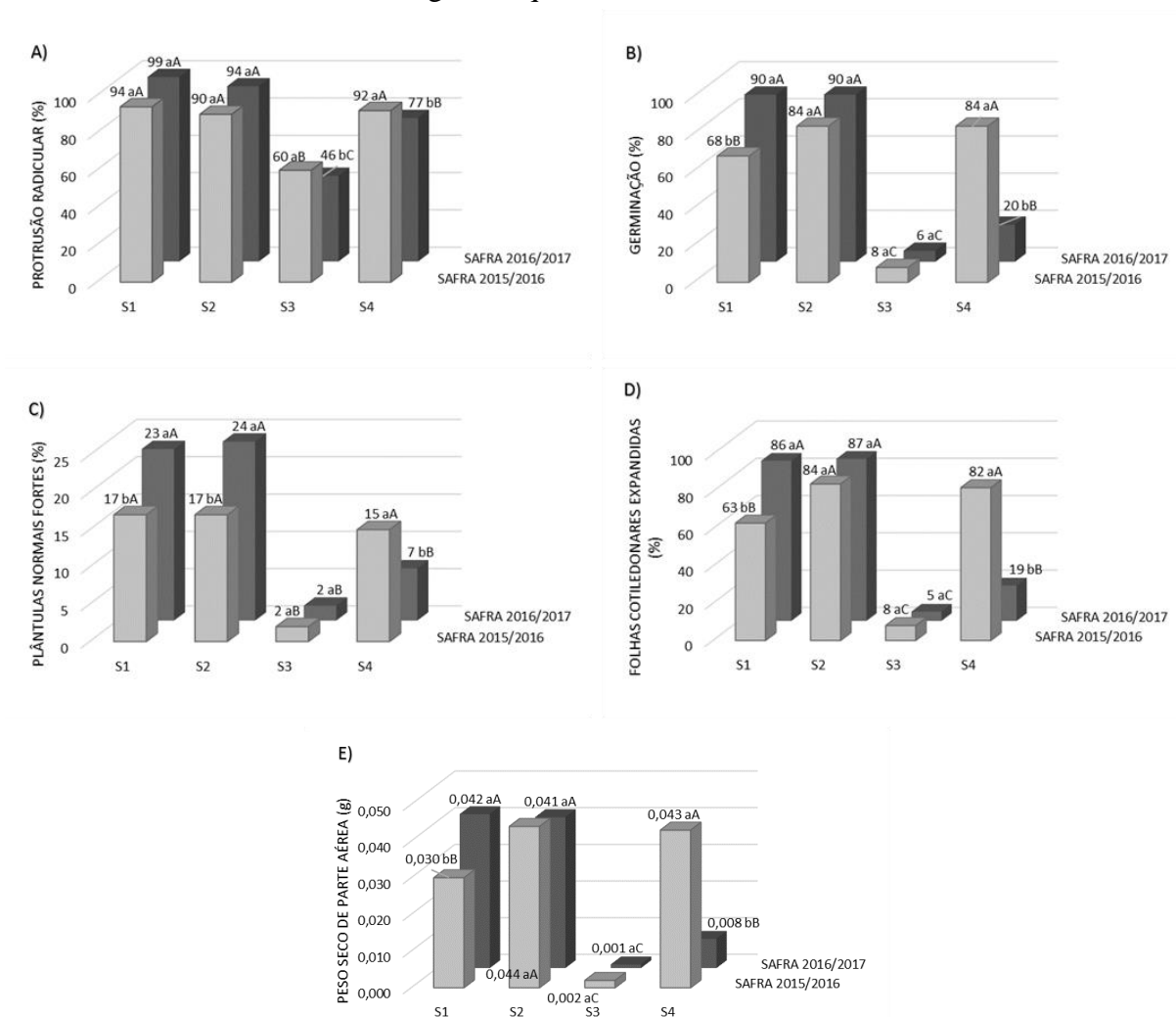
Pelos resultados das análises de variância, para as variáveis protrusão radicular, germinação, número de plântulas normais fortes, número de folhas cotiledonares expandidas aos 45 dias e peso seco de parte aérea, houve interação significativa entre os fatores safras e tratamentos. Para a variável plântulas normais fortes houve também interação significativa entre os fatores épocas e safras. Para a variável número de plântulas com folhas cotiledonares expandidas houve interação significativa entre os fatores época e tratamentos e para a variável peso seco de parte aérea somente ocorreu efeito significativo do fator época. Para a variável peso seco de raízes não houve efeito significativo dos fatores estudados.

Verificou-se desempenhos fisiológicos diferentes nas duas safras sendo que na safra 2016/2017, as sementes armazenadas em câmara fria apresentaram em média melhor qualidade e na safra 2015/2016, no geral, o melhor desempenho foi apresentado pelas sementes criopreservadas.

Dentro de cada safra, verificou-se por meio dos resultados das variáveis apresentadas na Figura 1, que as sementes dos tratamentos S1 e S2, correspondentes às sementes com 12% e 32% de umidade, apresentaram a mais alta qualidade fisiológica nas duas safras estudadas. Já na safra 2015/2016, o tratamento S2 se igualou ao S4 (FIGURA 1). Em contrapartida, as sementes do tratamento S3, criopreservadas após secagem em solução salina saturada de NaCl até 17% bu, obtiveram os piores resultados, possivelmente causado pelo efeito estressante do processo de secagem mais lento e posterior congelamento. Rosa et al. (2005) constataram que a secagem, de forma geral, é prejudicial às sementes de café, independentemente da velocidade em que são secadas, ocorrendo redução da qualidade fisiológica com a perda de água.

Pode-se observar também, que as sementes criopreservadas, após secagem em sílica gel, até 17% bu, apresentaram resultados fisiológicos significativamente iguais aos tratamentos que não sofreram o processo de criopreservação na safra 2015/2016. O mesmo, no entanto, não é observado na safra seguinte, onde ocorreu um decréscimo na qualidade fisiológica desse tratamento. Dussert et al. (1998) estudando protocolos de criopreservação de quatro espécies do gênero *Coffea*, afirmaram que cada espécie responde de maneira distinta à exposição ao nitrogênio líquido, sendo necessário o desenvolvimento de protocolos individualizados. De acordo com os dados apresentados na Figura 1, pode-se extrapolar as afirmações de Dussert et al. (1998) e deduzir que não apenas a espécie pode interferir no sucesso da criopreservação, mas também a safra na qual as sementes foram colhidas.

Figura 1 – Resultados da avaliação fisiológica das sementes de *Coffea arabica* L., em duas safras consecutivas, sendo: (A) porcentagem de protrusão radicular; (B) de plântulas normais - germinação; (C) plântulas normais fortes; (D) de plântulas com folhas cotiledonares expandidas; e (E) peso seco de parte aérea. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si, pelo teste de *Scott-Knott*, ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam o efeito da safra dentro do mesmo tratamento; as maiúsculas comparam os tratamentos dentro da mesma safra. Tratamentos: (S1) sementes secadas em secador estacionário até 12% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S2) sementes secadas em secador estacionário até 32% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S3) sementes secadas em solução salina saturada até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido; (S4) sementes secadas em sílica gel até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido.



Fonte: Da autora (2019).

Analisando-se os efeitos da interação entre os fatores época e safra sobre os resultados de plântulas normais fortes (TABELA 2), constatou-se que as sementes colhidas na primeira safra (2015/2016) e avaliadas antes do armazenamento, por meio do teste de germinação, obtiveram maiores porcentagens de plântulas normais fortes. Segundo Marcos Filho (2015), as

condições ambientais de armazenamento as quais as sementes são submetidas durante o armazenamento, podem afetar a sua qualidade causando modificações fisiológicas degenerativas como o atraso na germinação e perda de vigor.

Em contrapartida, na safra subsequente (2016/2017), não houve diferença significativa entre as porcentagens médias de plântulas normais fortes das sementes, antes e após o armazenamento.

Tabela 2 – Porcentagem média de plântulas normais fortes, oriundas de sementes de *Coffea arabica* L., colhidas em duas safras consecutivas e avaliadas antes e após armazenamento.

Variável	Safra	Época de avaliação	
		Antes do armazenamento	Após o armazenamento
Plântulas normais fortes (%)	2015/2016	19 aA	6 bB
	2016/2017	13 bA	14 aA
CV (%)		43,85	

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si, pelo teste de *Scott-Knott*, ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2019).

Após seis meses de armazenamento das sementes secadas até 12% bu (tratamento S1) ocorreu redução significativa no percentual de plântulas com folhas cotiledonares expandidas (TABELA 3). As sementes dos demais tratamentos não apresentaram alterações significativas nos resultados mesmo após o período de seis meses de armazenamento. Além disso, nota-se que as sementes com 12% e 32% bu, armazenadas por seis meses (tratamentos S1 e S2), obtiveram resultados significativamente maiores do que nos demais tratamentos, mas o tratamento S2 proporcionou resultado significativamente superior.

Tabela 3 – Porcentagem média de plântulas com folhas cotiledonares expandidas, oriundas de sementes de *Coffea arabica* L., colhidas em duas safras consecutivas e avaliadas antes e após armazenamento.

Variável	Época	Tratamento			
		S1	S2	S3	S4
Plântulas com folhas cotiledonares expandidas (g)	Antes do armazenamento	83 aA	89 aA	7 aC	53 aB
	Após o armazenamento	66 bB	82 aA	6 aD	48 aC
CV (%)		14,64			

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si, pelo teste de *Scott-Knott*, ao nível de 5% de probabilidade. Tratamentos: (S1) sementes secadas em secador estacionário até 12% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S2) sementes secadas em secador estacionário até 32% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S3) sementes secadas em solução salina saturada até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido; (S4) sementes secadas em sílica gel até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido.

Fonte: Da autora (2019).

Quanto ao peso seco de parte aérea das plântulas normais, oriundas das sementes submetidas aos diferentes tratamentos, nota-se que as sementes que não foram armazenadas por seis meses apresentaram resultados fisiológicos superiores (TABELA 4). Segundo Sershen, Pammenter e Berjak (2011), em situações de estresse como o armazenamento, as sementes de espécies mais recalcitrantes podem apresentar diminuição do vigor devido a reações deletérias do sistema oxidativo.

Tabela 4 – Peso seco de parte aérea de plântulas, oriundas de sementes de *Coffea arabica* L., colhidas em duas safras consecutivas e avaliadas antes e após armazenamento.

Variável	Época de avaliação	
	Antes do armazenamento	Após o armazenamento
Peso seco de parte aérea (g)	0,027 A	0,025 B
CV (%)	16,75	

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem entre si, pelo teste de *Scott-Knott*, ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2019).

É possível notar que com as sementes secadas em sílica gel e criopreservadas (tratamento S4) houve um pior desempenho na segunda safra, antes do armazenamento, sendo este resultado comprovado estatisticamente. O mesmo não aconteceu para as sementes secadas em secador estacionário até 12% bu (S1) e úmidas (S2) que, de maneira geral, tiveram melhores resultados na segunda safra em ambas as épocas de armazenamento (TABELA 5).

Contudo, as sementes secadas em sílica gel (S4) obtiveram resultados significativamente iguais aos das sementes úmidas (S2) na primeira safra, em ambas as épocas

de armazenamento. De acordo com Walters et al. (2008, 2015), quando a desidratação das sementes ocorre de maneira mais rápida, não há tempo suficiente para a ocorrência e acúmulo de danos a níveis prejudiciais, devido ao curto período de tempo no qual o processo ocorre. No entanto, outros autores afirmam que a secagem lenta aumenta a tolerância das sementes de café à dessecação, devido ao maior tempo para indução de mecanismos de proteção (VEIGA et al., 2007; VIEIRA et al., 2007; SANTOS; VON PINHO; ROSA, 2013; ABREU et al., 2014).

