



CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE CAFEIEIRO

(*Coffea arabica* L).

REGINALDO DE CAMARGO

1998



1
+
1888
01002
No.



1888
1000

1888
1000

1

REGINALDO DE CAMARGO

CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE CAFEIEIRO
(*Coffea arabica* L).

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para a obtenção do título de "MESTRE".

ORIENTADOR

Prof. Dr. Antônio Nazareno G. Mendes

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

1998

Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e Catalogação da
Biblioteca Central da UFLA

Camargo, Reginaldo de

Condicionamento fisiológico de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L) /
Reginaldo de Camargo. – Lavras : UFLA, 1998.

108 p. : il.

Orientador: Antônio Nazareno G. Mendes.

Dissertação (Mestrado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Café - Semente. 2. Embibeção. 3. Condicionamento. I. Universidade
Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.7321

REGINALDO DE CAMARGO

CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE CAFEIEIRO
(*Coffea arabica* L).

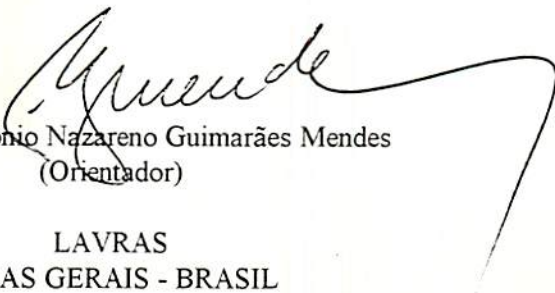
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para a obtenção do título de "MESTRE".

APROVADA em 13 de Fevereiro de 1998

Prof. Dr. Antônio Carlos Fraga

Prof. Ms. Renato Mendes Guimarães

Prof. Dr. Rubens José Guimarães



Prof. Dr. Antônio Nazareno Guimarães Mendes
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

“A sabedoria é o reflexo da luz eterna, espelho nítido da atividade de Deus e imagem da sua bondade”.

(Sabedoria 7: 26-27)

Aos meus pais (José e Ana Maria),
exemplos amor, dignidade e trabalho.

OFEREÇO

Aos meus pais, pelo amor e
dedicação, ao meu irmão Nilson
e família pelo incentivo e a
família Naves, pelo carinho e
compreensão.

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À Deus.

À Universidade Federal de Lavras - UFLA, em especial ao Departamento de Agricultura, pela oportunidade concedida para a realização do curso de mestrado.

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

Ao professor Antônio Nazareno Guimarães Mendes, pela orientação, incentivo e amizade.

Ao professor Rubens José Guimarães, professora Maria das Graças G. C. Vieira e professor Antônio Carlos Fraga, pela co-orientação.

Ao professor Renato Mendes Guimarães, pelas valiosas sugestões.

Ao Pós-graduando Delacyr da Silva Brandão Jr. pela colaboração nas avaliações de eletroforese.

Aos alunos do Núcleo de Estudos em Cafeicultura e bolsistas do setor de sementes pela colaboração nas avaliações dos experimentos.

Aos amigos de curso pela amizade, incentivo e ótima convivência durante este período.

Aos funcionários do viveiro de mudas de cafeeiro e do Laboratório de Análises de Sementes, pela colaboração durante a realização dos experimentos.

Ao professor Rubens José Guimarães, pelo essencial apoio, incentivo e amizade.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
CAPÍTULO 1.....	01
1 Introdução Geral.....	01
2 Referencial Teórico.....	03
2.1 Descrição da semente.....	03
2.2 Fatores que constituem problemas na germinação.....	04
2.2.1 Tempo de germinação.....	04
2.2.2 Presença do endocarpo e inibidores de germinação.....	05
2.2.3 Maturidade fisiológica das sementes.....	06
2.2.4 Rápida perda do vigor e da viabilidade.....	06
2.2.5 Sensibilidade a temperatura de secagem.....	09
2.3 Conceitos de relações hídricas.....	10
2.4 O processo de germinação.....	12
2.4.1 Conseqüências iniciais da embebição.....	12
2.4.2 Etapas da germinação.....	14
2.5 Condicionamento fisiológico de sementes.....	16
2.6 Relações entre fatores que afetam o condicionamento fisiológico...	21
3. Metodologia Geral.....	23
4 Referências bibliográficas.....	25
CAPÍTULO 2 - Estudos de Inativação e Determinação da Curva de Embebição de Sementes de Cafeeiro (<i>Coffea arabica</i> L.).....	34
1 Resumo.....	34
2 Abstract.....	35
3 Introdução.....	36
4 Metodologia.....	38

4.1 Metodologia do experimento I - Estudos de inativação de sementes de cafeeiro <i>Coffea arabica</i> L.) para a determinação da curva de embebição.....	38
4.2 Metodologia do experimento II - Determinação da curva de embebição de sementes de cafeeiro (<i>Coffea arabica</i> L.).....	39
5 Resultados e discussão.....	41
5.1 Experimento I - Estudos de inativação de sementes de cafeeiro (<i>Coffea arabica</i> L.) para determinação da curva de embebição.....	41
5.2 Experimento II - Determinação da curva de embebição de sementes de cafeeiro (<i>Coffea arabica</i> L.).....	45
6 Conclusões.....	49
7 Referências bibliográficas.....	50
CAPÍTULO 3 Estudos Sobre Condicionamento Fisiológico de Sementes de Cafeeiro (<i>Coffea arabica</i> L.).....	53
1 Resumo.....	53
2 Abstract.....	54
3 Introdução.....	55
4 Metodologia.....	57
4.1 Metodologia do experimento I - Efeitos de métodos e tempos de condicionamento fisiológico sobre a germinação e o vigor de sementes de cafeeiro (<i>Coffea arabica</i> L.).....	57
4.2 Metodologia do experimento II - Efeitos de potenciais hídricos e tempos de condicionamento sobre a qualidade fisiológica e padrões proteicos e enzimáticos de sementes de cafeeiro (<i>Coffea arabica</i> L.).....	60
5 Resultados e discussão.....	64
5.1 Experimento I - Efeitos de métodos e tempos de condicionamento fisiológico sobre a germinação e o vigor de sementes de cafeeiro (<i>Coffea arabica</i> L.).....	64
5.1.1 Grau de umidade das sementes.....	64
5.1.2 Índice de velocidade de germinação.....	66
5.1.3 Índice de velocidade de emergência em canteiro.....	69
5.1.4 Teste de germinação aos 15 e 30 dias.....	71

5.2 Experimento II - Efeitos de potenciais hídricos e tempos de condicionamento sobre a qualidade fisiológica e padrões proteicos e enzimáticos de sementes de cafeeiro (<i>coffea arabica</i> L.).....	73
5.2.1 Grau de umidade das sementes.....	73
5.2.2 Percentagem de germinação.....	77
5.2.3 Percentagem de plântulas com raízes secundárias.....	84
5.2.4 Peso de matéria seca do sistema radicular.....	88
5.2.5 Percentagem de plântulas no estágio de “palito de fósforo”.....	89
5.2.6 Percentagem de plântulas no estágio de “orelha de onça”.....	93
5.2.7 Alterações em padrões eletroforéticos de enzimas e proteína	96
6 Conclusões.....	102
7 Referências bibliográficas.....	103
CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	107

RESUMO

CAMARGO, Reginaldo de. Condicionamento fisiológico de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). UFLA, 1998. 108 p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia)*

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Análise de Sementes e no viveiro de café do Setor de Cafeicultura da Universidade Federal de Lavras - MG, tendo como principal objetivo o aperfeiçoamento de uma metodologia para o condicionamento fisiológico de sementes de cafeeiro. Por se tratar de um estudo pioneiro relacionado ao envigoramento de sementes de cafeeiro, na primeira fase do trabalho foram realizados dois estudos básicos preliminares: o primeiro correspondeu ao estudo de inativação de sementes de cafeeiro para a determinação da curva de embebição das sementes, a qual foi realizada no segundo experimento. Avaliou-se os efeitos de temperaturas, tempos de aquecimento e presença do endocarpo, com a finalidade de determinar qual a menor temperatura e tempo de aquecimento capazes de provocar a inativação de 100% das sementes. Determinou-se que a inativação das sementes para o estudo da curva de embebição pode ser realizada pelo aquecimento das sementes a temperaturas próximas a 70°C por 12 horas, sem a necessidade da retirada do endocarpo. No segundo experimento da primeira fase do trabalho onde foram determinadas as curvas de embebições para sementes viáveis e inviáveis, com e sem endocarpo, foram realizadas leituras da percentagem de umidade a cada 12 horas, até as 480 horas após o início do teste. Foi observado que nas sementes vivas com e sem endocarpo a fase I é completada próximo às 144 horas, sendo que somente as sementes sem endocarpo atingiram a fase III, a qual tem início em torno de 228 horas, obedecendo um padrão trifásico de absorção de água. Na segunda fase deste trabalho foram realizados dois experimentos de condicionamento fisiológico de sementes. No primeiro trabalho, onde utilizou-se sementes com baixa qualidade fisiológica, foram observados ganhos muito significativos pelo índice de velocidade de emergência (IVE), índice de velocidade de germinação (IVG) e através do teste de germinação aos 15 e 30 dias, principalmente para os métodos de imersão em água e em solução de PEG. Partindo dos resultados do ensaio anterior, no segundo experimento foram

* Orientador: Antônio Nazareno Guimarães Mendes. Membros da Banca: Antônio Carlos Fraga, Renato Mendes Guimarães, Rubens José Guimarães.

avaliados os efeitos de tempos de imersão em soluções com diferentes potenciais hídricos. Os resultados evidenciaram que os métodos de condicionamento fisiológico testados são menos efetivos quando as sementes ainda apresentam boa qualidade fisiológica, quando comparadas as sementes do lote utilizado no primeiro experimento, as quais encontravam-se com uma germinação inferior a 50 %. Por outro lado, embora os ganhos obtidos em função dos tratamentos tenham sido verificados mais a nível de vigor do que sobre a viabilidade, a imersão das sementes em água destacou-se como o método mais promissor. Através das avaliações das atividades enzimáticas e análise de proteína, observou-se que alterações bioquímicas não desejáveis podem ocorrer em função do tempo de imersão e da concentração da solução de condicionamento.

ABSTRACT

PHYSIOLOGICAL CONDITIONING OF COFFEE SEEDS (*Coffea arabica* L.)

The present work was undertaken in the Seed Analysis Laboratory and coffee nursery of the coffee culture sector of the Federal University of Lavras - UFLA, Lavras - MG, having the main objective as improving of a methodology for physiological conditioning of coffee seeds. Owing to a pioneering study concerned with the priming of coffee seeds, at the first phase of the work, two preliminary basic studies were performed: The former corresponded to the coffee seed inactivation study for determining the soaking curve of the seeds which was carried out in the latter experiment. The effects of temperatures, heating times and presence of the endocarp were evaluated with a view to determining the lowest temperature and heating time capable of causing the inactivation of 100 % of the seeds. It was found that seed inactivation for the study of the soaking curve might be performed by heating seeds to a temperature close to 70 °C for 12 hours, without the need of removal of the endocarp. In the latter experiment of the first phase of the work, the soaking curves for viable and inviable seeds with and without the endocarp were determined, readings the moisture percentage every 12 hours until 480 hours after the start of the test. It was noticed that in living seeds with and without an endocarp, phase I is completed close to 144 hours, where only the seeds without endocarp reached phase II, which start around 228 hours, obeying a three phase water absorbing pattern. In the second phase of this work, two experiments of seed physiological conditioning were done. In the first work, where seeds of low physiological quality were utilized, very significant gains were observed by the emergence velocity index (EVI), germination velocity index (GVI) and germination test, mainly for the methods of soaking in water and PEG solution. Beginning the results of the earlier work, in the latter experiment, the effects of soaking times in solutions with different hydric potentials were evaluated. The results pointed out that the physiological conditioning methods tested were less effective when the seed still presented good physiological quality as compared with the seeds of the lot utilized in the first experiment which showed a germination percentage inferior to 50%. On the other hand, although the gains obtained in terms of the treatments been verified at the level of vigor rather

Guidance Committee: Antônio Nazareno Guimarães Mendes (Major Professor), Antônio Carlos Fraga, Renato Mendes Guimarães, Rubens José Guimarães.

than viability, soaking seeds in water stood out as the most promising method. Through the evaluations of the enzymatic activities and protein analysis, it was found that undesirable biochemical changes may take place as the function of soaking time and concentration of the conditioning solution.

CAPÍTULO 1

1 Introdução Geral

Especialmente nos últimos anos, novas tecnologias e métodos de cultivos tem sido colocados a disposição dos produtores de café, como por exemplo o plantio em menores espaçamentos entre linhas, a introdução de novas linhagens de cultivares melhoradas e os avanços no manejo de pragas e doenças, que podem contribuir para a redução do custo de produção e melhoria na qualidade do produto. Mas se por um lado a pesquisa já conseguiu solucionar parte dos principais fatores limitantes da produção, é na etapa de formação de mudas que existem alguns dos mais antigos desafios.

A forma mais utilizada de propagação a nível comercial do cafeeiro é por mudas oriundas de sementes. Essas mudas podem ser “de ano” ou “de meio ano” com uma permanência aproximada de 12 e 6 meses, respectivamente no viveiro. As mudas de meio ano são mais utilizadas por permanecerem menos tempo no viveiro e assim ficarem menos sujeitas ao ataque de pragas e doenças presentes naquelas condições.

Um dos principais fatores limitantes à produção de mudas antecipadas “de meio ano” deve-se a necessidade de utilização de sementes colhidas no mesmo ano de produção das mudas, pois as sementes de cafeeiro mantêm a viabilidade por no máximo 6 meses quando armazenadas em condições apropriadas. Como consequência da disponibilidade de sementes no mercado somente a partir do mês de junho e da lentidão com que a germinação dessas sementes se processa, em muitas situações as mudas acabam sendo levadas para o campo em épocas menos favoráveis ao seu desenvolvimento.

Neste sentido, até o momento, uma das principais linhas de pesquisa, concentrou-se no aprimoramento de técnicas que permitissem a manutenção da viabilidade de sementes de cafeeiro quando armazenadas por período de tempo mais prolongado, muito embora os resultados ainda sejam muito conflitantes. Por outro lado, o desenvolvimento de uma metodologia de condicionamento fisiológico eficiente e adaptada às sementes de cafeeiro, poderá permitir ganhos significativos no estabelecimento da lavoura, como um menor índice de replanta, além do desenvolvimento mais rápido das mudas estabelecidas no campo, possivelmente com reflexos sobre as primeiras produções, implicando no retorno mais rápido dos investimentos. Cabe destacar ainda, que a melhoria do desempenho germinativo, poderia diminuir o gasto de sementes.