Notou-se também que as sementes secadas em solução salina saturada e criopreservadas (S3) apresentaram piores resultados em ambas as safras e épocas de semeadura, quando comparadas aos demais tratamentos (TABELA 5).

Tabela 5 – Porcentagem média de plântulas normais fracas, oriundas de sementes de *Coffea arabica* L., colhidas em duas safras consecutivas e avaliadas antes e após armazenamento.

Número de plântulas normais fracas (%)									
Antes do Armazenamento					Após o Armazenamento				
Safra	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4	
2015/2016	50 bB (a)	66 aA (a)	5 aC (a)	63 aA (a)	13 bA (b)	17 bA (b)	2 aB (a)	19 aA (b)	
2016/2017	67 aA (a)	66 aA (a)	4 aB (a)	13 bB (a)	60 aA (a)	64 aA (a)	5 aB (a)	11 aB (a)	
CV (%)	26,60								

Médias seguidas de mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas, dentro de tratamentos e, minúsculas entre parênteses nas linhas entre época de armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de *Scott-Knott*, ao nível de 5% de probabilidade. Tratamentos: (S1) sementes secadas em secador estacionário até 12% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S2) sementes secadas em secador estacionário até 32% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S3) sementes secadas em solução salina saturada até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido; (S4) sementes secadas em sílica gel até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido.

Fonte: Da autora (2019).

Por meio dos resultados das avaliações das sementes antes e após armazenamento, nas duas safras, foi constatado que as sementes úmidas (S2) e secas (S1) apresentaram desempenho fisiológico superiores e similares aos das sementes criopreservadas após secagem em sílica gel. As sementes criopreservadas após secagem em solução salina saturada de NaCl até 17% bu (S3) apresentaram o pior desempenho em todas as variáveis, indicando ser este um procedimento inadequado para o armazenamento seguro das sementes.

Outra constatação refere-se ao desempenho fisiológico das sementes do tratamento S4, na segunda safra. Este resultado não era esperado, tendo em vista que este protocolo de criopreservação foi confirmado em vários trabalhos, ser adequado para a conservação por

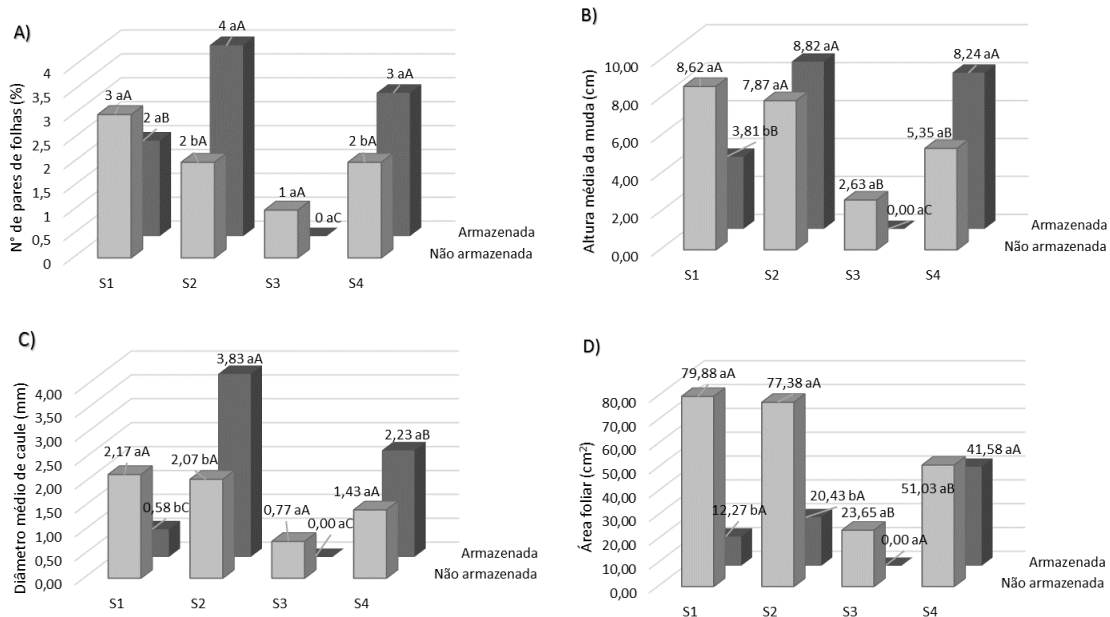
tempo indeterminado, de sementes de *Coffea arabica* L. (BERJAK; PAMMENTER, 2014; COELHO et al., 2017; DUSSERT et al., 2012; FIGUEIREDO et al., 2017).

3.2 Avaliação das mudas

Pelos resultados da análise de variância, para as variáveis número de pares de folhas, altura da muda, diâmetro médio de caule e área foliar, houve interação significativa entre os fatores época e tratamentos. Para a variável peso seco, de parte aérea e de raízes, somente o fator tratamento foi significativo.

O armazenamento das sementes por seis meses foi prejudicial para as mudas provenientes das sementes com 12% de umidade (tratamento S1), observado pela diminuição em todas as avaliações realizadas, com diferenças significativas para altura da muda, diâmetro do caule, e área foliar (FIGURA 2 A, B, C e D).

Figura 2 - Resultados da avaliação das mudas produzidas com sementes de *Coffea arabica* L., com sementes não armazenadas ou sementes armazenadas: (A) número de pares de folhas; (B) altura média da muda; (C) diâmetro médio de caule; (D) área foliar. As médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si, pelo teste de *Scott-Knott*, ao nível de 5% de probabilidade. Minúsculas comparam o efeito do armazenamento dentro do mesmo tratamento. Maiúsculas comparam os tratamentos dentro do mesmo armazenamento. Tratamentos: (S1) sementes secadas em secador estacionário até 12% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S2) sementes secadas em secador estacionário até 32% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S3) sementes secadas em solução salina saturada até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido; (S4) sementes secadas em sílica gel até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido.



Fonte: Da autora (2019).

Veiga et al. (2010) observaram que, sementes de café armazenadas por seis meses produziram mudas com menores resultados de área foliar. Porém, os resultados de altura da muda e número de pares de folhas não apresentaram diferença significativa entre as mudas provenientes de sementes armazenadas e não armazenadas, independentemente da velocidade de secagem.

Avaliando-se os resultados das mudas provenientes de sementes que não foram armazenadas, observa-se nos Gráficos A e C (FIGURA 2), que não houve diferença significativa entre os tratamentos para as variáveis número de par de folhas e diâmetro médio de caule. Além disso, observa-se que para as variáveis altura média da muda e área foliar, as mudas provenientes de sementes não criopreservadas (S1 e S2) apresentaram melhores resultados antes do armazenamento.

Após o período de seis meses de armazenamento foi observado que, com exceção da área foliar, para as demais variáveis analisadas, os resultados dos tratamentos S2 e S4 foram melhores e significativamente iguais.

As mudas de *Coffea arabica* L. provenientes de sementes armazenadas em câmara fria e seca, com 32% de umidade (S2), e as provenientes de sementes secadas em sílica gel e criopreservadas (S4) apresentam boa qualidade fisiológica, independentemente do armazenamento das sementes.

Para os resultados da avaliação do peso seco das mudas houve efeito apenas dos tratamentos das sementes. As mudas provenientes de sementes do tratamento S2, em ambas as variáveis analisadas, apresentaram maiores resultados que os demais tratamentos (TABELA 7).

Tabela 7– Peso seco de parte aérea e peso seco de raízes (g/planta) de mudas oriundas de sementes de *Coffea arabica* L. submetidas à diferentes tratamentos de secagem e de armazenamento.

Variável	Tratamentos			
	S1	S2	S3	S4
Peso seco de parte aérea (g)	0,386 B	0,555 A	0,084 C	0,391 B
CV (%)	33,93			
Peso seco de raízes (g)	0,089 B	0,170 A	0,024 C	0,108 B
CV (%)	31,39			

Médias seguidas das mesmas letras maiúsculas nas linhas, não diferem entre si, pelo teste de *Scott-Knott*, ao nível de 5% de probabilidade. Tratamentos: (S1) sementes secadas em secador estacionário até 12% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S2) sementes secadas em secador estacionário até 32% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S3) sementes secadas em solução salina saturada até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido; (S4) sementes secadas em sílica gel até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido.

Da autora (2019).

É importante destacar, que as mudas provenientes de sementes S4 (criopreservadas) apresentaram resultados estatisticamente iguais às mudas provenientes de sementes não criopreservadas (S1) nas duas variáveis analisadas. Além disso, as mudas provenientes de sementes secadas em solução salina saturada de NaCl e criopreservadas (S3) apresentaram resultados inferiores a todos os outros tratamentos, corroborando com os resultados apresentados na Figura 2.

Veiga et al. (2010), trabalhando com sementes da cultivar Catuaí, observaram que as mudas provenientes de sementes armazenadas por seis meses apresentaram resultados inferiores de peso seco de parte aérea em comparação com as mudas provenientes de sementes não armazenadas.

De maneira geral, e, principalmente, considerando os resultados de número de pares de folhas, altura média da muda e diâmetro de caule, foi observado que as mudas produzidas utilizando-se sementes secadas em secador estacionário até 32% e armazenadas em câmara fria e, sementes secadas em sílica gel até 17% e criopreservadas por seis meses, apresentaram melhores resultados que aquelas mudas produzidas com sementes não armazenadas.

Este resultado traz um importante indicativo de que mudas provenientes de sementes criopreservadas podem ser produzidas em qualquer época de interesse dos produtores, uma vez que a imersão direta das sementes de *Coffea arabica* L. em nitrogênio líquido, após secagem em sílica gel, permite a conservação das sementes por tempo indeterminado.

4 CONCLUSÕES

O armazenamento de sementes de *Coffea arabica* L. com 32% e 12% de umidade, em câmara fria, e com 17% em nitrogênio líquido, mantém a qualidade fisiológica.

A utilização de sementes de *Coffea arabica* L. secadas em sílica gel e criopreservadas é uma alternativa viável para a produção de mudas.

REFERÊNCIAS

- ABREU, L.A.S. et al. Behavior of coffee seeds to desiccation tolerance and storage. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 36, n. 4, p. 399-406, oct./dec. 2014.
- ARAÚJO, R.F. et al. Conservação de sementes de café (*Coffea arabica* L.) despulpado e não despulpado. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 71-78, maio. 2008.
- ASSUNÇÃO, W.L.; LEITÃO JÚNIOR, A.M. A ocorrência de veranico na Macrorregião do Alto Paranaíba (MG), 1975-2004. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE CLIMATOLOGIA GEOGRÁFICA, 7., 2006, Rondonópolis. **Anais...** Rondonópolis: UFMT – Campus de Rondonópolis, v. 1, 2006, p. 1-10.
- BALIZA, D.P. et al. Antecipação da produção e desenvolvimento da lavoura cafeeira implantada com diferentes tipos de mudas. **Coffee Science**, Lavras, v. 8, n. 1, p. 61-68, 2013.
- BARBOZA, R.; HERRERA, J. El vigor en la semilla de café y su relacion con la temperatura de secado, el contenido de humedad y las condiciones de almacenamiento. **Agronomia Costarricense**, San José, v. 14, n. 1, p.1-7, 1990.
- BARROS, R.S. et al. Determinação de área de folhas do café (*Coffea arabica* L. cv. ‘Bourbon Amarelo’). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 20, n. 107, p. 44-52, 1973.
- BERJAK, P.; PAMMENTER, N.M., Implication of lack of desiccation tolerance in recalcitrant seeds. **Front. Plant Sci.**, v. 4, p. 1–9, nov. 2013.
- BERJAK, P.; PAMMENTER, N.W. Cryostorage of germplasm of tropical recalcitrant-seeded species: Approaches and problems. **International Journal Plant Science**, Chicago, v. 175, n. 1, p. 29-39, jan. 2014.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399 p.
- CARVALHO, A.; MÔNACO, L.C. Botânica e melhoramento. **Cultura e adubação do cafeeiro**. 2. ed. São Paulo: Instituto Brasileiro de Potassa, 1965. p. 49-62.
- CHEN, X.L. et al. Cryopreservation of in vitro-grow apical meristems of *Lilium* by droplet-vitrification. **South African Journal of Botany**, Amsterdam, v. 77, n. 2, p. 397-403, apr. 2011.
- COELHO, S.V.B. et al. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de café secas em sílica gel e soluções salinas saturadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 50, n. 6, p. 483-491, jun. 2015.
- COELHO, S.V.B.; ROSA, S.D.V.F.; FERNANDES, J.S. Cryopreservation of coffee seeds: A simplified method. **Seed Science and Technology**, v. 45, n. 3, p. 1-12, 2017.
- COGO, F.D.; SILVA, E.A.; CAMPOS, K.A. Formação de mudas de cafeeiro sob doses crescentes de fósforo. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 8, n. 14, p. 598-605, 2012.

- DIAS, M.C.L.L.; BARROS, A.S.R. Conservação de sementes de café (*Coffea arabica* L) em diferentes embalagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 15, n. 2, p. 197-202, 1993.
- DUSSERT, S. et al. Cryopreservation of seeds of four coffee species (*Coffea arabica*, *C. costatifructa*, *C. racemosa* and *C. sessiliflora*): importance of water content and cooling rate. **Seed Science Research**, v. 8, p. 9-15, 1998.
- DUSSERT, S. et al. Biologie de la conservation des semences de caféiers: Aspects fondamentaux et conséquences pratiques. Une revue. **Cahiers Agricultures**, v. 21, n. 2, p. 106- 114, 2012.
- ELLIS, R.H.; HONG, T.D.; ROBERTS, E.H. An intermediate category of seed storage behaviour? II. Effects of provenance, immaturity and imbibition on desiccation tolerance in coffee. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 42, n. 238, p. 653-657, 1991.
- FARIAS, C.H. de A. et al. Índices de crescimento da cana-de-açúcar irrigada e de sequeiro no Estado da Paraíba. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 12, n. 4, p. 356-362, jan. 2008.
- FIGUEIREDO, M.A. et al. Exploratory studies for cryopreservation of *Coffea arabica* L. seeds. **J. Seed Sci.**, Londrina, v. 39, n. 2, p. 150-158, june. 2017.
- GUIMARÃES, R.J. et al. Efeitos da citocinina, giberelina e remoção do endocarpo na germinação de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 22, n. 3, p. 390-396, maio/jun. 1998.
- GUIMARÃES, R.J.; MENDES, A.N.G.; SOUZA, C.A. **Cafeicultura**. Lavras: UFLA, 2002. 317 p.
- HERNANDEZ, F.B.T.; SOUZA, S.A.V. de; ZOCOLER, J.A. Simulação e efeito de veranicos em culturas desenvolvidas na região de Palmeira d'Oeste, estado de São Paulo. **Engenharia Agrícola**, v. 23, n. 1, p. 21-30, jan. 2003.
- KAYA, E. et al. Cryopreservation of citrus seed via dehydration followed by immersion in liquid nitrogen. **Turkish journal of biology**, v. 41, n. 1, p. 242-248, oct. 2017.
- LEMOS, C.L. et al. Metabolismo de nitrogênio em dois sistemas de cultivo de café sob veranico da estação úmida. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 57, n. 1, p. 34-41, feb. 2010.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2015. 459 p.
- MATIELLO, J.B.; SANTINATO, R.; GARCIA, A.W.R.; ALMEIDA, S.R.; FERNANDES, D.R. **Cultura do café no Brasil: novo manual de recomendações**. Varginha: PROCAFÉ, 2005. 438 p.
- MENEZES, H.E.A. et al. A Relação entre a Temperatura da Superfície dos Oceanos Tropicais e a duração dos veranicos no Estado da Paraíba. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 23, n. 2, p. 152-161, 2008.

MICHALAK, M.; PLITTA, B.P.; CHMIELARZ, P. Desiccation sensitivity and successful cryopreservation of oil seeds of European hazelnut (*Corylus avellana*). **Annals of Applied Biology**, v. 163, n. 3, p. 351-358, aug. 2013.

_____. A new insight in desiccation tolerance and cryopreservation of mazzard cherry (*Prunus avium* L.) seeds. **Central European Journal of Biology**, v. 10, n. 1, p. 354-364, may. 2015.

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

MIRANDA, J.M. et al. Estudos de alguns fatores que influenciam a duração da viabilidade de sementes de café. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 15, n. 2, p. 215-220, 1993.

ROLDÃO, A.F.; FERREIRA, V.O. Influência do fenômeno verânico na produtividade da soja na mesorregião Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba, MG. **Estudos Geográficos (UNESP)**, v. 13, p. 118-138, 2015.

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

ROSA, S.D.V.F. et al. Formação de mudas de *Coffea arabica* L. cv. rubi utilizando sementes ou frutos em diferentes estágios de desenvolvimento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 349-356, abr. 2007.

SANTOS, G.C.; VON PINHO, E.V.R.; ROSA, S.D.V.F. Gene expression of coffee seed oxidation and germination processes during drying. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 12, n. 4, p. 6968-6982, dec. 2013.

SERSHEN, N.W.; PAMMENTER, P.; BERJAK. Effects of partial dehydration of recalcitrant *Haemaphysalis montanus* zygotic embryos on vigour of recovered seedlings. **South African Journal of Botany**, v. 77, n. 1, p. 193-202, jan. 2011.

SILVA, W.R.; DIAS, M.C.L.L. Interferência 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.

TATAGIBA, S.D.; PEZZOPANE, J.E.M.; REIS, E.F. Crescimento vegetativo de mudas de café arábica (*Coffea arabica* L.) submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Coffee Science**, Lavras, v. 5, n. 3, p. 251-261, 2010.

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.

VEIGA, A.D. et al. Armazenabilidade de sementes de cafeeiro colhidas em diferentes estádios de maturação e submetidas a diferentes métodos de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 83-91, 2007.

VEIGA, A.D. et al. Influência do potássio e da calagem na composição química, qualidade fisiológica e na atividade enzimática de sementes de soja. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 4, p.953-960, 2010.

VIEIRA, A.R. et al. Armazenamento de sementes de cafeeiro: ambientes e métodos de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 76-82, 2007.

WALTERS, C. et al. Cryopreservation of recalcitrant (i.e. desiccation-sensitive) seeds. In: REED, B. M. (Ed.). **Plant Cryopreservation: a practical guide**. New York: Springer, 2008. p. 465-484.

WALTERS, C. Orthodoxy, recalcitrance and in-between: describing variation in seed storage characteristics using threshold responses to water loss. **Planta**, Berlin, v. 242, n. 2, p. 397-406, aug. 2015.

WENT, F.W. **The experimental control of plant growth**: with special reference to the Earhart Plant Research Laboratory at the California Institute of Technology. New York: The Ronald, 1957. 343 p. (Chronica Botanica - International Biological and Agricultural Series, v. 17).

ARTIGO 2 - Produção de mudas de café convencionais e em cultivo protegido com sementes criopreservadas

RESUMO

O princípio básico do armazenamento de sementes é conservar a sua viabilidade. Porém, algumas espécies como as sementes de *Coffea arabica* L. apresentam baixa tolerância a dessecação, o que impossibilita seu armazenamento por períodos prolongados. A criopreservação é uma alternativa viável para a conservação de espécies recalcitrantes e intermediárias. Essa técnica de armazenamento, aliada à produção de mudas em ambiente protegido, como a casa de vegetação, pode favorecer a produção de mudas em qualquer época do ano. Objetivou-se com esse trabalho, comparar a produção de mudas de café arábica em casa de vegetação e em viveiro, provenientes de sementes armazenadas por diferentes métodos. As sementes foram submetidas a quatro tratamentos de secagem em secador estacionário até atingirem 12% e 32% de umidade, em solução salina saturada até atingirem 17% de umidade, e em sílica gel até atingirem 17% de umidade. As sementes com 12% e 32% de umidade foram armazenadas em câmara fria e seca, e as sementes com 17% em criotanques, por período de seis meses. Antes e após o armazenamento, as sementes foram submetidas a avaliação fisiológica e, posteriormente, foram semeadas em saquinhos plásticos para a produção de mudas em viveiro e em casa de vegetação, com posterior avaliação de desenvolvimento das mudas. Observou-se que as sementes úmidas e criopreservadas após secagem em sílica gel, apresentaram melhores resultados fisiológicos após o armazenamento. As mudas provenientes de sementes armazenadas em câmara fria e criopreservadas após secagem em sílica gel, produzidas em casa de vegetação, apresentaram resultados de altura média das mudas, número de pares de folhas e área foliar maiores do que as mudas produzidas em viveiro. O trabalho permitiu concluir, que o armazenamento em nitrogênio líquido é viável para sementes de café quando elas são secadas em sílica gel até 17% de umidade. Em relação ao desenvolvimento vegetativo de mudas de café, o ambiente controlado em casa de vegetação mostrou-se mais adequado na maioria das características analisadas, quando comparado ao sistema convencional de produção em viveiro.

Palavras-chave: Criopreservação. Casa de vegetação. *Coffea arabica* L. Produção.

ABSTSTRAC

The basic principle of the seeds storage is to preserve their viability. However, there are some species such as *Coffea arabica* L. that have low tolerance to the desiccation, what becomes the storage for long periods. Cryopreservation is a viable alternative method of storage which allow the conservation of recalcitrant and intermediate species. This storage technique, allied with the production of seedlings in a protected environment, such as a greenhouse, may favor the production of seedlings at any period of the year. The objective in this work was to compare the production of arabica coffee seedlings in greenhouse and in a nursery, from seeds stored by different methods. Seeds were submitted to four drying treatments in a stationary dryer until they reached 12% and 32% of humidity, in saturated salt solution until reaching 17% of humidity and in silica gel until reaching 17% of humidity. Seeds with 12% and 32% of humidity were stored in a cold and dry chamber, and the seeds with 17% in cryochambers, for a period

of six months. Before and after storage, the seeds were submitted to physiological evaluation and after, were sown in plastic bags for the production of seedlings in nursery and in greenhouse with subsequent evaluation of the development of the seedlings. Was observed that the seeds wet and cryopreserved after drying on silica gel showed better physiological results after storage. Seedlings from seeds stored in cold chamber and cryopreserved after drying on silica gel, and produced in greenhouse, showed results of mean height of seedlings, number of leaf pairs and leaf area, higher than the seedlings produced in nursery. The work allow to conclud that the storage in liquid nitrogen is viable for coffee seeds when they are dried on silica gel up to 17% of humidity. Regarding to the vegetative development of coffee seedlings, the greenhousecontrolled environment was more adequate to the most of the analyzed characteristics when compared to the conventional nursery production system.

Keywords: Cryopreservation. Greenhouse. *Coffea arabica* L. Production.

1 INTRODUÇÃO

O armazenamento de sementes é a maneira mais eficaz para preservar a diversidade genética de espécies vegetais, possibilitar a semeadura em épocas favoráveis para o estabelecimento da cultura, e propiciar a comercialização das sementes em períodos mais lucrativos para o produtor. O princípio básico do armazenamento de sementes é conservar a sua qualidade.