O objetivo deste trabalho, foi estudar a possibilidade do uso de técnicas de condicionamento fisiológico, viabilizando o armazenamento e o uso de sementes colhidas em anos anteriores ao da formação das mudas. Em função da literatura ser ainda muito restrita sobre o assunto houve também a necessidade de um estudo detalhado dos processos de inativação e embebição das sementes. Este conhecimento é de fundamental importância, visto que o envigoramento de sementes está baseado no controle da hidratação das sementes até o nível que se desenvolvam as atividades metabólicas pré-germinativas, no entanto, sem ocorrer a protusão da radícula (Heydecker e Guibbins, 1978).

HEYDECKER, W.; GIBBINS, B.M. The priming of seeds. *Acta Horticulturae*, Wageningen, n.83, p.213-223, 1978.

2 Referencial teórico

2.1 Descrição da semente

Em decorrência da diferenciação de gemas das axilas das ramas, tem início a formação dos botões florais, os quais permanecem em dormência verdadeira durante o período seco. A antese da flor só irá ocorrer com o advento do aumento da temperatura associado a condições hídricas favoráveis, dando início ao desenvolvimento dos frutos, culminando com a maturação completa (Rena e Maestri, 1985).

As sementes do cafeeiro são plano convexas, elípticas ou ovais, sulcadas longitudinalmente na face plana e constituem-se de embrião, endosperma e um envoltório, representado por uma película prateada ou espermoderma (Dedeca, 1957; citado por Rena e Maestri, 1986).

As reservas da semente de cafeeiro são principalmente hemicelulose e substâncias graxas, e a medida que os cotilédones se utilizam dessas substâncias, eles vão crescendo dentro do endosperma. Após o “apodrecimento” do endocarpo que envolve a semente, começa o desenvolvimento da radícula, que se desenvolve seguindo seu geotropismo positivo. A seguir forma-se a alça hipocotiledonária, que se desenvolvendo, começa a aflorar à superfície, fase esta comumente denominada de “joelho”, a qual terá terminado com a elevação total dos cotilédones, ainda presos ao endosperma, a superfície. Considera-se então germinada a semente, sendo denominado esse estágio de “palito de fósforo” (Carvalho e Alvarenga, 1993).

2.2 Fatores que constituem problemas na germinação

As sementes de cafeeiro ainda são consideradas problemáticas. Dentre outros fatores, destaca-se a sua rápida perda do vigor e da viabilidade, que dificultam sua utilização a longo prazo. De acordo com Miranda (1987) o período ideal para o plantio de um cafezal é no início das águas, meses de outubro - novembro. Considerando que as chamadas mudas “de meio ano” levam cerca de 6 a 8 meses para atingirem o desenvolvimento ideal, o semeio de um viveiro deveria ser realizado durante os meses de janeiro, fevereiro ou março, uma vez que no período de inverno o desenvolvimento das mudas é lento. Por outro lado as sementes de cafeeiro apresentam algumas características que impedem ou dificultam a formação de mudas em época mais apropriada.

2.2.1 Tempo de germinação

Uma das características referente as sementes de cafeeiro, é lentidão com que se processa a retomada do crescimento e desenvolvimento do embrião ou germinação propriamente dita. Went (1957) já afirmava que o processo poderia durar até 90 dias, chegando ao extremo de 120 dias no período frio do ano, fato este de relevante importância, pois é justamente no início desta estação que as sementes começam a estar a disposição dos produtores e viveiristas, na maior parte da região Centro Sul do Brasil. A germinação foi estudada em temperaturas de 17 a 32°C, obtendo-se nesta última, uma germinação mais rápida. É possível porém, que a temperatura ideal para a germinação das sementes de cafeeiro, esteja acima daquela estudada (32°C) (Franco, 1970).

2.2.2 Presença do endocarpo e inibidores de germinação

Outro fator que também vem sendo estudado mais a fundo é a influência do endocarpo ou “pergaminho” sobre a germinação. Guimarães (1995) concluiu que para acelerar o processo germinativo, as sementes devem ter o endocarpo retirado, confirmando os resultados obtidos por Franco (1970), o qual observou também que as sementes com endocarpo não germinavam em meio asséptico. Rena e Maestri (1986) também afirmam que a presença do endocarpo nas sementes especialmente sob baixas temperaturas atrasam a germinação, sendo que com a remoção do “pergaminho” e na temperatura 32°C sementes maduras “germinam” em apenas 15 dias.

Velasco e Gutierrez (1974) citados por Rena e Maestri (1986) descrevem que os efeitos de impedimento a difusão de gases e a expansão em volume exercidos pelo endosperma podem ser classificados como secundários quando comparados ao efeito de algum tipo de inibidor presente, visto que fragmentos de endocarpo misturados com as sementes exerceram efeito inibidor sobre a germinação. Misturando sementes de alfaca a extratos aquosos de espermoderma ou “película prateada” em diferentes concentrações, Alves et al. (1996) determinaram que a medida que a concentração do extrato foi aumentada, houve acréscimo no número de plântulas anormais e sementes mortas da espécie indicadora, aumentando também o número de dias para a germinação. Os resultados permitiram sugerir que o espermoderma pode contribuir para a lenta germinação das sementes de cafeeiro, possivelmente devido a presença de substâncias inibidoras.

Valio (1976) afirma que de modo geral, baixas concentrações de substâncias semelhantes aos ácidos abscísico e giberélico, além de altos teores de substâncias semelhantes às citocininas, estão relacionados a germinação das

sementes de cafeeiro. Neste sentido, de acordo com Alvarenga (1990), as citocininas podem funcionar como agentes quebradores de dormência em alguns casos e até substituir a exigência de luz em espécies fotoblásticas positivas, como alface e outras. Podem ainda promover a germinação de sementes fotoblásticas negativas como o maxixe e diminuir o efeito de certos inibidores de germinação como o ácido abscísico em sementes de café. Por outro lado, Carvalho (1997) não verificou ganho significativo quando sementes de cafeeiro foram tratadas com citocinina BAP.

2.2.3 Maturidade fisiológica das sementes

Trabalhando com a variedade Mundo Novo, Caixeta (1981) determinou que o ponto de maturidade fisiológica ocorreu 220 dias após a fecundação das flores, quando os frutos encontravam-se no estágio “verde-cana/cereja”. Foi possível ainda, obter cerca de 10 % de germinação aos 160 dias após a fecundação, quando os frutos ainda apresentavam um aspecto totalmente verde. No entanto, na prática, dentro do sistema atual de produção de sementes, são realizadas mais de uma colheita, colhendo-se apenas os frutos que se encontram no estágio “cereja”, ainda conforme a recomendação de Scaranari (1954).

2.2.4 Rápida perda do vigor e da viabilidade

Constitui um dos mais sérios desafios da pesquisa, pois esta característica impede a formação de estoques de sementes, de modo a fazer com que produtores e viveiristas fiquem na dependência de sementes colhidas no mesmo ano de formação das mudas. Por outro lado a significativa queda no vigor torna inviável o

uso de sementes “velhas”; principalmente em função da baixa taxa de germinação e dos custos de insumos e mão de obra.

Daffert (1899) citado por Miranda (1987) já afirmava que as sementes de cafeeiro perdiam rapidamente o seu poder germinativo. O autor sugeriu então, a retirada da mucilagem através de uma fermentação leve, após a qual as sementes deveriam ser abrigadas em condições de ambiente, numa tentativa de estender seu período de utilização.

Além das características inerentes a própria espécie, de acordo com Popinigis (1985) as condições de ambiente são os principais fatores que afetam a qualidade da semente, pois o grau de umidade é controlado diretamente pela umidade relativa e indiretamente pela temperatura do ar a qual também afeta a velocidade dos processos bioquímicos na semente.

Existem ainda algumas discordâncias entre os autores sobre a qualidade fisiológica de sementes de cafeeiro armazenadas por períodos prolongados, provavelmente em função da metodologia de estudo. No entanto, já se determinou a existência de uma relação entre o grau de umidade das sementes, tipo de embalagem e condições de ambiente sobre a qualidade fisiológica de sementes de cafeeiro armazenadas.

Bacchi (1958) trabalhando com semente de *Coffea arabica* cv. Typica, observou que quando estas foram armazenadas em sacos de aniagem com umidades aproximadas de 20, 13 e 10 % em condições de ambiente, estas permaneceram com uma germinação média de 66 % durante 10 meses. No entanto, aquelas que foram armazenadas em recipientes herméticos nos mesmos graus de umidade mantiveram o poder germinativo por 4, 8 e 21 meses respectivamente. Em outro trabalho, Bendaná (1962) obteve resultados em que sementes de cafeeiro armazenadas a uma temperatura de 10°C com uma umidade relativa média de 50% mantiveram o poder de germinação em torno de 95% ao

final de 4 anos de armazenamento. Em contra partida, Vossen (1979) afirmou ter conseguido melhores resultados de armazenamento, com um teor de água de 41 %, para a manutenção do vigor das sementes, mas considerou aceitável o intervalo de 10 a 11% proposto inicialmente por Bacchi (1958).

Avaliando a conservação de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L. cv. Catuai) a diferentes graus de umidade armazenadas em condições ambiente em embalagens hermeticamente fechadas, Miglioranza (1982) concluiu que para esta condição de armazenamento, é preciso que o teor de água das sementes esteja entre 8 e 10 %, e de preferência o mais próximo possível de 9 %. Determinou ainda que graus de umidade entre 24 e 50 % induzem as sementes de cafeeiro a morte em tempo inferior a 6 meses.

Os resultados obtidos por Araújo (1988) vieram a reforçar a afirmação do último autor em relação a umidade ideal das sementes para o armazenamento em embalagens herméticas, muito embora o melhor tratamento observado tenha sido o acondicionamento com 48 % de umidade em embalagem permeável e em condições de laboratório.

Em um estudo mais recente, Dias e Barros (1993) compararam a eficiência de diferentes embalagens na conservação de sementes de cafeeiro (cv. Mundo Novo) armazenadas por 11 meses com umidade inicial de 37 %. Nas embalagens de polietileno perfurado e de papel as sementes apresentavam-se totalmente inviáveis ao final do estudo, enquanto que o saco de polietileno lacrado foi o mais eficiente, pois as sementes apresentavam 60 % de germinação.

Até o momento, os resultados dos estudos sobre conservação de sementes de cafeeiro ainda são muito conflitantes e inconsistentes, muitos deles baseados apenas em testes de viabilidade realizados periodicamente durante o período de armazenamento. Este fato justifica a necessidade de estudos básicos a níveis

bioquímico e fisiológico sobre os fatores que levam a baixa armazenabilidade das sementes de cafeeiro.

2.2.5 Sensibilidade a temperatura de secagem

A secagem de sementes recém colhidas torna-se na maioria dos casos recomendada, pois o armazenamento com altos graus de umidade é uma das principais causas da perda do poder germinativo e do vigor de sementes. A secagem precisa ser conduzida cuidadosamente, em função dos níveis de umidade que a espécie em questão exige, ou permite, para as condições em que se pretende armazenar (Carvalho e Nakagawa, 1988).

Para as sementes de cafeeiro, Bacchi (1955) afirmou que a secagem prolongada a pleno sol não causou nenhum prejuízo provocado pelos raios solares, como se pensava anteriormente. Mesmo o uso de secadores a temperaturas próximas a 40°C não afetaram a viabilidade das sementes. Afirmou ainda que a principal causa da rápida perda do vigor seria a sensibilidade a dessecação provocada pela diminuição da umidade das sementes a teores inferiores a faixa de 8 a 9 %. Abaixo deste valor, que deve ser considerado o limite crítico de umidade para esta espécie quando submetida a este sistema de seca, a sua capacidade germinativa é sensivelmente afetada, a ponto de se tornar nula.

Arcila-Pulgarin (1976) também não observou efeitos sobre a viabilidade de sementes de cafeeiro resultantes da secagem a 45°C. No entanto, Araújo (1988) cita a ocorrência de diminuição da qualidade das sementes em função de uma secagem rápida com a temperatura do ar em torno de 40°C, a qual manifestou seu efeito latente quando elas foram armazenadas com umidade em

tomo ou acima de 13%. Ainda de acordo com este autor, na maioria dos trabalhos até então realizados não se avaliou o efeito da secagem após determinado período de armazenamento (efeito latente) o que é de grande importância.

Em um trabalho mais recente Camargo et al (1996) concluíram que a temperatura de 45°C foi prejudicial a qualidade fisiológica de sementes de cafeeiro, sendo que a 55°C os efeitos foram significativamente mais drásticos.

Novos estudos tem proposto que as sementes de cafeeiro poderiam se enquadrar em uma categoria intermediária entre os tipos ortodoxa e recalcitrante. Segundo Ellis et al (1990) citado por Dias e Barros (1993) esta categoria intermediária é a classificação das sementes da maioria das espécies pois suas características satisfazem ambas as condições.

Esta nova visão contestaria então a afirmação feita por Roberts (1973) de que a semente de cafeeiro seria do tipo recalcitrante as quais a perdem mais rapidamente a viabilidade quando armazenadas com grau de umidade reduzido e em ambientes com temperaturas relativamente baixas. Ao que tudo indica, esta questão ainda não está bem definida, razão pela qual são necessários novos estudos sobre tolerância a dessecação os quais devem estar baseados em análises a nível molecular.

2.3 Conceitos de relações hídricas

De acordo com Popinigis (1985) a absorção de água pela semente dá início a uma série de processos físicos, fisiológicos e bioquímicos no interior da semente que, na ausência de outro fator limitante resulta na emergência da plântula. Numa análise mais profunda do primeiro evento que desencadeia todo o

processo de germinação constatamos a existência de forças que “controlam” o processo de absorção de água.

Muitos fatores podem influenciar, diminuindo a embebição, entre eles, a composição e a permeabilidade do tegumento, a disponibilidade de água no ambiente, a pressão hidrostática e a condição fisiológica da semente (Mayer e Poljakoff-Mayber, 1989).

De acordo com Bewley e Black (1994) a interação de três potenciais representam o chamado potencial hídrico das células (Ψ_w) nos tecidos das sementes. O potencial mátrico (Ψ_m) é resultante da capacidade de algumas matrizes como por exemplo parede celular, amido e proteínas sofrerem hidratação e se ligarem a água. O potencial osmótico (Ψ_o) surge em função da concentração de solutos dissolvidos no interior das células. Por último há atuação também do potencial de pressão (Ψ_p) o qual está relacionado à força contrária exercida pela parte externa da parede celular em decorrência da turgescência causada pela entrada de água na célula.