A tolerância da semente a baixas temperaturas e ao grau de dessecação, estão associados ao sucesso do armazenamento a longo prazo (MICHALAK et al., 2013). Segundo Guimarães et al. (2002), as mudas de café são plantadas a partir de dezembro em função da dificuldade de produção antecipada dessas, devido as limitações de armazenamento das sementes causadas pela baixa tolerância à dessecação e à baixa temperatura.

Alguns trabalhos foram desenvolvidos com o objetivo de antecipar o plantio de mudas de café no campo, enfatizando a importância da instalação da lavoura em época apropriada, no início do período chuvoso. Essa antecipação do plantio das mudas em condições climáticas favoráveis, propicia o seu desenvolvimento inicial com menor taxa de replantio, além da obtenção de alto índice de rendimento da primeira safra (RENA; MAESTRI 1986; CARVALHO et al., 1998, 1999; ROSA et al., 2007; BALIZA et al., 2013).

Além da época da produção das mudas, outro fator relevante a ser considerado é o ambiente onde as mesmas serão cultivadas após a semeadura. Mudas de café arábica são tradicionalmente produzidas em viveiros abertos, contando apenas com proteção de sombrite contra a radiação solar.

Segundo Beltrão et al. (2002), casa de vegetação é uma estrutura coberta e abrigada artificialmente com materiais transparentes, sendo que no seu interior se pode cultivar os mais diversos tipos de plantas. Oliveira et al. (1995) afirmam que há quatro tipos de estrutura de casa de vegetação: de vidro climatizada; de vidro semi-climatizada, produzindo o efeito estufa; casas de plástico semi-climatizadas, com efeito estufa presente e; casas de plástico tipo ‘guarda-chuva’, que não são climatizadas.

Ambientes protegidos como a casa de vegetação permitem amenizar situações adversas do meio ambiente tais como: geadas, excesso de chuvas, queda acentuada da temperatura durante a noite, excesso de incidência da radiação solar, além de prevenir o ataque de pragas e doenças (MENDONÇA et al., 2008; REBOUÇAS et al., 2015). Sendo assim, a casa de vegetação propicia o melhor controle das condições ambientais, minimiza os riscos de produção e maximiza a competitividade mercadológica do produtor.

Assim, a utilização de ambientes protegidos tem se mostrado vantajosa, já que contribui para uma melhor produtividade e qualidade das mudas (FERREIRA et al., 2004). Segundo Rebouças et al. (2015), parte significativa da pesquisa agrícola e da produção de plantas ornamentais e hortaliças é realizada em casas de vegetação.

Atualmente, segundo Rebouças et al. (2015), o Brasil tem 22 mil hectares de cultivo protegido, nos quais são produzidas hortaliças, flores e mudas em viveiros (SILVA et al., 2014). Os benefícios do controle de variáveis e modificações microclimáticas em casas de vegetação, em função dos parâmetros de produtividade agrícola, foram estudados para produção de figos (FREITAS et al., 2015), melancia (OLIVEIRA et al., 2015), mamoeiro (COSTA et al., 2009) e café (TEIXEIRA et al., 2001), com vantagens em relação ao cultivo em céu aberto.

Em contrapartida, Tullio et al. (2013), observaram que o cultivo de beterraba em ambiente modificado não apresentou vantagens em relação ao cultivo em ambiente natural na produção e qualidade da raiz de beterraba. Para a cultura do tamarindeiro, o ambiente a céu aberto proporcionou as melhores condições para a formação das mudas, segundo Mendonça et al. (2008).

De acordo com a literatura citada, o cultivo protegido já é uma realidade na produção de mudas de diversas espécies em todo Brasil. Entretanto, faz-se necessário maior esclarecimento sobre possíveis benefícios do ambiente modificado, principalmente na cultura do café arábica, que ainda é carente de pesquisas desenvolvidas sobre o assunto.

Com isso, objetivou-se com esse trabalho, comparar a produção de mudas de *Coffea arabica* L. produzidas em casa de vegetação e viveiro, provenientes de sementes armazenadas por diferentes métodos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Sementes da espécie *Coffea arabica* L., cultivar ‘Catuaí amarelo’ IAC 62, foram colhidas em lavouras da Fazenda Experimental da Fundação Procafé, município de Varginha, MG, Brasil, na safra 2016/2017. Os frutos foram descascados mecanicamente e as sementes desmuciladas por fermentação em água, por período de 24 horas a 25 °C. Após o processo de fermentação, as sementes foram submetidas a uma pré-secagem para remoção da água superficial, antes de serem submetidas ao teste de germinação e à determinação do teor de água para a avaliação da qualidade inicial das sementes.

A determinação do teor de água foi realizada pelo método de estufa a 105 °C, durante 24 horas (BRASIL, 2009), com duas repetições de 10 sementes. Os resultados foram expressos em porcentagem com base no peso seco das sementes.

Após a avaliação inicial, as sementes foram submetidas a quatro tratamentos de secagem: sementes secadas em secador estacionário de pequena escala até atingirem 12% e 32% de umidade; sementes secadas em solução salina saturada de NaCl até atingirem 17% de umidade e; sementes secadas em sílica gel até atingirem 17% de umidade. A umidade das sementes foi calculada com base no peso úmido.

As secagens com sílica gel e solução salina saturada de NaCl foram realizadas colocando-se as sementes, com o teor de água inicial determinado, em recipientes herméticos contendo 60 gramas de sílica gel ativada ou 40 gramas de NaCl + 10 ml de água, os quais foram mantidos em câmaras B.O.D (*Biochemical Oxygen Demand*), reguladas a 25 °C, na ausência de luz. Tomou-se o cuidado para que as sementes não ficassem em contato direto com os agentes secantes e a perda de água durante a secagem foi monitorada até as sementes atingirem 17% (base úmida).

Após a secagem, as sementes com 12% e 32% de umidade foram armazenadas em câmara fria e seca, e as sementes com 17% em criotanques. No início do armazenamento e após seis meses, as sementes foram submetidas a avaliação fisiológica. Assim, os tratamentos de secagem e armazenamento investigados foram: sementes com 12% de umidade (S1) ou com 32% (S2) armazenadas em câmara fria e seca, e 17% secada em NaCl (S3) ou em sílica gel (S4), armazenadas em nitrogênio líquido. Estes tratamentos utilizados para o estudo de formação de mudas também estão sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1 – Descrição dos tratamentos de secagem e de armazenamento das sementes de *Coffea arabica* L. colhidas em duas safras consecutivas, para a formação de mudas.

Tratamento	Umidade (bu) %	Método de secagem	Armazenamento
S1	12	Secador estacionário	Câmara fria*
S2	32	Secador estacionário	Câmara fria
S3	17	Solução salina saturada de NaCl	Nitrogênio líquido**
S4	17	Sílica gel	Nitrogênio líquido

*Temperatura de 10°C e umidade relativa de 45%; **Sob temperatura de -196°C.

Fonte: Da autora (2019).

2.1 Avaliação fisiológica das sementes

Posteriormente ao período de armazenamento, as sementes foram analisadas fisiologicamente por meio dos seguintes testes.

- a) Teste de germinação: realizado com quatro repetições de 25 sementes para cada tratamento, semeadas em papel de germinação umedecidos com água destilada na quantidade de duas vezes e meia o peso do papel seco. Os rolos de germinação foram acondicionados em germinador, regulado a 30 °C, na presença de luz (BRASIL, 2009). Foram determinadas as porcentagens de protrusão radicular aos 15 dias e de plântulas normais aos 30 dias após a semeadura, sendo computadas como plântulas normais, aquelas que apresentavam raiz principal e pelo menos duas raízes laterais. No teste de germinação. Determinou-se também a porcentagem de plântulas normais fortes, sendo computadas aquelas que apresentavam alça hipocotiledonar com, no mínimo, três centímetros; a porcentagem de plântulas normais fracas, sendo computadas aquelas que apresentavam alça hipocotiledonar menor que três centímetros e; porcentagem de plântulas com folhas cotiledonares expandidas, aos 45 dias após a semeadura.
- b) Peso seco de plântulas: o peso seco de plântulas foi realizado ao final do teste de germinação, nas plântulas normais. Para isso, a parte aérea foi separada das raízes, com auxílio de um bisturi, e o material vegetal colocado em sacos de papel e submetido à secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60 °C por 4 a 5 dias ou até peso constante. O peso seco foi determinado em balança de precisão, sendo os resultados expressos em gramas/plântula.

2.2 Produção e avaliação das mudas

Após a análise fisiológica das sementes foi realizada a semeadura diretamente em sacos plásticos para mudas (11 x 22 cm) contendo substrato comercial Tropstrato, semeando-se duas sementes por saquinho, os quais foram cobertos com dois centímetros de substrato após a semeadura. As sementes criopreservadas foram descongeladas por imersão direta em água por meio do equipamento de banho-maria por 2 minutos a 40 ° C antes de serem semeadas.

As mudas foram instaladas em blocos casualizados, com três repetições, sendo que cada bloco continha quatro tratamentos, com dezesseis mudas, totalizando sessenta e quatro mudas por bloco. As quatro mudas centrais de cada tratamento foram consideradas úteis para as avaliações.

Os saquinhos contendo as sementes de cada tratamento foram mantidos em viveiro e casa de vegetação, no setor de Cafeicultura e no setor de Sementes do Departamento de Agricultura da UFLA, respectivamente. Os tratamentos culturais foram realizados de acordo com as recomendações de Guimarães e Mendes (1998). As mudas foram avaliadas quando pelo menos 90% das plantas, do tratamento que mais se desenvolveu, alcançaram o estágio mínimo para comercialização, isto é, quando apresentaram de três a quatro pares de folhas verdadeiras (GUIMARÃES; MENDES, 1998).

Posteriormente, as mudas úteis de cada parcela experimental foram avaliadas analisando-se as seguintes medições.

- a) Diâmetro de caule: obtido por meio de um paquímetro eletrônico, medindo-se o diâmetro do caule, no ponto imediatamente abaixo da inserção das folhas cotiledonares, e calculando-se os diâmetros médios, com os resultados expressos em mm por muda.
- b) Altura média da muda: obtida pela medição da região compreendida entre o colo e o ponto de inserção dos brotos terminais das mudas, do ramo ortotrópico, a média entre as mudas consideradas úteis, com os resultados expressos em cm por muda.
- c) Área foliar: obtida pela estimativa do produto da largura x comprimento x 0,667 (coeficiente de área foliar) x 2 (par de folhas), proposta por Barros et al. (1973) com os resultados expressos em cm².
- d) Número de pares de folhas verdadeiras: sendo computados os pares de folhas das plantas úteis da parcela e calculando-se o número médio de folhas verdadeiras por muda.
- e) Peso seco de parte aérea e de raízes: foram obtidas após secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60 °C das raízes e partes aéreas separadamente, até atingirem peso

constante. Posteriormente, foi feita a pesagem e os resultados médios expressos em gramas/muda.

2.3 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado para a avaliação fisiológica das sementes foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. A avaliação das mudas foi em blocos casualizados, com três repetições, em esquema fatorial de 4 tratamentos (S1, S2, S3 e S4) x 2 épocas (antes e após seis meses de armazenamento) x 2 locais (casa de vegetação e viveiro), perfazendo 16 parcelas experimentais. Os resultados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de *Scott-Knott*, a 5% de probabilidade utilizando-se o programa estatístico Sisvar®.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliações fisiológicas das sementes

As sementes de café utilizadas nestes experimentos, para investigar os benefícios do cultivo protegido para a produção de mudas de café, apresentaram após colheita e pré-secagem, teor de água de 43% e 42 % base úmida (bu), na primeira e segunda safra respectivamente, e boa qualidade final, com germinação de 90% e 94%.

Os resultados das análises fisiológica das sementes submetidas aos diferentes tratamentos de secagem e armazenamento podem ser observados nas Figuras 2 a 6.

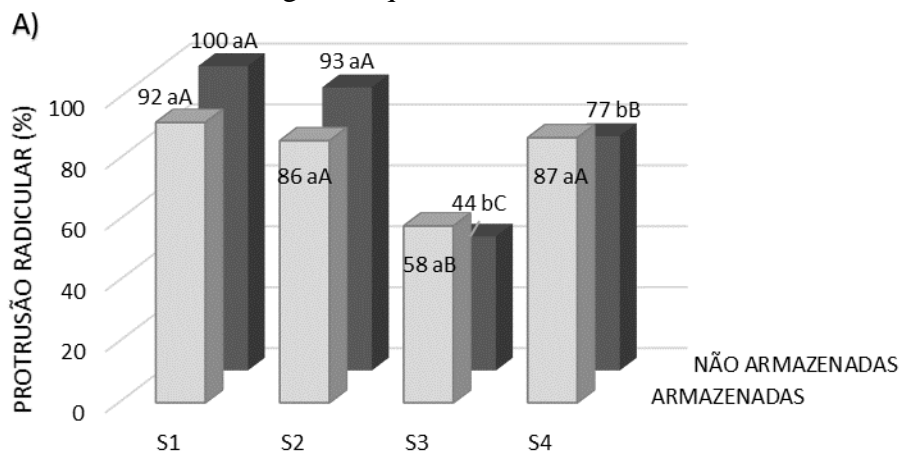
Pelos resultados das análises de variância, para as variáveis protrusão radicular, germinação, plântulas normais fortes, plântulas normais fracas, número de folhas cotiledonares expandidas aos 45 dias e peso seco de parte aérea, houve interação significativa entre os fatores épocas de armazenamento e tratamentos. Para a variável peso seco de raízes não houve efeito significativo dos fatores estudados.

De uma maneira geral, os resultados das sementes secadas em solução salina saturada de NaCl e criopreservadas (S3) são significativamente inferiores aos outros tratamentos em todas as variáveis analisadas (FIGURAS 2 a 6).

Em contrapartida, as sementes dos tratamentos não criopreservados (S1 e S2) e criopreservados após secagem em sílica gel (S4), obtiveram bons resultados, antes e após seis meses de armazenamento.

Em relação a protrusão radicular, observa-se que o período de seis meses de armazenamento não foi prejudicial às sementes. As sementes dos tratamentos S3 e S4, secadas até 17% bu em solução salina saturada de NaCl ou em sílica gel, respectivamente, apresentaram maior porcentagem de protrusão radicular após armazenamento em nitrogênio líquido. Figueiredo et al. (2017), em trabalho com sementes de café, também observaram bons resultados fisiológicos em sementes secadas em sílica gel e, posteriormente, criopreservadas.

Figura 2 – Resultados da protrusão radicular (A) das sementes de *Coffea arabica* L., antes e após armazenamento por seis meses. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si, pelo teste de *Scott-Knott*, ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam o efeito do armazenamento dentro do mesmo tratamento e maiúsculas comparam os tratamentos dentro do fator armazenamento. Tratamentos: (S1) sementes secadas em secador estacionário até 12% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S2) sementes secadas em secador estacionário até 32% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S3) sementes secadas em solução salina saturada até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido; (S4) sementes secadas em sílica gel até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido.



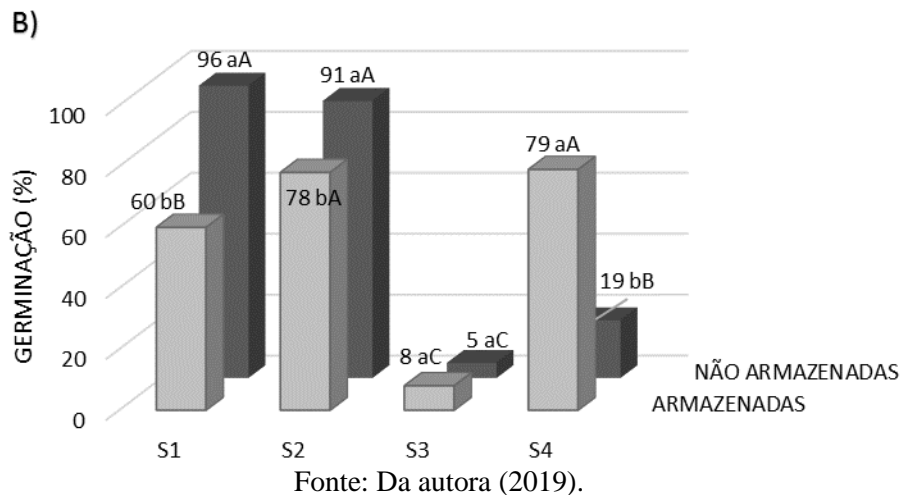
Fonte: Da autora (2019).

É importante ressaltar, que as sementes do tratamento S4 (sementes secadas em sílica gel até 17% bu de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido), após o armazenamento, obtiveram resultados significativamente iguais aos tratamentos armazenados em câmara fria com 12% e 32% bu de umidade (S1 e S2 respectivamente) (FIGURA 2).

Em relação a germinação houve diferença entre os tratamentos estudados (FIGURA 3). Os melhores resultados obtidos antes do armazenamento foram dos tratamentos com 12% bu (S1) e com 32% bu de umidade (S2). No entanto, após o armazenamento, os melhores resultados foram das sementes úmidas (S2) e as secadas até 17% bu em sílica gel e

criopreservadas (S4). As sementes secadas de forma mais lenta, em solução salina saturada de NaCl e criopreservadas (S3) apresentaram resultados inferiores em ambas as épocas.

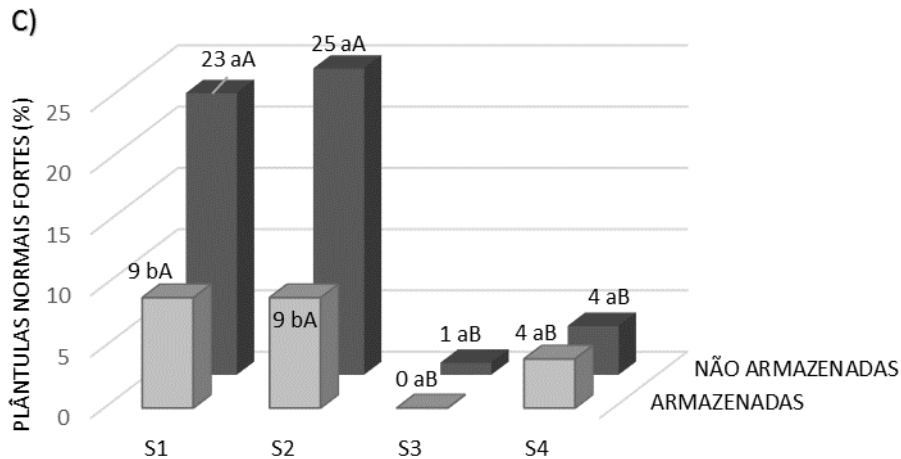
Figura 3 – Resultados de germinação (B) das sementes de *Coffea arabica* L., antes e após armazenamento por seis meses. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si, pelo teste de *Scott-Knott*, ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam o efeito do armazenamento dentro do mesmo tratamento e maiúsculas comparam os tratamentos dentro do armazenamento. Tratamentos: (S1) sementes secadas em secador estacionário até 12% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S2) sementes secadas em secador estacionário até 32% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S3) sementes secadas em solução salina saturada até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido; (S4) sementes secadas em sílica gel até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido.



Michalak et al. (2013), em estudo de protocolos de criopreservação de sementes de avelã, observaram que é viável a criopreservação das sementes dessa espécie quando elas são secadas em sílica gel no intervalo de 5 a 10% de umidade. Coelho et al. (2018), estudando protocolo de criopreservação para sementes de *Coffea canephora* Pierre observaram que a secagem lenta foi prejudicial para a germinação e para outros atributos fisiológicos das sementes, além de constatar maiores resultados para as sementes secadas em sílica gel.

De maneira geral, verificou-se efeito negativo da criopreservação sobre os resultados de plântulas normais fortes. Além disso, houve redução do valor da variável analisada nos tratamentos S1 e S2, após seis meses de armazenamento em câmara fria (FIGURA 4).

Figura 4 – Resultados de plântulas normais fortes (C) das sementes de *Coffea arabica* L., antes e após armazenamento por seis meses. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si, pelo teste de *Scott-Knott*, ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam o efeito do armazenamento dentro do mesmo tratamento e maiúsculas comparam os tratamentos dentro do armazenamento. Tratamentos: (S1) sementes secadas em secador estacionário até 12% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S2) sementes secadas em secador estacionário até 32% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S3) sementes secadas em solução salina saturada até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido; (S4) sementes secadas em sílica gel até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido.

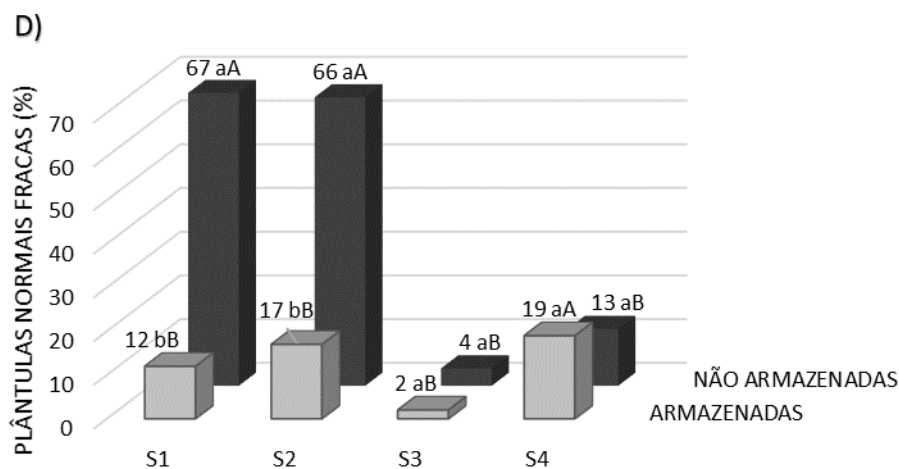


Fonte: Da autora (2019).

Segundo Dussert et al. (1988), em experimentos de criopreservação com sementes da espécie *Coffea arabica* L., a germinação nem sempre é sucedida pelo desenvolvimento de plântulas normais. Esse fato pode ser explicado devido a maior sensibilidade do endosperma a baixas temperaturas. Nesses casos, o endosperma é suficientemente intacto para permitir a germinação de todos os embriões viáveis, porém, sua função nutricional é prejudicada (DUSSERT, 1997, 1998, 1999, 2006, 2012; GUIMARÃES et al., 2014; COELHO et al., 2015).

É importante ressaltar, que para as sementes do tratamento S4, após armazenamento por seis meses em nitrogênio líquido, os valores dessa característica tendem a ser iguais ou até maiores que os tratamentos não criopreservados (S1 e S2), como observado nos resultados de plântulas normais fracas (FIGURA 5).