Geralmente o potencial de água em sementes secas é menor que o de solos úmidos (ou substratos úmidos), o que faz com que a água, movimente-se em direção ao menor potencial, penetrando na semente (Young et al. 1983), citado por Vazquez (1995). O baixo potencial hídrico de sementes secas se dá devido às forças mátricas (Ψ_m) que resultam de interações interfaciais com os constituintes moleculares da semente. No entanto, no estágio quiescente, as sementes possuem baixo conteúdo de umidade e estão praticamente inativas metabolicamente (Bewley e Black, 1994). Ainda segundo os mesmos autores, os valores dos potenciais mátrico e osmótico são negativos, enquanto que o potencial de pressão é uma força oposta, ou seja, positiva. Desta forma, a soma dos três componentes do potencial hídrico é um valor negativo, a exceção de células totalmente túrgidas, onde tende a zero.

Em decorrência do processo de embebição, partículas coloidais dos tecidos das sementes hidratam-se de forma diferenciada, proporcionando um aumento em volume e o rompimento do tegumento, de modo a facilitar a emergência de pontos de crescimento (Copeland, 1976).

2.4 O processo de germinação

O processo de germinação da semente, sofre a influência de diversos fatores, de forma a se constituir numa fase considerada crítica, onde é necessário que ocorra um conjunto de condições favoráveis, para que este se realize satisfatoriamente (Popinigis, 1985). Desta forma, a seguir são abordadas algumas considerações a respeito das fases iniciais do processo de germinação e deste como um todo.

2.4.1 Conseqüências iniciais da embebição

Segundo Bewley e Black (1994) a absorção de água pela semente constitui na primeira etapa de uma seqüência de eventos, como ativação enzimática, degradação, translocação e consumo de reservas armazenadas, que por fim resultam na retomada do crescimento do eixo embrionário.

Copeland (1976) descreve que esta primeira etapa, ou seja o processo de embebição, pode ser considerada como uma fase crítica do processo de germinação. Sob baixa disponibilidade de umidade, sendo esta apenas a necessária para dar início ao processo, o embrião estará sob uma condição não favorável ao seu desenvolvimento normal e a porcentagem de germinação poderá ser menor. Em contra partida, as primeiras etapas da germinação poderão ocorrer

em condições de excesso de umidade, no entanto a permanência desta condição não é desejável durante todo o processo.

Obendorf e Hobs (1970) descrevem que a hidratação acelerada de proteínas em condições de baixa temperatura pode induzir a um aumento da exudação, além de rupturas em estruturas de membranas, envolvendo funções metabólicas. Para Parrish e Leopold (1978) considerando uma embebição muito rápida, podem ocorrer prejuízos ao sistema de membranas, especialmente nos primeiros cinco minutos de embebição.

Neste sentido outros autores também afirmam que a germinação pode ser afetada em decorrência da velocidade com que ocorre a embebição (Powell e Matthews, 1978; Woodstock e Taylorson, 1981), principalmente considerando que o potencial hídrico é relativamente baixo em sementes secas, o que pode levar a ocorrência de danos. Ainda segundo os últimos autores, os prejuízos ocasionados pela rápida entrada de água na semente ocorreriam provavelmente por conta de um ou mais fatores, como a diminuição da integridade do sistema de membranas celulares, perda de nutrientes essenciais, maior ação de microrganismos provocada pela saída de exudatos, além de afetar o aspecto sanitário da plântula.

A velocidade e a quantidade de água absorvida pelas sementes variam com a espécie, estando relacionadas, entre outros fatores, com a composição química das sementes (Carvalho e Nakagawa, 1988). Neste sentido, Rocha et al (1990) estudando diferentes genótipos de soja concluíram que a permeabilidade do tegumento influenciou na absorção de água pela semente, em decorrência não somente da sua impermeabilidade, como também da sua composição química e da presença de substâncias químicas sobre o mesmo.

2.4.2 Etapas da germinação

A germinação é um fenômeno muito amplo e complexo, razão pela qual vários autores já propuseram diferentes definições. É usual contudo, definir-se germinação como sendo o fenômeno pelo qual, sob condições apropriadas, o eixo embrionário dá prosseguimento ao seu desenvolvimento, que havia sido interrompido por ocasião da maturidade fisiológica. Não obstante não ser incorreta esta definição, é um pouco simplista, pois não dá destaque às fases que, provavelmente, são mais vitais para a germinação propriamente dita: as que antecedem a retomada do crescimento (Carvalho e Nakagawa, 1988).

Popinigis (1985), descreve que do ponto de vista puramente fisiológico, a germinação pode ser dividida nas seguintes fases: embebição, alongamento celular, divisão celular e diferenciação celular em tecidos. Porém, a nível fisiobioquímico, pode ser descrita nas seguintes fases: reidratação, aumento da respiração, formação de enzimas, digestão enzimática de reservas, mobilização e transporte de reservas, assimilação metabólica e crescimento e diferenciação dos tecidos.

O padrão trifásico de absorção de água proposto por Bewley e Black (1994) tem satisfeito em grande parte os resultados dos estudos sobre curva de embebição com sementes de diferentes espécies. Trabalhando com sementes de algodão, Menezes (1996) concluiu que tanto nas sementes com linter como nas sem linter o padrão trifásico foi obtido, embora as fases I e II da curva tenham se completado mais rapidamente nas que foram deslinteradas. Apesar desses resultados terem sido divergentes dos obtidos anteriormente por Ferreira e Rebouças (1992) com sementes de amendoim o autor justifica que além de se tratarem de espécies diferentes, a metodologia também pode ter influenciado os resultados.

Em sementes de eucalipto, Cordoba et al. (1995) observaram que independente do potencial hídrico aplicado, houve uma tendência geral de ajuste da curva de embebição ao padrão trifásico proposto por Bewley e Black (1994).

Na fase I da curva, a absorção de água pela semente é relativamente rápida, ocorrendo em decorrência do potencial matricial dos diversos tecidos que compõem a semente. Esta etapa não sofre influência se a semente estiver viva, morta ou dormente, exceto quando de tratar de dormência por impermeabilidade do tegumento a água. A nível bioquímico esta fase marca o início da degradação das substâncias de reserva, de modo a garantir energia e nutrientes necessários à retomada do crescimento do embrião.

Atingidos valores de umidade entre 25 e 30 % para sementes endospermáticas e de 35 a 40 % para cotiledonares, teria início então a Fase II. Esta é uma etapa em que aparentemente, está ocorrendo um transporte ativo das substâncias desdobradas na fase anterior, do tecido de reserva para o tecido meristemático. A absorção de água é quase nula visto que os potenciais hídricos do substrato e da semente são muito semelhantes, no entanto a duração desta em relação a fase I é de 8 a 10 vezes mais longa. O eixo embrionário, contudo, apesar de já estar recebendo algum nutriente, ainda não consegue crescer.

Ao final da fase II, além de uma maior atividade respiratória, pode ser notado também um súbito incremento no teor de água das sementes, que varia de 35 a 40 % para as endospermáticas e de 50 a 60 % para cotiledonares. Inicia-se então a fase III, a qual a nível bioquímico, o que a caracteriza é que as substâncias desdobradas na fase I e transportadas na fase II são reorganizadas em substâncias complexas, para formar o citoplasma, o protoplasma e as paredes celulares, o que em última análise permite o crescimento do eixo embrionário (geminação visível). Evidentemente, o início de uma nova fase não inibe a ocorrência da anterior; assim, quando a fase III se inicia, a semente em

germinação apresenta, simultaneamente, as três fases.(Powell e Matthews, 1978; Carvalho e Nakagawa, 1988; Bewley e Black, 1994).

Segundo Bewley e Black (1994) é necessário que seja atingido um grau mínimo de umidade para haver germinação, como por exemplo: 30 % para as sementes de milho, 26,5 % (arroz), 33,4 % (algodão), 29 % (mamona) e 34 % (aveia). Desta forma, é de se esperar uma resposta diferente de cada espécie quando sob estresse hídrico, sendo tanto menos evidente na etapa inicial do processo de embebição.

O estudo da curva de embebição é de suma importância, especialmente, para o desenvolvimento de técnicas de pré-germinação que buscam melhorar a qualidade fisiológica das sementes. Isto porque o ponto em que a reversão do processo de embebição sem acarretar prejuízos ao embrião também varia conforme a espécie. Trata-se do princípio básico da técnica de condicionamento osmótico, que consiste em permitir que as atividades metabólicas pré-germinativas ocorram, mas sem que haja a emergência da radícula (Heydecker e Gibbins, 1978; Bradford, 1986).

2.5 Condicionamento fisiológico de sementes

Na busca contínua de maiores produtividades economicamente viáveis, associada a exigência em qualidade de serviços e produtos, a pesquisa em tecnologia de sementes tem se destacado principalmente em função do dinamismo com que surgem novas tecnologias de avaliação, manutenção e incremento da qualidade fisiológica de sementes.

Entre outras tecnologias, o “priming” (Heydecker, Higging e Turner, 1975; Hemer, 1986), osmocondicionamento ou condicionamento osmótico

(Heydecker, Higging e Gulliver, 1973; Khan et al., 1976; Knypl e Khan, 1981), pré-embebição (“presoaking”) (Khan, 1991) ou ainda condicionamento fisiológico, como designou Doni Filho (1992) tem sido amplamente estudado em sementes de diferentes espécies.

De acordo com Heydecker, Higging e Turner (1975) a técnica do condicionamento fisiológico consiste em fazer com que a semente passe pelas fases I e II, que são preparatórias para a germinação, sem no entanto avançar para a fase III caracterizada pelo alongamento celular e emergência da radícula. Entre outros objetivos, os autores destacam a possibilidade de uma germinação mais rápida em relação as não tratadas em condições de baixas ou altas temperaturas, além de um maior sincronismo da germinação conduzindo a estandes mais uniformes.

Da mesma forma, Khan (1991) afirma que os processos bioquímicos e fisiológicos da geminação são estimulados até o ponto em que o baixo potencial osmótico do meio de embebição impede a germinação.

Conforme segue a descrição de Vazquez (1995) o controle da hidratação das sementes pode ser realizado por diferentes formas. Pelo método de embebição simples, o controle da hidratação é feito através do equilíbrio com o vapor de água da atmosfera ou pela embebição em substrato úmido, ou ainda pode-se fazer a imersão direta em água. Outra forma de controle do ganho de umidade são os ciclos de hidratação/secagem (“hardening”) que consiste em expor as sementes a um ou mais ciclos de hidratação seguidos de secagem. E por fim, a embebição em soluções com concentração osmótica definida (“priming”, condicionamento osmótico ou osmocondicionamento), sendo que este método baseia-se no uso de produtos químicos como polietileno glicol (PEG), manitol e sais inorgânicos.

A imersão direta em água é o método mais simples de embebição, porém exige um conhecimento detalhado da curva de embebição das sementes, pois o

teor de água e o limite máximo da curva a ser atingido será determinado pelo tempo de condicionamento. Existe ainda o risco da ocorrência de danos por embebição, apontado por Matthews e Powell (1986) como uma das principais causas fisiológicas do baixo vigor de sementes. Por outro lado, Powell & Matthews (1978) destacam que neste caso os resultados não são influenciados pela ação de produtos químicos. Em alguns trabalhos, verificou-se que o condicionamento em água só foi eficiente e superior a outros tipos de tratamentos quando as sementes foram postas para germinar sob condições de estresse hídrico, térmico ou salino (Guimarães, 1991) ou apenas térmico (Gomes et al, 1997).

Em face a grande variabilidade dos resultados obtidos pelo uso deste método de envigoramento, em função da metodologia aplicada ou espécie estudada, é de fundamental importância que a qualidade fisiológica das sementes seja avaliada a nível molecular e enzimático. A eletroforese é uma técnica bioquímica relativamente simples, rápida e de alto valor informativo, que consiste na separação de moléculas ionizadas de acordo com suas cargas elétricas, formas e pesos moleculares, através da migração em um meio suporte e tampões adequados sob a influência de um campo elétrico (Alfenas et al., 1991; Westermeier et al., 1993).

Algumas das enzimas mais estudadas em sementes em deterioração são a malato desidrogenase (MDH), glutamato desidrogenase (GDH) e a álcool desidrogenase (ADH). A enzima MDH catalisa a reação de malato à oxaloacetato, tendo importante função no ciclo de Krebs, além de participar do movimento de malato através da membrana mitocondrial e fixação de CO₂ nas plantas (Conn e Stupf, 1980).

A enzima GDH está presente apenas na mitocôndria e se localiza na matriz mitocondrial. Considerando que esta enzima atua na oxidação de

aminoácidos (proteínas de reserva) fornecendo energia para as células, é possível que tenha um importante papel na germinação de sementes (Lehninger, 1992). E por fim, a álcool desidrogenase atua no metabolismo anaeróbico de plantas, reduzindo o acetaldeído a etanol (Vantoi, Fausey e McDonald, 1987). Segundo Zang et al. (1994) a produção de acetaldeído pelas sementes durante o armazenamento pode ser um importante fator que acelera a deterioração.

Em sementes de soja, Knypl, Janas e Koswiak (1980) encontraram algumas variações no padrão eletroforético de proteínas extraídas de sementes osmocondicionadas. Os autores sugeriram que a absorção de uma quantidade limitada de água tenha induzido a uma ativação bioquímica e por conseguinte resultado em uma melhoria na qualidade fisiológica das sementes. Em outro trabalho, Fujikura e Karssen (1992) observaram que a germinação e a incorporação de metionina marcada no ápice da radícula de sementes de couve-flor envelhecidas artificialmente e osmocondicionadas foram atrasadas em função do envelhecimento acelerado das sementes, mas aceleradas pelo condicionamento osmótico. A conclusão final dos autores, foi de que o condicionamento osmótico proporcionou a reversão dos efeitos do envelhecimento das sementes.

O uso de substâncias químicas osmoticamente ativas como uma forma de controlar a entrada de água na semente tem sido amplamente difundido. Segundo Heydecker, Higging e Turner (1975) o potencial hídrico da solução é ajustado de modo a possibilitar a ocorrência dos processos de preparação da germinação das sementes, mas que impeça o alongamento celular e a emergência da radícula, mesmo após semanas de contato entre as sementes e a solução.