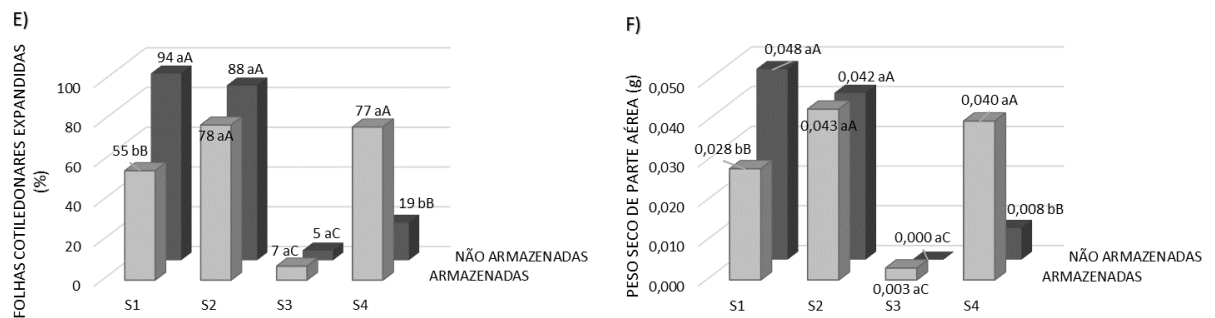
Figura 5 – Resultados de plântulas normais fracas (D) das sementes de *Coffea arabica* L., antes e após armazenamento por seis meses. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si, pelo teste de *Scott-Knott*, ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam o efeito do armazenamento dentro do mesmo tratamento e maiúsculas comparam os tratamentos dentro do armazenamento. Tratamentos: (S1) sementes secadas em secador estacionário até 12% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S2) sementes secadas em secador estacionário até 32% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S3) sementes secadas em solução salina saturada até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido; (S4) sementes secadas em sílica gel até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido.



Fonte: Da autora (2019).

Houve redução significativa dos percentuais de plântulas com folhas cotiledonares expandidas e de peso seco de parte aérea nas sementes do tratamento S1 após o armazenamento por seis meses (FIGURA 6). Em contrapartida, as sementes secadas em sílica gel e criopreservadas (tratamento S4), novamente obtiveram resultados significativamente maiores após seis meses de armazenamento em nitrogênio líquido, sendo significativamente iguais às sementes do tratamento S2, após o armazenamento.

Figura 6 – Resultados de plântulas com folhas cotiledonares expandidas (E) e peso seco de parte aérea (F) das sementes de *Coffea arabica* L., antes e após armazenamento por seis meses. Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si, pelo teste de *Scott-Knott*, ao nível de 5% de probabilidade. Letras minúsculas comparam o efeito do armazenamento dentro do mesmo tratamento e maiúsculas comparam os tratamentos dentro do armazenamento. Tratamentos: (S1) sementes secadas em secador estacionário até 12% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S2) sementes secadas em secador estacionário até 32% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S3) sementes secadas em solução salina saturada até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido; (S4) sementes secadas em sílica gel até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido.



Fonte: Da autora (2019).

Os resultados desse estudo corroboram com Pammenter e Berjak (2014) e Coelho et al. (2015), que afirmam que a secagem rápida, em sílica gel, é melhor que a secagem lenta, em solução salina saturada para a criopreservação de sementes de espécies intermediárias como o café. Para a variável peso seco de raízes não foram observados resultados significativos, então os mesmos não foram apresentados.

Em relação à análise dos resultados da avaliação das sementes submetidas aos diferentes tratamentos a serem utilizados nos estudos de formação de mudas, permanece a indagação sobre a melhor umidade para armazenamento das sementes de *Coffea arabica* L. (MIRANDA, 1993; VEIGA et al., 2007; VIEIRA et al., 2007; BRAGHINI; FAZUOLI, 2007).

3.2 Avaliação das mudas

As mudas produzidas em viveiro foram avaliadas 182 dias após a semeadura e em casa de vegetação, após 180 dias da semeadura, ou seja, aproximadamente 6 meses, em ambos os locais de produção de muda.

Na Tabela 2 são apresentados os resultados da avaliação das mudas de café provenientes das sementes submetidas aos diferentes tratamentos de secagem, armazenamento e local de

produção das mudas. Para os resultados do número de pares de folhas verdadeiras, altura média da muda e área foliar, houve interação tripla dos fatores em estudo, ou seja, tratamentos das sementes, épocas e local de produção.

Pelos resultados apresentados na Tabela 2, observa-se tendência de melhores resultados para a maioria das variáveis das mudas produzidas em casa de vegetação em todos os tratamentos avaliados, em ambas as épocas de armazenamento. Em alguns tratamentos essa diferença foi significativa.

Tabela 2 – Número médio de pares de folhas verdadeiras, altura média da muda e área foliar média, de mudas oriundas de sementes de *Coffea arabica* L., avaliadas antes e após armazenamento.

Antes do armazenamento						Após o armazenamento			
Tratamento									
Variável	Local	S1	S2	S3	S4	S1	S2	S3	S4
Nº de pares de folhas	C. Veg	4 aA (a)	4 aA (a)	0 aC (a)	2 aB (a)	2 bA (b)	3 aA (b)	0 aB (a)	2 aA (a)
	Viveiro	3 aA (a)	3 aA (a)	1 aB (a)	1 aB (a)	3 aA (a)	2 aB (b)	0 aC (a)	0 bC (a)
CV (%)					31,16				
Altura da muda (cm)	C. Veg	16,46 aA (a)	16,42 aA (a)	1,29 aC (a)	4,96 aB (a)	4,34 bA (b)	6,82 aA (b)	0,58 aB (a)	5,30 aA (a)
	Viveiro	11,67 bA (a)	10,50 bA (a)	1,92 aB (a)	2,63 aB (a)	8,96 aA (a)	6,31 aA (b)	0 aB (a)	1,46 bB (a)
CV (%)					32,56				
Área foliar (cm ²)	C. Veg	200,79 aA (a)	183,65 aA (a)	23,98 aC (a)	82,23 aB (a)	38,73 aA (b)	56,84 aA (b)	2,27 aA (a)	42,11 aA (a)
	Viveiro	90,56 bA (a)	94,37 bA (a)	19,26 aB (a)	17,16 bB (a)	75,32 aA (a)	47,29 aA (a)	0 aB (a)	11,80 aB (a)
CV (%)					49,23				

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas dentro de tratamentos e minúsculas entre parênteses nas linhas entre os tipos armazenamento, não diferem entre si, pelo teste de *Scott-Knott*, ao nível de 5% de probabilidade. Tratamentos: (S1) sementes secadas em secador estacionário até 12% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S2) sementes secadas em secador estacionário até 32% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S3) sementes secadas em solução salina saturada até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido; (S4) sementes secadas em sílica gel até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido.

Fonte: Da autora (2019).

Teixeira et al. (2001), comparando os parâmetros de crescimento de mudas de café produzidas em casa de vegetação e viveiro, observaram melhores para o cultivo em casa de vegetação em todas as avaliações realizadas.

Assim como os resultados da análise fisiológica das sementes, os resultados da avaliação das mudas também foram menores para o tratamento S3, correspondente às sementes que foram

secadas em solução salina saturada e criopreservadas, nos dois ambientes e épocas avaliadas (TABELA 2).

Para as três variáveis (TABELA 2) analisadas, nota-se que, os tratamentos S1 e S2 na primeira época obtiveram melhores resultados que os demais tratamentos nos dois locais de desenvolvimento. Porém, após seis meses de armazenamento, pode-se observar que as mudas do tratamento S4 desenvolvidas em casa de vegetação, apresentaram valores significativamente iguais aos tratamentos S1 e S2. Este é um resultado importante, pois indica a real possibilidade da utilização de sementes criopreservadas para a produção de mudas de *Coffea arabica* L, em qualquer época do ano, flexibilizando a oferta de mudas aos produtores. A criopreservação das sementes garante a conservação segura, desde que sejam tomados os cuidados nas diferentes etapas do processo preparatório para a imersão das sementes no nitrogênio líquido e, também, no descongelamento (FIGUEIREDO et al., 2017; COELHO et al., 2017).

Outro fato observado nesse estudo foi que o desempenho das mudas em relação ao diâmetro médio de caule, peso seco de parte aérea e de raízes, originadas das sementes não armazenadas, foi estatisticamente superior ao das mudas da segunda época (TABELA 3).

Tabela 3 – Diâmetro médio de caule, peso seco médio de parte aérea e peso seco médio de raízes, de mudas oriundas de sementes de *Coffea arabica* L., avaliadas antes e após armazenamento.

Épocas	Variáveis		
	Diâmetro de caule (mm)	Peso seco de parte aérea (g)	Peso seco de raízes (g)
Antes do armazenamento	1,82 a	0,63 a	0,19 a
Após o armazenamento	0,97 b	0,28 b	0,09 b
CV (%)	84,47	76,51	75,63

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de *Scott-Knott*, ao nível de 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2019).

Observa-se na Tabela 4, pelos dados de diâmetro médio de caule e peso seco de raízes, que as mudas originadas de sementes secadas em sal e criopreservadas (S3) apresentaram resultados significativamente inferiores aos demais tratamentos, que, por sua vez, não apresentaram diferenças significativas para estas avaliações. Resultados similares foram observados para o peso seco de parte aérea, porém, para essa variável, os dois tratamentos que passaram por criopreservação (S3 e S4) foram significativamente inferiores aos demais, nesta avaliação.

Tabela 4 – Diâmetro médio de caule, peso seco médio de parte aérea e peso seco médio de raízes, de mudas oriundas de sementes de *Coffea arabica* L., submetidas aos diferentes tratamentos.

Tratamentos	Variáveis		
	Diâmetro médio de caule (mm)	Peso seco de parte aérea (g)	Peso seco de raízes (g)
S1	2,08 a	0,72 a	0,20 a
S2	2,05 a	0,66 a	0,18 a
S3	0,15 b	0,16 b	0,04 b
S4	1,32 a	0,28 b	0,14 a
CV (%)	84,47	76,51	75,63

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade. Tratamentos: (S1) sementes secadas em secador estacionário até 12% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S2) sementes secadas em secador estacionário até 32% de umidade e armazenadas em câmara fria e seca; (S3) sementes secadas em solução salina saturada até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido; (S4) sementes secadas em sílica gel até 17% de umidade e armazenadas em nitrogênio líquido.

4 CONCLUSÕES

Sementes de café com umidade de 32% armazenadas em câmara fria, e sementes com 17% criopreservadas, apresentam a mesma germinação e vigor, após seis meses de armazenamento.

O crescimento de mudas de *Coffea arabica* L. em casa de vegetação foi superior ao sistema convencional em viveiro na maioria das avaliações.

REFERÊNCIAS

- BALIZA, D.P. et al. Antecipação da produção e desenvolvimento da lavoura cafeeira implantada com diferentes tipos de mudas. **Coffee Science**, Lavras, v. 8, n. 1, p. 61-68, 2013.
- BARROS, R.S. et al. Determinação de área de folhas do café (*Coffea arabica* L. cv. 'Bourbon Amarelo'). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 20, n. 107, p. 44-52, 1973.
- BELTRAO, N.E. de M.; FIDELES, F.J.; FIGUEIREDO, I.C. de M. Uso adequado de casa-de-vegetação e de telados na experimentação agrícola. **Rev. bras. eng. agríc. ambient.** Campina Grande, v. 6, n. 3, p. 547-552, dez. 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399 p.
- CARVALHO, G.R. et al. Efeito do ácido giberélico e benzilaminopurina no crescimento in vitro de embriões de cafeeiro cv. Acaiaí. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 6, p. 847-851, jun. 1998.
- COELHO, S.V.B. et al. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de café secas em sílica gel e soluções salinas saturadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 50, n. 6, p. 483-491, jun. 2015.
- COELHO, S.V.B et al. Cryopreservation in *Coffea canephora* Pierre seeds: Slow and fast cooling. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 42, n. 6, p. 588-597, dec. 2018.
- COSTA, E.; SANTOS, L.C.R.; VIEIRA, L.C.R. Produção de mudas de mamoeiro utilizando diferentes substratos, ambientes de cultivo e recipientes. **Eng. Agríc.**, Jaboticabal, v. 29, n. 4, p. 528-537, 2009.
- DUSSERT, S. et al. Cryopreservation of coffee (*Coffea arabica* L.) seeds: Importance of the precooling temperature. **CryoLetters**, v. 18, n. 5, p. 269-276, Set. 1997.
- DUSSERT, S. et al. Cryopreservation of seeds of four coffee species (*Coffea arabica*, *C. costatifructa*, *C. racemosa* and *C. sessiliflora*): importance of water content and cooling rate. **Seed Science Research**, v. 8, p. 9-15, 1998.
- DUSSERT, S. et al. Quantitative estimation of seed desiccation sensitivity using a quantal response model: application to nine species of the genus *Coffea* L. **Seed Science Research**, v. 9, n. 2, p.135-144, feb. 1999.
- DUSSERT, S. et al. Oxidative stress, phospholipid loss and lipid hydrolysis during drying and storage of intermediate seeds. **Physiologia Plantarum**, v. 127, p. 192-204, 2006.
- DUSSERT, S. et al. Biologie de la conservation des semences de caféiers: Aspects fondamentaux et conséquences pratiques. Une revue. **Cahiers Agricultures**, v. 21, n. 2, p. 106- 114, 2012.

FERREIRA, M.A. et al. Modificação parcial do ambiente de cultivo da videira ‘Cabernet Sauvignon’ sobre diferentes porta-enxertos: efeito sobre a produção e o teor de sólidos solúveis. **Bragantia**, v. 63, p. 439-445, 2004.

FREITAS, R.N.S. et al. Caracterização pós-colheita de figos (*Ficus carica* L.) produzidos sob diferentes condições de cultivo na Chapada do Apodi-CE. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v. 10, n. 1, p. 43-46, 2015.

GUIMARÃES, R.J. et al. Efeitos da citocinina, giberelina e remoção do endocarpo na germinação de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 22, n. 3, p. 390-396, maio/jun. 1998.

GUIMARÃES, R.J.; MENDES, A.N.G.; SOUZA, C.A.S. **Cafeicultura**. Lavras: UFLA, 2002. 317 p.

GUIMARÃES, C.C. et al. A baixa tolerância de sementes de café à dessecação está associada à maior sensibilidade do endosperma. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS – CBPC, 40., 2014, Serra Negra, SP. **Anais...Serra Negra: CBPC**, 2014, p. 321.

MENDONÇA, V. et al. Diferentes ambientes e Osmocote® na produção de mudas de tamarindeiro (*Tamarindus indica*). **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 2, p. 391-397, apr. 2008.

MICHALAK, M.; PLITTA, B.P.; CHMIELARZ, P. Desiccation sensitivity and successful cryopreservation of oil seeds of European hazelnut (*Corylus avellana*). **Annals of Applied Biology**, v. 163, n. 3, p. 351-358. aug. 2013.

OLIVEIRA, M.R.V. de. O emprego de casas-de-vegetação no Brasil: vantagens e desvantagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 8, p. 1049-1060, 1995.

OLIVEIRA, A.M.D. et al. Production of watermelon seedlings in different environments and of fruits in the field. **Ceres**, v. 62, n. 1, p. 87-92, 2015.

PAMMENTER, N.W; BERJAK, P. Physiology of desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds and the implications for cryopreservation. **International Journal Plant Science**, Chicago, v. 175, n. 1, p. 21-28, jan. 2014.

REBOUÇAS, P.M. et al. Radiação solar e temperatura do ar em ambiente protegido. **Revista Agroambiental**, Pouso Alegre, v. 7, n. 2, p. 115-125, jun. 2015.

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: Potafos, 1986. p.13-85.

ROSA, S.D.V.F. et al. Formação de mudas de *Coffea arabica* L. cv. rubi utilizando sementes ou frutos em diferentes estágios de desenvolvimento. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 349-356, abr. 2007.

SILVA, B.A.; SILVA, A.R.; PAGIUCA, L.G. Cultivo Protegido: Em busca de mais eficiência produtiva! **Revista Técnica Hortifruti Brasil**, p. 10-18, 2014.

TEIXEIRA, M.B. et al. Avaliação comparativa dos parâmetros de crescimento e a produção de cafeeiros cultivados em casa de vegetação e a céu aberto irrigados por gotejamento. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2001, 2., Vitória. **Anais...** Brasília, DF: EMBRAPA Café, 2001.

TULLIO, J.A. et al. Cultivo de beterraba em ambientes protegido e natural na época de verão. **Rev. bras. eng. agríc. ambient.**, Campina Grande, v. 17, n. 10, p. 1074-1079, oct. 2013.

ANEXOS

Tabela 1A – Tabela de análise de variância para porcentagem de protrusão radicular de sementes de *Coffea arabica* L., de duas safras consecutivas, submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	3	18504.000000	6168.000000	139.653	0.0000
SAFRA	1	400.000000	400.000000	9.057	0.0042
EPOCA	1	121.000000	121.000000	2.740	0.1044
TRATAMENTO*SAFRA	3	1452.000000	484.000000	10.958	0.0000
TRATAMENTO*EPOCA	3	35.000000	11.666667	0.264	0.8510
SAFRA*EPOCA	1	169.000000	169.000000	3.826	0.0563
TRATAMENTO*SAFRA*EPO	3	43.000000	14.333333	0.325	0.8075
erro	48	2120.000000	44.166667		
Total corrigido	63	22844.000000			
CV (%) =	8.18				
Média geral:	81.2500000	Número de observações:	64		

Tabela 2A – Tabela de análise de variância para porcentagem de germinação de sementes de *Coffea arabica* L., de duas safras consecutivas, submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	3	61478.750000	20492.916667	316.493	0.0000
SAFRA	1	1560.250000	1560.250000	24.097	0.0000
EPOCA	1	650.250000	650.250000	10.042	0.0027
TRATAMENTO*SAFRA	3	16856.750000	5618.916667	86.779	0.0000
TRATAMENTO*EPOCA	3	490.750000	163.583333	2.526	0.0685
SAFRA*EPOCA	1	110.250000	110.250000	1.703	0.1982
TRATAMENTO*SAFRA*EPO	3	46.750000	15.583333	0.241	0.8677
erro	48	3108.000000	64.750000		
Total corrigido	63	84301.750000			
CV (%) =	14.42				
Média geral:	55.8125000	Número de observações:	64		

Tabela 3A – Tabela de análise de variância para porcentagem de plântulas normais forte de sementes de *Coffea arabica* L., de duas safras consecutivas, submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	3	3784.000000	1261.333333	38.810	0.0000
SAFRA	1	25.000000	25.000000	0.769	0.3848
EPOCA	1	676.000000	676.000000	20.800	0.0000
TRATAMENTO*SAFRA	3	571.000000	190.333333	5.856	0.0017
TRATAMENTO*EPOCA	3	164.000000	54.666667	1.682	0.1833
SAFRA*EPOCA	1	841.000000	841.000000	25.877	0.0000
TRATAMENTO*SAFRA*EPO	3	251.000000	83.666667	2.574	0.0648
erro	48	1560.000000	32.500000		
Total corrigido	63	7872.000000			
CV (%) =	43.85				
Média geral:	13.0000000	Número de observações:	64		

Tabela 4A – Tabela de análise de variância para porcentagem de plântulas normais fracas de sementes de *Coffea arabica* L., de duas safras consecutivas, submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	3	24079.046875	8026.348958	105.487	0.0000
SAFRA	1	763.140625	763.140625	10.030	0.0027
EPOCA	1	5130.140625	5130.140625	67.423	0.0000
TRATAMENTO*SAFRA	3	8889.546875	2963.182292	38.944	0.0000
TRATAMENTO*EPOCA	3	1546.546875	515.515625	6.775	0.0007
SAFRA*EPOCA	1	3797.640625	3797.640625	49.911	0.0000
TRATAMENTO*SAFRA*EPO	3	1104.046875	368.015625	4.837	0.0051
erro	48	3652.250000	76.088542		
Total corrigido	63	48962.359375			
CV (%) =	26.60				
Média geral:	32.7968750	Número de observações:	64		

Tabela 5A – Tabela de análise de variância para porcentagem de folhas cotiledonares expandidas de sementes de *Coffea arabica* L., de duas safras consecutivas, submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	3	58892.000000	19630.666667	314.091	0.0000
SAFRA	1	1521.000000	1521.000000	24.336	0.0000
EPOCA	1	784.000000	784.000000	12.544	0.0009
TRATAMENTO*SAFRA	3	16203.000000	5401.000000	86.416	0.0000
TRATAMENTO*EPOCA	3	556.000000	185.333333	2.965	0.0412
SAFRA*EPOCA	1	81.000000	81.000000	1.296	0.2606
TRATAMENTO*SAFRA*EPO	3	83.000000	27.666667	0.443	0.7235
erro	48	3000.000000	62.500000		
Total corrigido	63	81120.000000			
CV (%) =	14.64				
Média geral:	54.0000000	Número de observações:	64		

Tabela 6A – Tabela de análise de variância para peso seco de raízes de sementes de *Coffea arabica* L., de duas safras consecutivas, submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	3	0.001900	0.000633	1.583	0.2056
SAFRA	1	0.000100	0.000100	0.250	0.6194
EPOCA	1	0.000400	0.000400	1.000	0.3223
TRATAMENTO*SAFRA	3	0.000300	0.000100	0.250	0.8611
TRATAMENTO*EPOCA	3	0.001200	0.000400	1.000	0.4010
SAFRA*EPOCA	1	0.000400	0.000400	1.000	0.3223
TRATAMENTO*SAFRA*EPO	3	0.001200	0.000400	1.000	0.4010
erro	48	0.019200	0.000400		
Total corrigido	63	0.024700			
CV (%) =	228.57				
Média geral:	0.0087500	Número de observações:	64		

Tabela 7A – Tabela de análise de variância para peso seco de parte aérea de sementes de *Coffea arabica* L., de duas safras consecutivas, submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	3	0.015331	0.005110	258.211	0.0000
SAFRA	1	0.000625	0.000625	31.579	0.0000
EPOCA	1	0.000100	0.000100	5.053	0.0292
TRATAMENTO*SAFRA	3	0.004588	0.001529	77.263	0.0000
TRATAMENTO*EPOCA	3	0.000163	0.000054	2.737	0.0537
SAFRA*EPOCA	1	0.000006	0.000006	0.316	0.5768
TRATAMENTO*SAFRA*EPO	3	0.000081	0.000027	1.368	0.2637
erro	48	0.000950	0.000020		
Total corrigido	63	0.021844			
CV (%) =	16.75				
Média geral:	0.0265625	Número de observações:	64		

Tabela 8A – Tabela de análise de variância para número de pares de folhas de mudas de *Coffea arabica* L., provenientes de sementes submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
EPOCA	1	0.352838	0.352838	0.743	0.4031
TRAT	3	21.329346	7.109782	14.978	0.0001
REPET	2	0.945325	0.472663	0.996	0.3942
EPOCA*TRAT	3	8.666846	2.888949	6.086	0.0072
erro	14	6.645608	0.474686		
Total corrigido	23	37.939963			
CV (%) =	34.51				
Média geral:	1.9962500	Número de observações:	24		

Tabela 9A – Tabela de análise de variância para altura média da muda de *Coffea arabica* L., provenientes de sementes submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
EPOCA	1	4.851004	4.851004	1.406	0.2555
TRAT	3	166.021179	55.340393	16.035	0.0001
REPET	2	8.608008	4.304004	1.247	0.3174
EPOCA*TRAT	3	54.139312	18.046437	5.229	0.0125
erro	14	48.318592	3.451328		
Total corrigido	23	281.938096			
CV (%) =	32.78				
Média geral:	5.6670833	Número de observações:	24		