Heydecker e Coolbear (1977) defendem que apenas o fato de um soluto ser absorvido pela semente não pode ser usado como único critério para sua não utilização, desde que este tenha ação efetiva, não seja tóxico a semente e impeça a ocorrência da germinação. Por outro lado, para Bradford (1986) além de não

penetrar no sistema de membranas das células de tecidos, o soluto não deve provocar toxidez ou alterações estruturais às sementes, além de não ser metabolizado e nem sofrer deterioração por microrganismos. No entanto, todas estas características não são encontradas simultaneamente em nenhum dos produtos atualmente utilizados em trabalhos de condicionamento osmótico de sementes.

O polietileno glicol (PEG) está disponível em pesos moleculares que variam de 200 até 20.000, mas para evitar a possibilidade de absorção do produto pelas sementes, são utilizados os que possuem maior peso molecular (Sharma, 1973). Em pesos moleculares acima de 4.000, o PEG não é absorvido pelas sementes, não é quebrado facilmente por microrganismos e, geralmente não provoca toxidez, (Mexal et al., 1975). Além disso, a solução de PEG pode ser reaproveitada, tornando-a adequada para o osmocondicionamento de sementes.

Diversos autores já trabalharam com soluções de polietileno glicol, obtendo as mais variadas respostas aos tratamentos, entre eles: (Heydecker, Higging e Turner, 1975; Furutani, Zandstra e Prince, 1986; Fu et al., 1988; Eira, 1988; Mello et al., 1993; Vazquez, 1995; Giúdice, 1996).

Os efeitos do manitol sobre a germinação e o vigor de sementes osmocondicionadas ainda geram muitas dúvidas. Embora Jacson (1965) citado por Vazquez (1995) tenha afirmado que o produto prejudica o alongamento de pelos radiculares, Guimarães (1991) determinou que sob condições ideais ou sob estresse térmico o processo de condicionamento osmótico em solução de manitol favorece o desempenho das sementes de algodão.

Paes et al. (1997) trabalhando com sementes de guar (*Cymopsis tetragonoloba* L.) concluíram que os efeitos tóxicos provocados pelo uso dos sais NaCl, Na₂SO₄ e CaCl₂ foram mais prejudiciais à germinação do que o efeito do aumento do potencial osmótico evidenciado pelo uso do manitol, confirmando

os resultados observados anteriormente por Santos et al. (1991) em sementes de soja.

Independente da metodologia e da espécie estudada, a explicação pela qual é obtida uma melhoria na qualidade fisiológica de semente submetidas as técnicas de condicionamento fisiológico ainda é motivo de discordância entre pesquisadores. Por outro lado, Knypl e Khan (1981) estabelecem que tanto a reestruturação da integridade no sistema de membranas em sementes maduras ocasionada pela perda de água quanto a maior disponibilidade de metabólitos aos processos de crescimento e germinação, podem explicar os efeitos do condicionamento.

2.6 Relação entre fatores que afetam o condicionamento fisiológico

De acordo com Heydecker, Higging e Turner (1975) e Brocklehurst e Dearman (1983) a relação ideal entre potencial osmótico, temperatura de condicionamento e tempo de duração pode ser variável segundo a espécie e cultivar. Sendo assim, além das características das sementes, os resultados da técnica dependem também do nível de hidratação e da interação das sementes hidratadas com o meio ambiente.

Além dos efeitos provocados por fatores que podem ser relevantes como a presença e a intensidade luminosa e o potencial hidrogeniônico, Heydecker e Coolbear (1977) destacam como sendo importantes os seguintes fatores: controle da relação sementes/água disponível; manutenção da temperatura e oxigenação do meio e a ausência de colonização por microflora patogênica. O controle da quantidade de água disponível por semente, pode ser obtido limitando-se o potencial mátrico ou osmótico. Segundo Pandey (1988 ; 1989) uma forma de

controle da embebição pelo potencial mátrico, é a variação do número de folhas de papel toalha em função de uma quantidade de água e um número de sementes pré-determinados. A combinação do uso de papel-toalha embebido com soluções de PEG também pode ser utilizada para o condicionamento osmótico de sementes. No entanto, Hardegree e Emmerich (1990) descrevem que pode haver a diminuição do potencial hídrico da solução, devido a absorção da água pelo papel, que se dá em função de sua fração hidrofílica que retém parte da água da solução, concentrando a solução de PEG.

Comparando as condições em que foram efetuados diversos trabalhos de condicionamento fisiológico de sementes, é possível encontrar diferentes relações de concentração da solução, temperatura e duração dos tratamentos. Segundo Bradford (1986) em decorrência da diferença entre as espécie e cultivares, a combinação ideal entre os fatores que interferem no desempenho do condicionamento é muito variável, no entanto, no condicionamento a temperaturas próximas a 10°C e com potenciais osmóticos inferiores a -1,5 MPa não há germinação. Considerando um potencial osmótico fixo, uma redução na temperatura de condicionamento, deve aumentar o período do tratamento, em razão do maior tempo necessário para o ganho em umidade pela semente, especialmente na etapa de equilíbrio do processo de embebição. Da mesma forma, soluções com altas concentrações sob baixas temperaturas resultam no aumento do período de condicionamento até que a semente atinja o grau de umidade desejado (Bradford, 1986). É possível então que esta teoria explique os resultados encontrados por Lopes et al. (1997) os quais observaram que na embebição de sementes de cenoura sobre papel umedecido com água destilada e mantidos às temperaturas de 15 e 25°C, foram necessários períodos de 3 a 4 dias para a emissão da raiz primária. Por outro lado, não houve emissão de raiz primária quando as sementes foram embebidas em solução de PEG 6000 nas mesmas

condições.

Em recente trabalho, Lima et al. (1997) estudaram diferentes temperaturas, solutos e concentrações de soluções para o condicionamento osmótico de sementes de cafeeiro. Os autores observaram que aos 16 dias após o início do teste, todas as sementes embebidas em água em ambas as temperaturas estudadas (25 e 30°C), já haviam iniciado a emissão da radícula. No entanto, nos tratamentos em que se utilizou manitol ou PEG, a taxa e a porcentagem final de emissão de radícula foram maiores à temperatura de 30°C, e foi decrescendo, com a diminuição do potencial osmótico do meio de embebição. Observou ainda que as semente iniciaram a emissão da radícula com um grau de umidade médio superior a 55%.

Outro ponto que tem gerado muitas dúvidas dentro das etapas do processo de condicionamento fisiológico é com relação a secagem das sementes após o tratamento. Segundo Matheus e Powell (1986) os efeitos benéficos residuais promovidos pelo osmocondicionamento são fixados à semente com a secagem (teoria do “Dry Back”). No entanto, Cordoba et al. (1995) estudaram a secagem de sementes de eucalipto osmocondicionadas em PEG, observando que de maneira geral a melhor conservação das sementes de eucalipto pode ser obtida quando estas não recebem secagem ao ar, após o condicionamento fisiológico, e são armazenadas a temperatura de 5°C.

3 Metodologia Geral

No segundo capítulo foram instalados dois experimentos para o estudo de métodos de inativação e determinação da curva de embebição de sementes de cafeeiro (cv. Acaia - progênie LCP 474/19) , ambos realizados no Laboratório de

Análise de Sementes da Universidade Federal de Lavras - MG. No primeiro experimento foram estudados os efeitos das temperaturas de 45, 55, 65, 75 e 85 °C nos tempos de 12 e 36 horas de aquecimento sobre sementes com e sem endocarpo, adotando-se o delineamento experimental em blocos casualizados com 4 repetições.

As sementes foram colocadas em latas de alumínio hermeticamente fechadas e mantidas em estufa de secagem. Empregou-se para a avaliação dos tratamentos o Teste Padrão de Germinação, efetuando-se apenas uma leitura aos 30 dias, tendo como parâmetro o número de sementes com protusão de radícula.

No segundo experimento, foi estudado o processo de embebição de sementes de cafeeiro, viáveis e inviáveis, com e sem o endocarpo (pergaminho). O ensaio teve a duração de 480 horas, realizando-se avaliações do grau de umidade das sementes a cada 12 horas. Foi utilizado o delineamento em blocos casualizados, com 4 repetições de 50 sementes para cada tempo de embebição. O critério adotado para considerar o início da fase III da curva de embebição, foi quando 50 % das sementes apresentavam protusão de radícula.

No terceiro capítulo foram realizados dois experimentos sobre condicionamento fisiológico de sementes de cafeeiro. Os trabalhos foram realizados no Laboratório de Análise de Sementes e no viveiro de mudas de cafeeiro da Universidade Federal de Lavras - MG. Para o primeiro estudo, foram utilizadas sementes da cultivar Acaiá, as quais após a colheita foram armazenadas em condições de ambiente não controlado. Determinou-se os efeitos de três métodos de condicionamento (imersão em água, imersão em solução de polietileno glicol (PEG 8000) e condicionamento em papel de filtro embebido em solução de PEG 8000), nos tempos de 3, 6 e 9 dias, utilizando-se 4 repetições dispostas no delineamento em parcela subdividida. O condicionamento foi realizado em uma incubadora (BOD), ajustada para fornecer iluminação

constante e temperatura de 25°C. Os efeitos dos tratamentos foram avaliados através da determinação do grau de umidade, índice de velocidade de germinação, índice de velocidade de emergência e pela germinação aos 15 e 30 dias.

No segundo experimento foram utilizadas sementes da cultivar Acaiá (progênie LCP 474/19) as quais após a colheita foram armazenadas em condições de ambiente controlado. Estudou-se os efeitos da imersão direta das sementes em soluções com cinco potenciais hídricos (0 (água), -3, -6, -9 e -12 atm) nos tempos 3, 6, 9 e 12 dias de condicionamento, adotando-se o delineamento em parcelas subdivididas, com 4 repetições. O soluto utilizado foi o polietileno glicol com peso molecular 6000. O ambiente de condicionamento foi o mesmo adotado para o primeiro experimento. Os efeitos dos tratamentos foram avaliados através do grau de umidade das sementes, percentagem de germinação, percentagem de plântulas com raízes secundárias, peso de matéria seca do sistema radicular, percentagem de plântulas no estágio de “palito de fósforo”, percentagem de plântulas no estágio de “orelha de onça” e alterações em padrões eletroforéticos de enzimas e proteína.

4 Referências bibliográficas

- ALFENAS, A.C.; PETERS, I.; BRUCE, W; PASSADOS, G.C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa: SIF, 1991. 292p.
- ALVARENGA, A.A. de. **Substâncias de crescimento e regulação do desenvolvimento vegetal**. Lavras: ESAL, 1990. 56p.(Apostila)

- ALVES, F.R.; PEREIRA, M.R.; FIGUEIREDO JÚNIOR, W.P. de; VON PINHO, E.V.R.; GUIMARÃES, R.J. Avaliação da presença de inibidores da germinação no espermoderma de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 22, Águas de Lindóia, 1996. Resumos...Rio de Janeiro: MAARA/PROCAFÉ, 1996. p.95.
- ARAÚJO, R.F. Influência de teor de umidade, da embalagem e do ambiente de armazenamento e conservação de sementes de café. Viçosa: UFV, 1988. 56p.(Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- ARCILA-PULGARIN, T. The effect of drying temperature on the germination of coffee seeds. *Cenicafé, Caldas*, v.27, n.2, p.89-91, Apr./June 1976.
- BACCHI, O. Seca da semente de café ao sol. *Bragantia, Campinas*, v.14, n.22, p.225-236, nov. 1955.
- BACCHI, O. Estudos sobre a conservação de sementes de café. *Bragantia, Campinas*, v.17, n.20, p.261-270, dez. 1958.
- BENDANÃ, F.E. Fisiología de los semillas de café. *Turrialba, Turrialba*, v.4, n.15, p.99-106, out./dez. 1962.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. *Seeds: physiology of development and germination*. New York: Plenum, 1994. 445p.
- BRADFORD, K.J. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. *HortScience, Alexandria*, v.21, n.5, p.1105-12, 1986.
- BROCKLEHURST, T.A.; DEARMAN, J. Interactions between seed priming treatments and nine seed lots of carrot, celery and onion: I. Laboratory germination. *Ann. Appl. Biol.*, v.102, p.577-84, 1983.
- CAIXETA, I.F. *Maturação fisiológica da semente do cafeeiro cv. Mundo Novo*. Lavras: ESAL, 1981. 48p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).

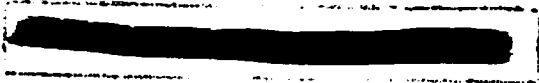
- CAMARGO, R. de; MENDES, A.N.G.; FRAGA, A.C.; GUIMARÃES, R.J. Efeito da temperatura e tempo de secagem sobre a germinação de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 22, Águas de Lindóia, 1996. Resumos...Rio de Janeiro: MAARA/PROCAFÉ, 1996. p.57.
- CARVALHO, G. R. Germinação de sementes e aclimatização de plântulas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) propagadas "in vitro". Lavras: UFLA, 1997. 64p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- CARVALHO, M.M. de; ALVARENGA, G. Cultura do cafeeiro; parte II. Lavras: ESAL, 1993. 50p. (Apostila de cafeicultura).
- CARVALHO, N.M. de; NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 424p.
- CONN, E.C.; STUMPF, P. K. Introdução à bioquímica. São Paulo: Edgard Bliicher, 1980. 451p.
- COPELAND, L.O. Principles of seed science and technology. Minneapolis, Burgess, 1976. 369p.
- CÓRDOBA, G.A.T.; BORGES, E.E. de. L e; BORGES, R. de. C. G.; NEVES, J.C.L. Osmocondicionamento, secagem e armazenamento de sementes de *Eucalyptus hook* e *Eucapypthus grandis* W. Hill (ex. Maiden). Revista Brasileira de Sementes, Brasília, v.17, n.1, p.81-85, 1995.
- DIAS, M.C.L. de; BARROS, A.S. do 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.
- DONI FILHO, L. Efeitos do condicionamento fisiológico no comportamento de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). Piracicaba: ESALQ, 1992. 108p. (Tese - Doutorado).
- EIRA, M.T.S. Condicionamento osmótico de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.): efeitos sobre a germinação e desempenho sob estresse hídrico, salino e térmico. Piracicaba: ESALQ, 1988. 90p.(Dissertação - Mestrado).

- FERREIRA, L.G.R.; REBOUÇAS, M.A.A. Influência da hidratação/desidratação de sementes de algodão na superação dos efeitos da salinidade na germinação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.27, n.4, p.609-615, abr. 1992.
- FRANCO, C.M. *Apontamentos de fisiologia do cafeeiro*. Campinas: Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo, CATI, 1970. 55p.
- FU, J.R.; LU, X.H.; CHEN, R.Z.; ZHANG, B.Z.; LIU, Z.S.; CAI, D.Y. Osmoconditioning of peanut (*Arachis hypogea* L.) seeds with PEG to improve vigour and some biochemical activities. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.16, p.197-212. 1988.
- FUJIKURA, Y.; KARSSSEN, C.M. Effects of controlled deterioration and osmopriming on protein synthesis of cauliflower seeds during early germination. *Seed Science Research*, Wallingford, v.2, p.23-31, 1992.
- FURUTANI, S.C.; ZANDSTRA, B.H.; PRINCE, H.C. The effects of osmotic solute composition and duration and temperature of priming on onion seed germination. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.14, p.545-51, 1986.
- GIÚDICE, M. P. DEL. Condicionamento osmótico de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill). Viçosa: UFV, 1996. 117p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia).
- GOMES, M.S. CAMARGO, R. de; VIEIRA, M.G.G.C.; CARVALHO, M.L.M. Condicionamento osmótico de milho doce. *Informativo Abrates*, Curitiba, v.7, n.1/2, p.186, 1997.
- GUIMARÃES, R.J. Formação de mudas de cafeeiro: (*Coffea arabica* L.): Efeitos de reguladores de crescimento e remoção do pergaminho na germinação de sementes e do uso de N e K em cobertura, no desenvolvimento de mudas. Lavras: UFLA, 1995. 133p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia).
- GUIMARÃES, R.M. Efeito do condicionamento osmótico sobre a germinação e desempenho de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.) sob condições ideais e de estresse térmico, hídrico e salino. Lavras: ESAL, 1991. 78p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).

- HARDEGREE, S.P.; EMMERICH, W.E. Effect of polyethylene glycol exclusion on the water potential of solution-saturated filter paper. **Plant Physiology**, New York, v.92, p.462-6, 1990.
- HERNER, R.C. Germination under cold soil conditions. **HortScience**, Alexandria, v.21, n.5, p.1118-22, 1986.
- HEYDECKER, W.; COOLBEAR, P. Seed treatments for improved performance; survey and attempted prognosis. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.5, p.353-425, 1977.
- HEYDECKER, W.; GIBBINS, B. M. The priming of seeds. **Acta Horticulturae**, Wageningen, n.83, p. 213-223, 1978.
- HEYDECKER, W.; HIGGING, J.; GULLIVER, R.L. Accelerated germination by osmotic seed treatment. **Nature**, London, v.246, p. 42-4, nov.1973.
- HEYDECKER, W.; HIGGING, J.; TURNER, Y.J. Inviroration of seeds? **Seed Science and Technology**, Zürich, v.3, p.881-888, 1975.
- KHAN, A.A.; BRAUM, J.W.; TAO, K.L.; MILLIER, W.F.; BENSIN, R.F. New methods for maintaining seed vigor and improving performance. **Journal of Seed Technology**, Lansing, v.1, n.2, p.33-57, 1976.
- KHAN, A.A. Preplant physiological seed conditioning. **Horticultural Review**, Edinburgh, v.31, p.131-81, 1991.
- KNYPL, J.S.; JANAS, K.M.; KOSWIAK, A.R. Is enhanced vigour in soybean dependent on activation of protein turnover during controlled hydration of seeds? **Physiologie Vegetale**, Montrouge, v.18, p. 157-61, 1980.
- KNYPL, J.S.; KHAN, A.A. Osmoconditioning of soybean seeds to improve performance at suboptimal temperatures. **Agronomy Journal**, Madison, v.73, n.1, p. 112-16, Jan./Feb. 1981.
- LEHNINGER, A.L. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1992. 725p.

- LIMA, W.A.A.; ARAÚJO, R.F.; DIAS, D.C.F.S.; ALVARENGA, E.M.; ARAÚJO, E.F. Ajuste de metodologia para o condicionamento osmótico de sementes de café (*Coffea arabica* L.). *Informativo Abrates*, Curitiba, v.7, n.1/2, p.107, 1997.
- LOPES, H.M.; SOUZA, W.F.T.; ROSSETTO, C.A.V.; SILVA, E.R. Efeito do potencial hídrico e da temperatura na embebição e na emissão da raiz primária, em sementes de cenoura. *Informativo Abrates*, Curitiba, v.7, n.1/2, p.103, 1997.
- MATTHEWS, S.; POWELL, A.A. Environmental and physiological constraints on field performance of seed. *HortScience*, Alexandria, v.21,n.5, p.1125-8, 1986.
- MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. *The germination of seeds*. Oxford: Pergamon, 1989. 270p.
- MENEZES, D. Determinação da curva da embebição e avaliação da qualidade fisiológica de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.). Lavras: UFLA, 1996. 57p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- MELLO, V.D.C.; SANTOS, D.S.B.; SANTOS, B.G.; LIMA, D.; SILVA, T.M.A.; STUMPF, C.L. Condicionamento osmótico de sementes de cebola. *Informativo Abrates*, Brasília, v.3, n.3, p.30, 1993.
- MEXAL, J.; FISHER, J.T.; OSTERYOUNG, J.; REID, P.P. Oxygen availability in polyethylene glycol solutions and its implications in plant-water relations. *Plant Physiology*, New York, v.55, p. 20-24, 1975.
- MIGLIORANZA, E. Conservação de sementes de café (*Coffea arabica* L. cv. Catuaí) com diferentes teores de umidade, armazenadas em embalagens hermeticamente fechadas. Piracicaba: ESALQ, 1982. 60 p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- MIRANDA, J.M. Estudos de alguns fatores que influenciam a duração da viabilidade de sementes de café (*Coffea arabica* L.) cv. Catuaí. Lavras: ESAL, 1987. 60p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).

- OBENDORF, R.L.; HOBBS, P.R. Effect of seed moisture on temperature sensitivity during imbibition of soybean. *Crop Science*, Madison, v.10, n.1, p.563-566, Sept./Oct. 1970.
- PAES, J.M.V.; BRITO, C.H.; PIRES, N.M.; PERIUS, M.G.; MARROCOS, P.C.L.; ALVARENGA, E.M. Efeito de diferentes solutos na germinação e no vigor de sementes de guar (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taubert). *Informativo Abrates*, Curitiba, v.7, n.1/2, p.102, 1997.
- PANDEY, D.K. Priming induced repair in French bean seeds. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.16, p.527-32, 1988.
- PANDEY, D.K. Priming induced alleviation of the effects of natural ageing derived selective leakage of constituents in French bean. *Seed Science and Technology*, Zürich, v.17, p.391-7, 1989.
- PARRISH, D.J.; LEOPOLD, A.C. On the mechanism of ageing in soybean seeds. *Plant Physiology*, Lancaster, v.61, n.1, p.365-8, 1978.
- POPINIGIS, F. *Fisiologia da semente*. Brasília: Ministério da Agricultura, 1985. 289p.
- POWELL, A.A.; MATTHEWS, S. The damaging effect of water on dry pea embryos during imbibition. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v.29, n.112, p.1215-1229, 1978.
- ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. *Seed Science and Technology*, Zurich, v.1, n.3, p.499-514, 1973.
- RENA, A.B.; MAESTRI, M. *Fisiologia do cafeeiro*. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.11, n.126, p.26-40, jun. 1985.
- RENA, A.B.; MAESTRI, M. *Fisiologia do cafeeiro*. In: RENA, A. B.; MALAVOLTA, E.; ROCHA, M.; YAMADA, T. *Cultura do cafeeiro; fatores que afetam a produtividade*. Piracicaba: POTAFÓS, 1986. p.13-85.
- ROCHA, V.S.; OLIVEIRA, A.B.; SEDIYAMA, T.; GOMES, J.L.L.; SEDIYAMA, C.S.; PEREIRA, M.G. *A qualidade da semente de soja*. Viçosa-MG: UFV, 1990. 76p. (Boletim de Extensão, 188).

- 
- SANTOS, V.L.M.; CALIL, A.C.; RUIZ, H.A.; ALVARENGA, E. M.; SANTOS, C.M. Efeito do potencial osmótico na germinação e vigor de sementes de soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 23, Porto Alegre, 1991. Resumos...Porto Alegre: UFRS, 1991. p.173.
- SCARANARI, H.J. Viveiros de café, instruções práticas. *O Agrônomo*, Campinas, v.5, n. 54, p.5-9, maio, 1954.
- SHARMA, M.L. Simulation of drought and its effect on germination of five pasture species. *Agronomy Journal*, Madison, v.65, p. 982-7, 1973.
- VALIO, I.F.M. Germination of coffee seeds (*Coffea arabica* L.) cv. Mundo Novo. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v.2, n.100, p.983-991, Oct./Nov. 1976.
- VANTOAI, T.T.; FAUSEY, N.R.; MCDONALD JR, M.B. Anaerobic metabolism enzymes as markers of flooding stress in maize seeds. *Plant and Soil*, New York, v.102, n.1, p.33-39, 1987.
- VAZQUEZ, G.H. Condicionamento fisiológico de sementes de soja: efeitos sobre a germinação, vigor e potencial de armazenamento. Piracicaba: ESALQ, 1995. 138p.
- VOSSEN, H.A.M. VAN DER. Methods of preserving the viability of coffee seeds in storage. *Seed Science and Technology*, Kenya, v.7, n.1, p.65-74, Jan.1979.
- ZHANG, M.; MAEDA, Y.; FURIHATA, Y.; NAKAMAR, Y. ESASHI, Y.A. Mechanism of seed deterioration in relation to the volatile compounds evolved by dry seeds themselves. *Seed Science Research*, Wallingford, v.4, n.1, p.49-56, Mar.1994.
- WENT, F.W. *The experimental control of plant growth*. New York: The Ronald, 1957. p.164-168. (Chronica Botanica. Na International Biological and Agricultural Series, 17).
- WESTERMEIER, R.; BARNES, N.; GRONAU-CZY BOLKA,S. et al. *Electrophoresis in practice: a guide to theory and practice*. New York: VCH, 1993. 227p.



WOODSTOCK, L.W.; TAYLORSON, R.B. Soaking injury and its reversal with polyethylene glycol in relation to respiratory metabolism in high and low vigor soybean seeds. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.53, n.3, p.263-8, Nov.1981.

CAPÍTULO 2

ESTUDOS DE INATIVAÇÃO E DETERMINAÇÃO DA CURVA DE EMBEBIÇÃO DE SEMENTES DE CAFEIEIRO (*Coffea arabica* L.).

1 Resumo

O trabalhos foram realizados no Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Federal de Lavras - MG, tendo como objetivo principal, determinar a curva de embebição de sementes de cafeeiro, conhecimento de fundamental importância para dar início aos estudos de condicionamento fisiológico. No primeiro experimento foram avaliados os efeitos das temperaturas de 45, 55, 65, 75, e 85°C nos tempos de 12 e 36 horas sobre sementes com e sem o endocarpo. Os resultados obtidos neste experimento, permitiram concluir que independente do tipo de semente (com ou sem o endocarpo) pode-se alcançar 100 % de inativação em temperaturas próximas a 70°C, com um tempo de aquecimento de 12 horas. No segundo experimento onde foram determinadas as curvas de embebições para sementes viáveis e inviáveis, com e sem endocarpo, realizou-se leituras da percentagem de umidade a cada 12 horas, até as 480 horas após o início do teste. A avaliação das sementes inativadas, teve como objetivo determinar em que tempo e grau de umidade é iniciada a 2ª fase da curva. Foi observado que nas sementes vivas com e sem endocarpo a fase I é completada próximo às 144 horas e a fase III somente é atingida pelas sementes viáveis sem endocarpo, tendo início em torno de 228 horas após o início do teste, obedecendo um padrão trifásico de absorção de água.

2 Abstract

STUDIES OF INACTIVATION AND DETERMINATION OF THE IMBIBITION TREND OF COFFEE SEEDS (*Coffea arabica* L.).

The work has undertaken in the Seed Analysis Laboratory of the Federal University of Lavras - MG, having the main objective as determining the coffee seed soaking curve, knowledge of fundamental importance to start the physiological conditioning studies. In the first experiment, the effects of the temperatures of 45, 55, 65, 75 and 85°C at 12 and 36 hours on seeds with and without the endocarp were evaluated. The results obtained in this experiment enabled to conclude that regardless the seed type (with or without the endocarp) 100% of inactivation of seeds at temperatures close to 70°C can be reached, with a heating time of 212 hours. In the second experiment where the soaking curves for viable and inviable seeds, with and without the endocarp were determined, readings of the moisture percentage every 12 hours up to 480 hours after the start of the test were performed. The evaluation of the inactivated seeds was aimed to determinate at what time and moisture percentage the second phase of the curve was started. It was found that in living seeds with and without the endocarp, phase I is completed close to 144 hours and phase III is reached only by the seeds without endocarp, beginning around 228 hours after the onset of the test, obeying a three-phase water absorbing pattern.

3 Introdução

O primeiro passo para o aperfeiçoamento de uma técnica de condicionamento fisiológico, é o conhecimento do processo de embebição das sementes da espécie a qual se pretende estudar. Com relação as sementes de cafeeiro, até o momento pouco se conhece sobre o processo de absorção de água, sabendo-se apenas que este é relativamente lento quando comparado as sementes de algumas espécies. É provável que o insucesso de alguns trabalhos pioneiros onde foram avaliados os efeitos da imersão direta das sementes em água sobre a germinação e o vigor possa ser atribuído em parte a carência de informações básicas mas imprescindíveis como esta.

Em face ao objetivo principal deste trabalho, de dar início a estudos sobre envigoramento de sementes de cafeeiro, neste capítulo realizou-se dois experimentos, sendo que no primeiro foram avaliados métodos de inativação de sementes para que no segundo trabalho, fossem determinadas as curvas de embebições.

A embebição é um conjunto de processos físicos que ocorrem em função das propriedades dos colóides e sua dimensão varia de acordo com a permeabilidade do tegumento, composição química da semente, da área de contato entre a semente e a água, com a pressão hidrostática e o estado fisiológico da própria semente (Bewley e Black, 1994).

A primeira fase da curva de embebição não depende da atividade metabólica da semente, por isso, pode ocorrer em condições anaeróbias, sob baixas temperaturas, em sementes viáveis, dormentes e em tecidos vivos ou não (Marcos Filho, 1986). Daí a necessidade do estudo de inativação de sementes, para que se possa colocar sementes inativadas nas mesmas condições de germinação que sementes íntegras para se determinar essa primeira fase. Tendo

como base o padrão trifásico proposto por Bewley e Black (1994), após o término da fase I, as sementes viáveis absorvem água em quantidades muito reduzidas. No entanto, isto não ocorre quando estão inviáveis, mantendo a partir do final da fase I um patamar relativamente fixo de grau de umidade, permitindo assim a determinação do final da fase I.