Tabela 10A – Tabela de análise de variância para diâmetro médio de caule de mudas de *Coffea arabica* L., provenientes de sementes submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
EPOCA	1	0.017067	0.017067	0.022	0.8846
TRAT	3	20.414317	6.804772	8.716	0.0016
REPET	2	2.712408	1.356204	1.737	0.2119
EPOCA*TRAT	3	10.264733	3.421578	4.383	0.0225
erro	14	10.929858	0.780704		
Total corrigido	23	44.338383			
CV (%) =	54.01				
Média geral:	1.6358333	Número de observações:	24		

Tabela 11A – Tabela de análise de variância para peso seco de raízes de mudas de *Coffea arabica* L., provenientes de sementes submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
EPOCA	1	0.008992	0.008992	9.443	0.0083
TRAT	3	0.065152	0.021717	22.808	0.0000
REPET	2	0.005483	0.002742	2.879	0.0897
EPOCA*TRAT	3	0.008723	0.002908	3.054	0.0634
erro	14	0.013330	0.000952		
Total corrigido	23	0.101680			
CV (%) =	31.39				
Média geral:	0.0983142	Número de observações:	24		

Tabela 12A – Tabela de análise de variância para peso seco de parte aérea de mudas de *Coffea arabica* L., provenientes de sementes submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
EPOCA	1	0.085624	0.085624	5.915	0.0290
TRAT	3	0.693243	0.231081	15.964	0.0001
REPET	2	0.039473	0.019737	1.363	0.2877
EPOCA*TRAT	3	0.111809	0.037270	2.575	0.0955
erro	14	0.202658	0.014476		
Total corrigido	23	1.132807			
CV (%) =	33.93				
Média geral:	0.3545908	Número de observações:	24		

Tabela 13A – Tabela de análise de variância para área foliar de mudas de *Coffea arabica* L., provenientes de sementes submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
EPOCA	1	9322.830017	9322.830017	35.361	0.0000
TRAT	3	5626.775517	1875.591839	7.114	0.0039
REPET	2	1086.897608	543.448804	2.061	0.1642
EPOCA*TRAT	3	3372.391517	1124.130506	4.264	0.0246
erro	14	3691.070325	263.647880		
Total corrigido	23	23099.964983			
CV (%) =	42.42				
Média geral:	38.2791667	Número de observações:	24		

Tabela 14A – Tabela de análise de variância para porcentagem de protrusão radicular de sementes de *Coffea arabica* L., submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	3	9525.500000	3175.166667	79.050	0.0000
EPOCA	1	40.500000	40.500000	1.008	0.3253
TRATAMENTO*EPOCA	3	777.500000	259.166667	6.452	0.0023
erro	24	964.000000	40.166667		
Total corrigido	31	11307.500000			
CV (%) =	7.96				
Média geral:	79.6250000	Número de observações:	32		

Tabela 15A – Tabela de análise de variância para porcentagem de germinação de sementes de *Coffea arabica* L., submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	3	30292.000000	10097.333333	135.232	0.0000
EPOCA	1	98.000000	98.000000	1.313	0.2632
TRATAMENTO*EPOCA	3	10050.000000	3350.000000	44.866	0.0000
erro	24	1792.000000	74.666667		
Total corrigido	31	42232.000000			
CV (%) =	15.86				
Média geral:	54.5000000	Número de observações:	32		

Tabela 16A – Tabela de análise de variância para porcentagem de plântulas normais fortes de sementes de *Coffea arabica* L., submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	3	1677.500000	559.166667	21.101	0.0000
EPOCA	1	480.500000	480.500000	18.132	0.0003
TRATAMENTO*EPOCA	3	425.500000	141.833333	5.352	0.0057
erro	24	636.000000	26.500000		
Total corrigido	31	3219.500000			
CV (%) =	54.91				
Média geral:	9.3750000	Número de observações:	32		

Tabela 17A – Tabela de análise de variância para porcentagem de plântulas normais fracas de sementes de *Coffea arabica* L., submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	3	8519.093750	2839.697917	58.138	0.0000
EPOCA	1	4925.281250	4925.281250	100.837	0.0000
TRATAMENTO*EPOCA	3	5788.093750	1929.364583	39.501	0.0000
erro	24	1172.250000	48.843750		
Total corrigido	31	20404.718750			
CV (%) =	27.85				
Média geral:	25.0937500	Número de observações:	32		

Tabela 18A – Tabela de análise de variância para porcentagem de folhas cotiledonares expandidas de sementes de *Coffea arabica* L., submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	3	28769.500000	9589.833333	133.501	0.0000
EPOCA	1	60.500000	60.500000	0.842	0.3679
TRATAMENTO*EPOCA	3	9917.500000	3305.833333	46.021	0.0000
erro	24	1724.000000	71.833333		
Total corrigido	31	40471.500000			
CV (%) =	16.03				
Média geral:	52.8750000	Número de observações:	32		

Tabela 19A – Tabela de análise de variância para peso seco de raízes de sementes de *Coffea arabica* L., submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	3	0.002550	0.000850	1.063	0.3834
EPOCA	1	0.000450	0.000450	0.563	0.4605
TRATAMENTO*EPOCA	3	0.001350	0.000450	0.563	0.6449
erro	24	0.019200	0.000800		
Total corrigido	31	0.023550			
CV (%) =	251.42				
Média geral:	0.0112500	Número de observações:	32		

Tabela 20A – Tabela de análise de variância para peso seco de parte aérea de sementes de *Coffea arabica* L., submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	3	0.008175	0.002725	145.333	0.0000
EPOCA	1	0.000113	0.000113	6.000	0.0220
TRATAMENTO*EPOCA	3	0.002813	0.000938	50.000	0.0000
erro	24	0.000450	0.000019		
Total corrigido	31	0.011550			
CV (%) =	16.50				
Média geral:	0.0262500	Número de observações:	32		

Tabela 21A – Tabela de análise de variância para número de pares de folhas de mudas de *Coffea arabica* L., provenientes de sementes submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento, instaladas em casa de vegetação e viveiro.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
EPOCA	1	5.957252	5.957252	15.915	0.0004
LOCAL	1	3.657552	3.657552	9.771	0.0039
TRAT	3	69.660156	23.220052	62.032	0.0000
BLOCO	2	0.783854	0.391927	1.047	0.3635
EPOCA*LOCAL	1	0.076002	0.076002	0.203	0.6555
EPOCA*TRAT	3	4.200506	1.400169	3.741	0.0214
LOCAL*TRAT	3	6.295573	2.098524	5.606	0.0036
EPOCA*LOCAL*TRAT	3	4.910923	1.636974	4.373	0.0114
erro	30	11.229679	0.374323		
Total corrigido	47	106.771498			
CV (%) =	31.16				
Média geral:	1.9635417	Número de observações:	48		

Tabela 22A – Tabela de análise de variância para altura da muda de *Coffea arabica* L., provenientes de sementes submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento, instaladas em casa de vegetação e viveiro.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
EPOCA	1	193.001302	193.001302	46.962	0.0000
LOCAL	1	30.384919	30.384919	7.393	0.0108
TRAT	3	794.644923	264.881641	64.452	0.0000
BLOCO	2	5.280467	2.640233	0.642	0.5331
EPOCA*LOCAL	1	27.527552	27.527552	6.698	0.0147
EPOCA*TRAT	3	120.472806	40.157602	9.771	0.0001
LOCAL*TRAT	3	29.197023	9.732341	2.368	0.0905
EPOCA*LOCAL*TRAT	3	63.750356	21.250119	5.171	0.0053
erro	30	123.291600	4.109720		
Total corrigido	47	1387.550948			
CV (%) =	32.56				
Média geral:	6.2260417	Número de observações:	48		

Tabela 23A – Tabela de análise de variância para diâmetro médio de caule de mudas de *Coffea arabica* L., provenientes de sementes submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento, instaladas em casa de vegetação e viveiro.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
EPOCA	1	8.644519	8.644519	6.219	0.0184
LOCAL	1	0.556852	0.556852	0.401	0.5316
TRAT	3	29.470606	9.823535	7.068	0.0010
BLOCO	2	2.433487	1.216744	0.875	0.4271
EPOCA*LOCAL	1	0.949219	0.949219	0.683	0.4151
EPOCA*TRAT	3	1.285006	0.428335	0.308	0.8193
LOCAL*TRAT	3	0.356540	0.118847	0.086	0.9676
EPOCA*LOCAL*TRAT	3	4.733173	1.577724	1.135	0.3507
erro	30	41.697979	1.389933		
Total corrigido	47	90.127381			
CV (%) =	84.47				
Média geral:	1.3956250	Número de observações:	48		

Tabela 24A – Tabela de análise de variância para peso seco de raízes de mudas de *Coffea arabica* L., provenientes de sementes submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento, instaladas em casa de vegetação e viveiro.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
EPOCA	1	0.134620	0.134620	11.673	0.0018
LOCAL	1	0.045880	0.045880	3.978	0.0552
TRAT	3	0.175646	0.058549	5.077	0.0058
BLOCO	2	0.007253	0.003626	0.314	0.7326
EPOCA*LOCAL	1	0.008269	0.008269	0.717	0.4038
EPOCA*TRAT	3	0.008329	0.002776	0.241	0.8673
LOCAL*TRAT	3	0.058391	0.019464	1.688	0.1907
EPOCA*LOCAL*TRAT	3	0.029949	0.009983	0.866	0.4696
erro	30	0.345968	0.011532		
Total corrigido	47	0.814306			
CV (%) =	75.63				
Média geral:	0.1420000	Número de observações:	48		

Tabela 25A – Tabela de análise de variância para peso seco de parte aérea de mudas de *Coffea arabica* L., provenientes de sementes submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento, instaladas em casa de vegetação e viveiro.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
EPOCA	1	1.514431	1.514431	12.460	0.0014
LOCAL	1	0.353290	0.353290	2.907	0.0986
TRAT	3	2.729579	0.909860	7.486	0.0007
BLOCO	2	0.163803	0.081901	0.674	0.5173
EPOCA*LOCAL	1	0.300833	0.300833	2.475	0.1262
EPOCA*TRAT	3	0.352725	0.117575	0.967	0.4210
LOCAL*TRAT	3	0.331550	0.110517	0.909	0.4482
EPOCA*LOCAL*TRAT	3	0.487980	0.162660	1.338	0.2805
erro	30	3.646339	0.121545		
Total corrigido	47	9.880531			
CV (%) =	76.51				
Média geral:	0.4556667	Número de observações:	48		

Tabela 26A – Tabela de análise de variância para área foliar de mudas de *Coffea arabica* L., provenientes de sementes submetidas a diferentes tratamentos de secagem e armazenamento, instaladas em casa de vegetação e viveiro.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
EPOCA	1	35910.550208	35910.550208	38.979	0.0000
LOCAL	1	14163.879408	14163.879408	15.374	0.0005
TRAT	3	69547.818017	23182.606006	25.164	0.0000
BLOCO	2	8408.526904	4204.263452	4.564	0.0186
EPOCA*LOCAL	1	13045.569633	13045.569633	14.160	0.0007
EPOCA*TRAT	3	13151.404908	4383.801636	4.758	0.0079
LOCAL*TRAT	3	4088.599275	1362.866425	1.479	0.2400
EPOCA*LOCAL*TRAT	3	8802.465450	2934.155150	3.185	0.0379
erro	30	27638.369963	921.278999		
Total corrigido	47	194757.183767			
CV (%) =	49.23				
Média geral:	61.6491667	Número de observações:	48		