Por esta metodologia então, é possível determinar a faixa de umidade ou de tempo em que a semente inicia a segunda fase da curva de embebição, enquanto que o início da etapa III é caracterizado pela emissão da radícula. Para a inativação de sementes de algodão no estudo da curva de embebição, Menezes (1996) utilizou a temperatura de $105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ por 4 horas. Embora ainda persistam algumas divergências em relação ao efeito de altas temperaturas sobre a germinação de sementes de cafeeiro, estudos apontam que temperaturas inferiores a que foi usada pelo referido autor possam inativar estas sementes.

Os objetivos dos trabalhos realizados neste capítulo, foram de determinar o tempo e o grau de umidade em que se iniciam as fases das curvas de embebições de sementes de cafeeiro com e sem o endocarpo. Estas informações, embora sejam básicas, são vitais, considerando que a técnica do condicionamento fisiológico está fundamentada no controle da hidratação das sementes. No entanto, para o estudo da curva de embebição foi necessário determinar qual a temperatura e o tempo mínimo de aquecimento capazes de inativar as sementes de cafeeiro, provocando assim menores danos físicos possíveis aos tecidos destas.

MENEZES, D. Determinação da curva da embebição e avaliação da qualidade fisiológica de sementes de algodão (*Gossypium hirsutum* L.). Lavras: UFLA, 1996. 57p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).

4. Metodologia

4.1 Metodologia do experimento I: Estudos de inativação de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) para a determinação da curva de embebição.

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes, do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras-MG no período de julho a outubro de 1996.

Foram utilizadas sementes de cafeeiro da cultivar Acaiá LCP-474/19 colhidas em março de 1996 em um campo de produção localizado no campus da Universidade Federal de Lavras. Os frutos foram colhidos no estágio de “cereja” como recomendado por Caixeta (1981). As sementes após processadas (despolpadas) e secas (Begazo e Paula, 1985), foram selecionadas eliminando-se aquelas quebradas ou mal formadas. O armazenamento foi realizado em uma câmara fria, ajustada a temperatura de 10°C e umidade relativa de 55 %. Por ocasião da instalação do experimento as sementes encontravam com 92% de germinação e umidade de 15 %.

Foram testadas as temperaturas de 45, 55, 65, 75 e 85°C nos tempos de 12 e 36 horas. As sementes foram colocadas em latas de alumínio hermeticamente fechadas e levadas para uma estufa de secagem previamente regulada para fornecer a temperatura relativa a cada tratamento. Como tratamento adicional (testemunha), foi utilizada uma amostra de sementes do mesmo lote que não recebeu nenhum tipo de tratamento de aquecimento.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso em esquema fatorial 2 x 5 x 2, sendo 2 tipos de sementes (com e sem endocarpo), 5 temperaturas (45, 55, 65, 75 e 85°C) e 2 tempos de aquecimento (12 e 36 horas) com 4 repetições, além da testemunha.

Após o término de cada tratamento as latas com as sementes eram retiradas e mantidas ainda fechadas em condições de temperatura ambiente por um período de 12 horas para o restabelecimento do equilíbrio do grau de umidade das sementes.

A avaliação dos efeitos dos tratamentos foi efetuada pelo Teste Padrão de Germinação com quatro repetições de 200 sementes cada. As sementes foram colocadas em papel-toalha, tipo germitest (50 sementes por rolo) previamente umedecido com água, na proporção de 2,5 vezes o peso do papel e dispostos na forma de rolos em um germinador tipo Mangelsdorf, regulado para manter a temperatura de 30°C.

A avaliação da percentagem de germinação foi realizada aos 30 dias após a instalação do experimento, tendo como parâmetro o número de sementes com protusão de radícula. Ao término das avaliações, procedeu-se a análise estatística dos dados conforme metodologia descrita por Gomes (1982)

4.2 Metodologia do experimento II: Determinação da curva de embebição de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.).

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes, do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras-MG, no período de dezembro de 1996 a março de 1997.

De posse das conclusões do primeiro experimento, no qual se determinou qual o tipo de semente bem como a melhor relação (temperatura x tempo) capaz de inativar as sementes de cafeeiro, foi dado prosseguimento ao trabalho com o estudo do processo de embebição das sementes, conhecimento básico imprescindível para as etapas posteriores.

Para a realização deste estudo foram utilizadas sementes viáveis e inviáveis, conforme metodologia também empregada por Menezes (1996). O processo de inativação utilizado foi o aquecimento de sementes com endocarpo à temperatura de 70°C por 12 horas.

Em vista da influência do endocarpo (“pergaminho”) na germinação das sementes de cafeeiro (Guimarães, 1995 e Carvalho, 1997), foi realizada a avaliação da embebição de sementes com e sem o endocarpo, as quais pertenciam a mesma cultivar e lote descrito no primeiro experimento. A retirada do endocarpo foi feita manualmente a fim de evitar possíveis danos as sementes.

Foram utilizadas 4 repetições de 50 sementes para cada tempo de embebição, adotando o delineamento experimental em blocos ao acaso, a fim de se evitar possíveis influências das posições dos tratamentos no interior do germinador. As sementes foram colocadas em papel toalha, tipo Germitest previamente umedecido com água na proporção de 2,5 vezes o peso do papel e dispostos na forma de rolos em um germinador tipo Mangelsdorf, regulado para manter a temperatura de 30°C. O ensaio teve a duração de 480 horas para ambos os tipos de sementes (com e sem endocarpo) e estado de viabilidade (viáveis e inviáveis).

As avaliações foram realizadas a cada 12 horas, determinando o peso úmido, o peso de matéria seca e o teor de água em cada tempo de embebição. As pesagens foram efetuadas em uma balança de precisão, com quatro casas decimais. A percentagem de umidade das sementes foi determinada pelo método da estufa a 105°C ± 3°C por 24 horas, segundo as prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992).

O critério adotado para considerar o início da fase III da curva de embebição foi o mesmo empregado por Menezes (1996), ou seja, quando no mínimo 50 % das sementes apresentavam a protusão da radícula.

De posse dos resultados, procedeu-se a análise estatística dos dados conforme metodologia descrita por Gomes (1982).

5 Resultados e Discussão

5.1 Experimento I: Estudos de inativação de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) para a determinação da curva de embebição.

Na tabela 1 é apresentado o resumo da análise de variância da percentagem de germinação das sementes submetidas aos tratamentos de inativação. Observa-se que para a característica percentagem de sementes germinadas houve efeito significativo pelo teste “F” para os fatores temperatura, tempo de aquecimento e tipo de semente (com e sem endocarpo), bem como para as interações entre estes.

A influência da temperatura de secagem sobre a germinação das sementes reforça os resultados encontrados por Arcila-Pulgarin (1976) e Araújo, Corrêa e Pereira (1989). Nos trabalhos de ambos os autores a partir de temperaturas entre 60 e 70°C todas as sementes foram inativadas. Por outro lado, a significância da interação entre os três fatores determinada pelo teste aplicado indicou a dependência entre eles. Para a característica avaliada, o desdobramento dos níveis do fator temperatura dentro de cada tempo e tipo de semente indicou que os dados se ajustaram ao nível de significância de 1% a equações de regressões quadráticas descendentes (Figura 1). Contudo, atribui-se a significância da interação devido elevada precisão experimental (coeficiente de variação de 5,62 %), pois as curvas são próximas e quase paralelas, indicando a mesma tendência de redução da percentagem de germinação com a elevação da temperatura, para os dois tipos de

sementes e tempos de aquecimento.

TABELA 1: Resumo da análise de variância relativa a característica percentagem de germinação de dois tipos de sementes de cafeeiro submetidas a diferentes tempos e temperaturas de aquecimento. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Causa de variação	GL	Quadrado Médio
Bloco	3	1,8998NS
Temperatura (T)	4	21341,2390**
Tempo (TE)	1	62,1281**
Endocarpo (E)	1	152,6281**
T x TE	4	20,9094**
T x E	4	27,2844**
TE x E	1	0,1531NS
T x TE x E	4	10,1062**
Testemunha x Tratamentos	1	19510,5274**
Resíduo	60	2,2769
Média Geral		26,84
C. V. (%)		5,62

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Confirmando as expectativas sobre uma possível influência do endocarpo no estudo de inativação das sementes de cafeeiro, pode ser observada uma sensibilidade ligeiramente maior a uma mesma temperatura de aquecimento, especialmente nas sementes sem o endocarpo, tratadas nos tempos de 36 e 12 horas. Por outro lado, o comportamento ou a resposta a uma mesma variação de temperatura foi semelhante entre os tipos de sementes quando submetidas ou não aos mesmos tempos de aquecimento. Para as sementes sem endocarpo aquecidas por 36 horas a elevação da temperatura de aquecimento de 45°C para 65°C proporcionou uma diminuição na germinação, de aproximadamente 98% em relação a temperatura de 45°C. De modo semelhante, para as sementes com endocarpo aquecidas durante o mesmo tempo, esta variação de temperatura

resultou numa redução em torno de 93 %. Observações semelhantes foram efetuadas sobre o comportamento das sementes com e sem endocarpo aquecidas por 12 horas, revelando que as quedas nas germinações foram de aproximadamente 93 e 95%, respectivamente.

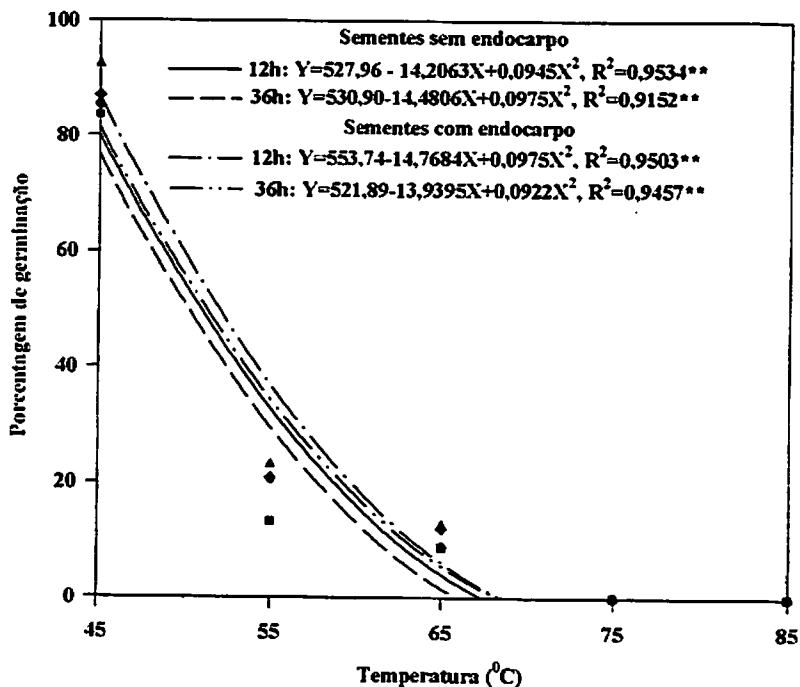


FIGURA 1: Efeito de tempos, temperaturas de aquecimento e tipo de semente na porcentagem de germinação de sementes de café. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Na tabela 1 pode-se observar, que houve alta significância para a testemunha em comparação com os demais tratamentos a qual apresentou uma germinação média de 92%. É possível observar que mesmo a temperatura de 45°C resultou em uma diminuição de 5,4 a 15,3 % na germinação das sementes. Por outro lado Arcila-Pulgarin (1976) concluiu que a secagem até 45°C não foi

prejudicial a germinação das sementes, porém é possível que esta discordância de resultados seja em função de diferenças metodológicas. O aquecimento das sementes sem endocarpo por 12 horas à temperatura de 45°C, resultou numa queda de 13% na germinação em relação a testemunha (92%). No entanto, em trabalho anterior, Camargo et al.(1996) haviam observado que o aquecimento a esta mesma temperatura por 10 horas reduziu a germinação em 29% em relação a testemunha. Esta diferença de comportamento pode ter ocorrido também em função da melhor qualidade fisiológica das sementes utilizadas no presente experimento.

Na figura 1 pode ser observado que independente do tipo de semente e do tempo de aquecimento, houve inativação de todas as sementes, nas temperaturas entre 65 e 70°C. A nível prático, este resultado indicou que as sementes podem ser inativadas com o endocarpo, não implicando necessariamente em um grande aumento na temperatura de aquecimento. Dentro da faixa de tempo de aquecimento estudada e dos tipos de sementes testadas, o uso de temperaturas acima de 70°C para a inativação de sementes tanto com ou sem endocarpo, é desnecessário e pode resultar em danos físicos aos tecidos das sementes.

Entre as sementes com endocarpo, de acordo com as equações de regressão, todas as sementes podem ser mortas nos tempos de 12 e 36 horas, nas temperaturas de 69,10 e 68,24°C respectivamente. Em função da pequena diferença de temperatura para os tempos estudados, toma-se então recomendável que a inativação seja feita utilizando-se o menor tempo (12 horas).

A preocupação em danificar ao mínimo as estruturas das sementes é decorrente da necessidade de se evitar possíveis influências destes, no padrão de embebição, na fase I da curva de embebição (experimento II), visto que esta etapa ocorre simplesmente em função de processos físicos.

5.2 Experimento II: Determinação da curva de embebição de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.).

Na tabela 2 é apresentado um resumo da análise de variância para a percentagem de umidade de sementes viáveis e inviáveis, com e sem o endocarpo em função do tempo de embebição.

Observa-se que para a variável estudada, houve efeito significativo ao nível indicado pelo teste “F” para os fatores tipo de semente e tempo de embebição, bem como para a interação entre estes.

TABELA 2: Resumo da análise de variância relativa a percentagem de umidade das sementes de cafeeiro em função do tempo de embebição e do tipo de semente. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Causa de variação	GL	Quadrado Médio
Bloco	3	2,6774NS
Tipo de semente (TS)	3	1217,4489**
Tempo (TE)	40	561,6450**
TS x TE	120	11,1442**
Resíduo	489	1,1792
Média Geral		51,32
C.V (%)		2,12

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Assim como observado anteriormente por Cordoba et al. (1995) e Menezes (1996) em sementes de eucalipto e algodão, respectivamente, as sementes de cafeeiro também apresentaram grande tendência de ajuste segundo o padrão trifásico proposto por Bewley e Black (1994) (Figura 2).

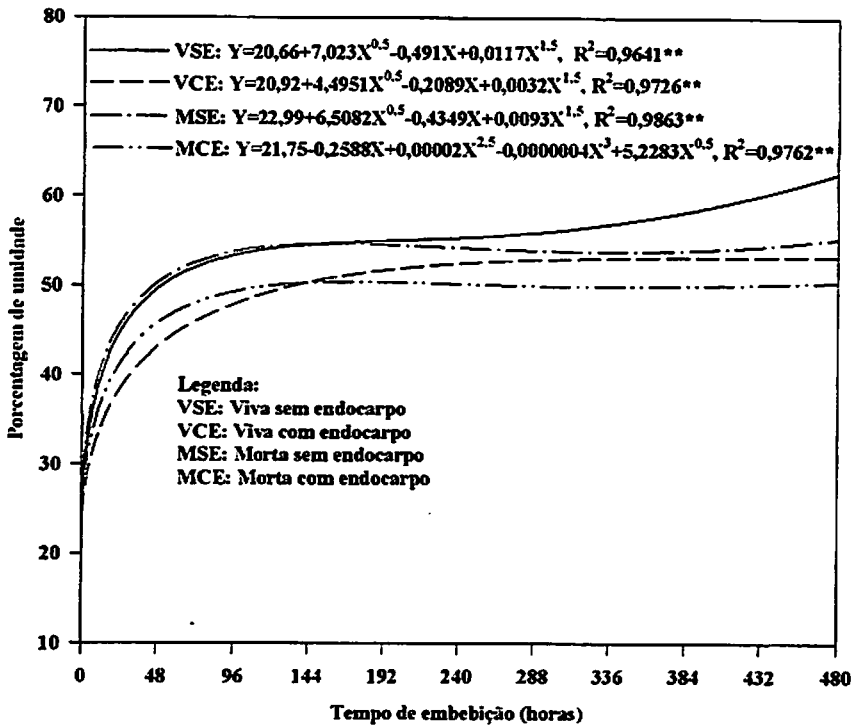


FIGURA 2: Efeito de tipos de sementes e tempos de embebição sobre o grau de umidade de sementes de café. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Para as sementes vivas e com endocarpo, o ganho de umidade se deu de modo diferente em relação às vivas sem endocarpo, desde o início do processo de embebição. Este resultado pode ser atribuído em grande parte em decorrência do trabalho ter sido realizado em meio asséptico. Nesta condição não há ação de microrganismos sobre os tecidos do endocarpo, conforme relato de Franco (1970).

Na figura 2 é possível observar com clareza a existência das três fases da curva de embebição para as sementes viáveis cujo endocarpo ou “pergaminho”

foi retirado. Durante a fase I que se estendeu de 132 a 144 horas após a instalação do experimento, houve um rápido aumento na percentagem de umidade das sementes, passando de 20,66 % para 54,28 a 54,44 %. Esses resultados foram superiores aos citados por Carvalho e Nakagawa (1988) para a referida etapa. É preciso no entanto, considerar a influência da espécie e da metodologia empregada por diferentes autores ao se comparar este tipo de resultado.

Segundo Bewley e Black (1994), a alta velocidade de embebição no início do processo é característico da fase I e ocorre em função da diferença de potencial hidrico entre o substrato e a semente. É possível então que esta propriedade física possa explicar o fato das curvas de embebição das sementes viáveis e inviáveis sem endocarpo terem tido um comportamento tão semelhante até o término da fase I.

Embora Carvalho e Nakagawa (1988) descrevam que esta fase seja bastante rápida, segundo os mesmos autores, a velocidade de absorção de água pela semente está na dependência de alguns fatores como por exemplo a espécie em estudo. No caso das sementes de cafeeiro, foi verificado que a fase I pode ser considerada extensa quando comparada a outras espécies como: amendoim (1 a 2 horas) (Carvalho e Spina, 1981; citado por Carvalho e Nakagawa, 1988) e algodão herbáceo (em torno de 6 horas) (Ferreira e Rebouças, 1992). Porém, examinando o processo de embebição como um todo e levando em consideração o tempo necessário para que houvesse a protusão da radícula, a maior duração desta etapa inicial para as sementes de cafeeiro pareceu ser bastante coerente.

As sementes vivas com endocarpo também vieram a completar a fase I em torno 144 horas após o início do teste, ocasião em que a umidade era de aproximadamente 50,3%. A partir daí houve apenas um pequeno incremento no teor de água até o final das avaliações. O fato das sementes viáveis com e sem endocarpo terem chegado ao final da fase I em tempos relativamente próximos,

poderia indicar uma não influência do endocarpo na primeira etapa da curva de embebição, não fosse pela diferença de aproximadamente 4,2% na umidade entre os dois tipos de sementes ao final da primeira etapa.

A segunda etapa (Fase II) da curva teve duração ligeiramente inferior a da fase I nas sementes vivas sem pergaminho, concordando com os resultados observados por Menezes (1996) em sementes de algodão deslindadas e diferindo da duração citada por Carvalho e Nakagawa (1988) para a referida etapa. As sementes tiveram ainda um ganho de umidade inferior a 1 %, condizendo com a característica descrita pelos últimos autores para esta etapa, ou seja, os aumentos no conteúdo de umidade são muito pequenos à medida que o tempo passa.

A fase III foi atingida somente pelas sementes viáveis sem endocarpo, quando o teor de água era em média de 55,1 %, o que ocorreu próximo às 228 horas após o início do trabalho. Este resultado foi semelhante ao obtido anteriormente por Lima et al. (1997) os quais constataram que as sementes de cafeeiro iniciaram a emissão da radícula com um grau de umidade, em média, superior a 55%.

Os resultados permitem afirmar ainda, que o efeito do endocarpo no atraso da germinação de sementes de cafeeiro, como descrito por Rena e Maestri (1986) e comprovado posteriormente por Guimarães (1995) e Carvalho (1997), pode também estar relacionado a um impedimento a absorção de água durante as etapas iniciais do processo de germinação. Desta forma, é possível sugerir que além da ação de algum inibidor presente na semente como descreveu Velazco e Gutierrez (1974), citados por Rena e Maestri (1986), a barreira à difusão de água imposta pelo endocarpo possa ter alguma influência no processo de embebição e germinação da semente de cafeeiro. Ainda há de considerarmos a tendência da utilização de tubetes e a substituição do substrato tradicional por substratos esterilizados, podendo a influência do pergaminho ser ainda mais pronunciada,

em função de um maior tempo necessário para sua degradação, possibilitando assim a emissão da radícula (fase III).

6 Conclusões

Nas condições em que foi realizado o experimento I, pode ser concluído que:

a) Independente da presença do endocarpo, pode ser alcançada a inativação de 100 % das sementes de cafeeiro, quando mantidas por 12 horas à temperaturas próximas a 70°C.

b) Não é necessária a retirada do endocarpo para inativar as sementes de cafeeiro.

Nas condições em que foi realizado o experimento II, pode ser concluído que:

a) A presença do endocarpo na semente de cafeeiro, implica na variação do padrão de absorção de água tanto de sementes vivas, quanto de sementes mortas.

b) Para as sementes vivas sem endocarpo, foi observado o padrão trifásico.

c) Nas sementes vivas com ou sem endocarpo, a fase I é completada próximo às 144 horas, sendo que a fase III é atingida somente pelas sementes viáveis sem endocarpo às 228 horas após o início do processo de embebição.

7 Referências bibliográficas

- ARAÚJO, E.F.; CORRÊA, P.C.; PEREIRA, O.A. Influência da temperatura de secagem na germinação de sementes de café. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, n.1-3, p.69-75, 1989.
- ARCILA-PULGARIN, T. The effect of drying temperature on the germination of coffee seeds. *Cenicafé, Caldas*, v.27, n.2, p.89-91, Apr./June 1976.
- BEGAZO, J.C.H.O.; PAULA, J.F. de. Considerações sobre o preparo do café visando a melhoria da qualidade. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.11, n.126, p.76-78, jun.1985.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. *Seeds: physiology of development and germination*. New York: Plenum, 1994. 445p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. *Regras para análise de sementes*. Brasília, 1992. 365p.
- CAIXETA, I.F. *Maturação fisiológica da semente do cafeeiro cv. Mundo Novo*. Lavras: ESAL, 1981. 48p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- CAMARGO, R. de; MENDES, A.N.G.; FRAGA, A.C.; GUIMARÃES, R.J. Efeito da temperatura e tempo de secagem sobre a germinação de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 22, Águas de Lindóia, 1996. *Resumos...*Rio de Janeiro: MAARA/PROCAFÉ, 1996. p.57.
- CARVALHO, G. R. *Germinação de sementes e aclimatização de plântulas de cafeeiro (Coffea arabica L.) propagadas "in vitro"*. Lavras: UFLA, 1997. 64p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).
- CARVALHO, N.M. de; NAKAGAWA, J. *Sementes: ciência, tecnologia e produção*. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 424p.

- CÓRDOBA, G.A.T.; BORGES, E.E. de L e; BORGES, R. de. C. G.; NEVES, J.C.L. Osmocondicionamento, secagem e armazenamento de sementes de *Eucalyptus hook* e *Eucapypus grandis* W. Hill (ex. Maiden). *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v.17, n.1, p.81-85. 1995.
- FERREIRA, L.G.R.; REBOUÇAS, M.A.A. Influência da hidratação/desidratação de sementes de algodão na superação dos efeitos da salinidade na germinação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.27, n.4, p.609-615, abr. 1992.
- FRANCO, C.M. *Apontamentos de fisiologia do cafeeiro*. Campinas: Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo, CATI, 1970. 55p.
- GOMES, F.P. *Curso de estatística experimental*. 10.ed. Piracicaba: Nobel, 1982. 430p.
- GUIMARÃES, R.J. *Formação de mudas de cafeeiro: (Coffea arabica L.): Efeitos de reguladores de crescimento e remoção do pergaminho na germinação de sementes e do uso de N e K em cobertura, no desenvolvimento de mudas*. Lavras: UFLA, 1995. 133p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia).
- LIMA, W.A.A.; ARAÚJO, R.F.; DIAS, D.C.F.S.; ALVARENGA, E.M.; ARAÚJO, E.F. Ajuste de metodologia para o condicionamento osmótico de sementes de café (*Coffea arabica* L.). *Informativo Abrates*, Curitiba, v.7, n.1/2, p.107, 1997.
- MARCOS FILHO, J. *Germinação de sementes*. In: SEMANA DE ATUALIZAÇÃO EM PRODUÇÃO DE SEMENTES, 1, Piracicaba, 1986. Campinas, Fundação Cargill, 1986. P. 11-39.
- MENEZES, D. *Determinação da curva da embebição e avaliação da qualidade fisiológica de sementes de algodão (Gossypium hirsutum L.)*. Lavras: UFLA, 1996. 57p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).

RENA, A.B.; MAESTRI, M. Fisiologia do cafeeiro. In: RENA, A B.; MALAVOLTA, E.; ROCHA, M.; YAMADA, T. Cultura do cafeeiro: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: POTAFÓS, 1986. p.13-85.

CAPÍTULO 3

ESTUDOS SOBRE CONDICIONAMENTO FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE CAFEIEIRO (*Coffea arabica* L.)

1 Resumo

Na segunda fase deste trabalho, foram instalados dois experimentos visando o aperfeiçoamento de uma metodologia para o condicionamento fisiológico de sementes de cafeeiro. Ambos os experimentos foram realizados no Laboratório de Análise de Sementes e no viveiro de mudas do Setor de Cafeicultura da Universidade Federal de Lavras - MG. No primeiro experimento foram estudados os efeitos de 3 métodos de condicionamento (imersão em água, imersão em solução de polietileno glicol (PEG 8000) e o uso de papel de filtro embebido em solução de PEG 8000 nos tempos de 3, 6 e 9 dias. O condicionamento foi realizado em uma incubadora regulada para a temperatura de 25°C com iluminação constante. As avaliações do índice de velocidade de germinação (IVG), índice de velocidade de emergência (IVE) e do teste de germinação aos 15 e 30 dias comprovaram que a imersão das sementes em água e em solução de PEG promovem melhoria significativa na qualidade das sementes, principalmente nos tempos de 9 e 6 dias. No segundo experimento, foram avaliados os efeitos de 4 tempos de imersão (3, 6, 9 e 12 dias) em soluções ajustadas aos potenciais hídricos de (0 (água), -3, -6, -9, e -12 atm), utilizando como soluto o polietileno glicol (PEG 6000) e mantendo as mesmas condições de ambiente de condicionamento do primeiro trabalho. Os resultados evidenciaram que os métodos de condicionamento fisiológico de sementes de cafeeiro testados são menos efetivos quando estas ainda apresentam boa qualidade fisiológica,

quando comparadas as sementes do lote utilizado no primeiro experimento, as quais encontravam-se com uma germinação inferior a 50 %. Por outro lado, embora os ganhos obtidos em função dos tratamentos tenham sido verificados mais a nível de vigor do que sobre a viabilidade, a imersão das sementes em água destacou-se como o método mais promissor. Através das avaliações das atividades enzimáticas e de proteína, pode-se verificar que em função do aumento do tempo de condicionamento e da concentração das soluções de PEG houve o favorecimento às condições de baixa disponibilidade de oxigênio, ativando a rota de respiração anaeróbica e provavelmente o acúmulo de produtos tóxicos as sementes.

2 Abstract

STUDIES ABOUT PHYSIOLOGICAL CONDITIONING OF COFFEE SEEDS (*Coffea arabica* L.).

In the second phase of this work, two experiments were set up evaluate the viability of the technics and improve a methodology of physiological conditioning of coffe seeds. Both the experiments were conducted in the Seed Analysis Laboratory and in the cutting nursery of the coffee culture sector at the Federal University of Lavras - MG. In the first experiment, the effects of three conditioning methods (water soaking, polyethylene glycol solution soaking (PEG 8000) and use of filter paper imbibed in PEG solution) during of 3, 6 and 9 days. Conditioning was performed in a incubator set to the temperature of 25°C with a constant illumination. The evaluations of the germination velocity index (GVI), emergence velocity index (EVI) and germination test proved that the soaking of

seeds in water and PEG solution caused significant improvement in seed quality, mainly during 9 and 6 days. In the second experiment, the effects of four soaking times (3, 6, 9 and 12 days) in solutions adjusted to the hydric potentials (0, -3, -6, -9 and -12 atm) by utilizing it as a solute polyethylene glycol (PEG 6000) and keeping the same ambient conditioning conditions of the first work. The results evidenced that the physiological conditioning of coffee seeds tested were less effective when they still presented good physiological quality as compared with the seeds of the lot used in the first experiment which showed a germination percentage inferior to 50%. On the other hand, although the gains obtained in terms of the treatments were verified at the level of vigor rather than viability, soaking seeds in water stood out as the most promising method. Through the evaluations of enzymatic and protein activities, it was possible to observe that increased conditioning time and concentration of PEG solution favored the prevalence of low oxygen availability conditions, triggering the anaerobic respiration and probably the accumulation of toxic products in seeds.

3 Introdução

Na tentativa de acelerar o processo de germinação de sementes de cafeeiro, até o momento a maioria dos estudos basearam-se apenas na imersão direta das sementes em água, sem controle de temperatura ou um estudo prévio sobre a embebição destas. O mais importante, é que a partir de trabalhos básicos como os realizados no segundo capítulo do presente trabalho pode-se começar a estabelecer alguns critérios, principalmente em relação ao o grau de umidade das sementes em função do tempo de embebição, servindo como ponto de partida para estudos de condicionamento fisiológico de sementes de cafeeiro.

Através da melhoria do desempenho germinativo, o envigoramento de sementes de cafeeiro abre a possibilidade de formação de estoques de sementes colhidas em anos anteriores ao da formação das mudas. Da mesma forma, um aumento no vigor e no poder germinativo poderia implicar na diminuição do gasto de sementes, as quais nos últimos anos tem respondido por significativos incrementos no custo de produção das mudas, em função principalmente do aumento na cotação da saca de café e do lançamento de materiais geneticamente superiores.

Resultados satisfatórios, já foram obtidos por vários pesquisadores, estudando sementes de diferentes espécies como: cebola, cenoura, feijão, alface, soja, amendoim e tomate, quando estas foram submetidas a técnicas de condicionamento fisiológico. Acredita-se que o processo de deterioração das sementes esteja diretamente relacionado com alterações em membranas de células, que podem predispor tecidos embrionários a danos durante a embebição (Woodstock e Tao, 1981). Em contra partida, o controle da hidratação das sementes pode promover uma reversão na sua qualidade fisiológica por ocasião do reparo do sistema de membranas. (Knypl e Khan, 1981).

O objetivo deste trabalho foi de verificar a viabilidade do uso de técnicas de condicionamento fisiológico em sementes de cafeeiro, visando a recuperação do vigor de sementes colhidas em anos anteriores ao da formação das mudas.

4. Metodologia

4.1 Metodologia do experimento I: Efeitos de métodos e tempos de condicionamento fisiológico sobre a germinação e o vigor de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.).

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes, do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras-MG, no período dos meses de maio a julho de 1997.

Foram utilizadas sementes de cafeeiro da cultivar Acaia colhidas em março de 1996 em um campo de produção localizado no município de Lavras-MG. Os frutos foram colhidos no estádio de “cereja” como recomendado por Caixeta (1981). As sementes foram processadas (despolpadas), secas (Begazo e Paula, 1985) e selecionadas, eliminando-se aquelas quebradas ou mal formadas. O armazenamento foi realizado em ambiente natural, sem controle de temperatura e umidade relativa do ar, como normalmente faz o produtor. Por ocasião da instalação do experimento as sementes encontravam-se com uma germinação de 46 % e umidade de 16 %.

Para o experimento, foram utilizadas sementes sem o endocarpo (“pergaminho”) os quais foram retirados utilizando o método manual, a fim de evitar quaisquer danos ao embrião. Em testes preliminares realizados nas mesmas condições deste experimento, foi verificada a necessidade de tratamento das sementes contra o ataque de fungos. Assim, antes do início do experimento, as sementes foram tratadas com os fungicidas Benlate e Thiran (200 e 100 g/100 Kg de semente respectivamente).

Foram estudados os efeitos de métodos de condicionamento fisiológico: imersão em água destilada, imersão em solução de polietileno glicol (PEG 8000 a

-6 atm) e em papel toalha, tipo Germitest, embebido com a mesma solução de PEG 8000 e nos tempos de 3, 6, e 9 dias. O preparo da solução de PEG foi efetuado uma hora antes do início do experimento, dissolvendo-se o soluto em água destilada com o auxílio de um bastão de vidro. O potencial osmótico da solução foi obtido utilizou-se a fórmula desenvolvida por Michel e Kaufmann (1973).

$$\Psi_h = - (1,18 \times 10^{-2}) C - (1,18 \times 10^{-4}) C^2 + (2,67 \times 10^{-4}) CT + (8,39 \times 10^{-7}) C^2T$$

Onde:

Ψ_h = potencial hídrico da solução (atm)

C = gramas de PEG 8000/Kg H₂O (a ser calculado)

T = temperatura em °C (25°C)

Para o condicionamento em imersão em água destilada e na solução de PEG, as sementes foram acondicionadas em bandejas plásticas, contendo água ou a solução em quantidade suficiente para a submersão das mesmas, mantendo o nível constante durante toda duração do experimento.

No condicionamento em papel toalha, as sementes foram dispostas sobre 5 folhas previamente umidecidas na proporção de 2,5 vezes seu peso com solução de PEG 8000 (-6 atm). As folhas foram então dobradas em forma de “pacote”, de modo a permitir que todas as sementes ficassem em contato com o papel.

O condicionamento foi realizado em uma incubadora (BOD) previamente regulada para fornecer iluminação constante e temperatura de 25°C. Nos tratamentos em que as sementes foram imersas em água destilada, foi efetuada a

troca desta diariamente e nos tratamentos em imersão em solução de PEG a aeração foi efetuada artificialmente.

Vencido o período de cada tratamento, as sementes eram retiradas, e enxaguadas em água corrente, tomando-se uma amostra para a determinação do grau de umidade pelo método da estufa ($105^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ por 24 horas) segundo as prescrições das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). Antes de serem instalados os testes para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes, procedeu-se a secagem destas, até a umidade de $13 \pm 3\%$.

As avaliações dos efeitos dos tratamentos tiveram início imediatamente após a secagem, através das seguintes testes:

a) **Índice de velocidade de germinação:** Foi utilizado o delineamento experimental em blocos casualizados, com quatro repetições de 50 sementes cada. As sementes foram colocadas em papel toalha (50 sementes por rolo) previamente umedecidos com água na proporção de 2,5 vezes o peso do papel e, dispostos na forma de rolos em germinador tipo Mangelsdorf, previamente regulado para manter a temperatura de 30°C . As avaliações tiveram início aos 10 dias após a instalação do teste, sendo efetuadas a partir daí, a cada 5 dias até os 30 dias.

b) **Índice de velocidade de emergência:** O teste foi conduzido em canteiro de areia + terra, na proporção de 2:1, previamente tratado com brometo de metila. Foram utilizadas 4 repetições de 200 sementes para cada tratamento no delineamento em blocos casualizados. Foram realizadas regas e o canteiro foi coberto com "sombrite".

As avaliações tiveram início aos 30 dias, ocasião em que foram verificadas as primeiras sementes emergidas, e a partir daí efetuada em intervalos de 5 dias até os 50 dias quando foi verificada a estabilização do estande.

c) **Teste de Germinação aos 15 e 30 dias:** Foi efetuado de acordo com a metodologia descrita no item (a), a exceção da data das leituras.

4.2 Metodologia do experimento II: Efeito de potenciais hídricos e tempos de condicionamento sobre a qualidade fisiológica e padrões proteicos e enzimáticos de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.).

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes e no viveiro de mudas do Setor de Cafeicultura do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras-MG, no período de julho a outubro de 1997.

O município de Lavras está situado à 21° 14'06'' de latitude sul e 45° 00'00'' de latitude oeste, e uma altitude média de 900 metros. O clima da região é do tipo Cwb (Koepper, 1970).

Foram utilizadas sementes de cafeeiro da cultivar Acaia, da progênie LCP-474/19, as quais encontravam-se em média com 87 % de germinação e umidade em torno de 16 %.

Para o experimento, foram utilizadas sementes sem o endocarpo ("pergaminho") retirados pelo método manual, a fim de evitar quaisquer danos ao embrião. Da mesma forma que descrito no item 4.2.1, antes do início do experimento, as sementes foram tratadas com os fungicidas Benlate e Thiran (200 e 100 g/100 Kg de semente respectivamente).

Foram estudados os efeitos de cinco potenciais hídricos (0 (água), -3, -6, -9 e -12 atm) nos períodos de 3, 6, 9 e 12 dias de condicionamento. As soluções de polietileno glicol (PEG 6000) nas diferentes concentrações foram obtidas de acordo com a fórmula desenvolvida por Michel e Kaufmann (1973), descrita no item 4.1.

O condicionamento foi efetuado em uma incubadora (BOD) previamente regulada para fornecer iluminação constante e temperatura de 25°C. Para o condicionamento, as sementes foram acondicionadas em bandejas plásticas, adicionando-se a solução de PEG 6000 até a submersão das mesmas, mantendo-se o mesmo nível durante toda duração do experimento. O fornecimento de oxigênio às sementes foi feito através de bombas de aeração.

Vencido o período de cada tratamento, as sementes eram retiradas, tomando-se uma amostra para a determinação do grau de umidade pelo método da estufa (105°C ± 3°C por 24 horas) de acordo com as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992). As sementes foram então colocadas em uma peneira e lavadas em água corrente para a eliminação do resíduo de solução.

Antes de serem instalados os testes para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes, procedeu-se a secagem destas, até a umidade de 13 ± 3%. O estudo dos efeitos dos tratamentos tiveram início imediatamente após a secagem das sementes através dos testes abaixo relacionados:

a) **Porcentagem de germinação:** Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes cada, no delineamento em blocos casualizados. As sementes foram colocadas em papel toalha (50 sementes por rolo) previamente umedecidos com água na proporção de 2,5 vezes o peso do papel e, dispostos na forma de “pacotes” em germinador tipo Mangelsdorf, previamente regulado para manter a temperatura de 30°C. As avaliações tiveram início aos 10 dias após a instalação do experimento, sendo efetuadas a cada 5 dias até os 30 dias. Foram consideradas germinadas aquelas sementes que apresentavam protusão de radícula maior que 3 mm.

b) **Porcentagem de plântulas com raízes secundárias:** O teste foi realizado nas mesmas condições do item (a), com a diferença de que as avaliações

ocorreram aos 20 e 30 dias após a instalação do teste, tendo como parâmetro o número de plântulas com emissão de raízes secundárias.

c) **Peso de matéria seca do sistema radicular:** O teste também foi instalado nas mesmas condições do item (a), determinando-se o peso seco do sistema radicular aos 30 dias após a instalação do teste.

d) **Porcentagem de plântulas no estágio de “palito de fósforo”:** O viveiro onde foi realizado o teste é do tipo cobertura alta, coberto com “sombrite”. Foram usados saquinhos de polietileno preto perfurados, de 10 x 20 cm. O substrato utilizado foi o atualmente considerado padrão (Carvalho, 1978), com uma mistura para 1 m³ feita com os seguintes componentes: 700 litros de solo peneirado, 300 litros de esterco de curral curtido e peneirado, 5Kg de superfosfato simples e 0,5Kg de cloreto de potássio. Após cheios e encanteirados, os saquinhos receberam as sementes na proporção de 2 por saquinho. Em seguida as sementes foram cobertas com 1 a 2 cm de areia de rio e aplicou-se pentacloronitrobenzeno (PCNB 75%) na dosagem de 60 g do produto comercial por 10 litros de água (2 litros de solução por m² de canteiro). Cada parcela útil constou de 24 saquinhos, utilizando-se quatro repetições, dispostas pelo delineamento em blocos casualizados. Nas extremidades de cada fileira foi deixado um saquinho como bordadura.

A avaliação foi feita aos 60 dias após a instalação do teste, computando-se apenas as plântulas que já haviam atingido o estágio de “palito de fósforo”.

e) **Porcentagem de plântulas no estágio de “orelha de onça”:** Foi utilizado para este estudo, o mesmo teste instalado para a avaliação no número de plântulas no estágio de “palito de fósforo”. Realizou-se a avaliação aos 90 dias após a instalação do teste, tendo como critério o número de plântulas no estágio de “orelha de onça”.

f) Alterações em padrões eletroforéticos de enzimas e proteína :

As proteínas foram extraídas ressuspendendo 100mg do pó de sementes de cafeeiro anteriormente triturado com nitrogênio líquido, em 200µl de tampão Tris Hcl 0,2M, pH 8,0 + 0,4% PVP, 1mM EDTA. Após a ressuspensão foi feita uma centrifugação por uma hora a 4°C a 14.000 rpm.

A eletroforese foi desenvolvida em sistema de géis de poliacrilamida a 7,5% (gel de separação) e 4,5% (gel de concentração). O sistema tampão de gel eletrodo utilizado foi o tris-glicina, pH 8,9. Foi aplicado 40µl do extrato referente a cada amostra no gel. A migração foi efetuada à 4°C, sob voltagem constante de 100 v. Após a migração eletroforética, os géis foram revelados para uma enzima ligada ao processo respiratório anaeróbico (álcool desidrogenase) e outra do sistema de respiração aeróbico (malato desidrogenase).

Para a avaliação das frações de extração de proteína, foram utilizados 50 mg do pó da semente, no qual foi adicionado 500µl do tampão de extração (50mM Tris, 2% SDS, 10% glicerol, 5% β mercaptoetanol e pH 6,8) em tubo eppendorf. Em seguida os tubos foram agitados em Vortex de 10 em 10 minutos por uma hora à temperatura ambiente, centrifugados à 6000 xg por 10 minutos e recolhido o sobrenadante. Foram colocados 10 µl de mistura tampão da amostra (5 ml de glicerol; 2,5 ml de solução tampão do gel concentrador; 2,5 mg de azul Bromofenol e completado o volume para 25 ml com água deionizada) + 40 µl de extrato de proteína em cada canaleta do gel. A eletroforese foi desenvolvida a 12 mA no gel concentrador e 24 mA no gel separador.

A avaliação da fração proteica foi feita sob eletroforese SDS-PAGE a 12,5% (gel separador) e 6% (gel concentrador). O sistema tampão gel/eletrodo utilizado foi Tris-glicina + SDS, pH 8,9. Após a migração eletroforética, os géis foram corados em solução Coomassie Brilliant Blue a 0,05% conforme Alfenas et

al. (1991), durante 12 horas, e descorados em solução de ácido acético 10 % e água 90 %.

5 Resultados e Discussão

5.1 Experimento I: Efeitos de métodos e tempos de condicionamento fisiológico sobre a germinação e o vigor de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.).

5.1.1 Grau de umidade das sementes

Na tabela 3 está apresentado o resumo da análise de variância, relativa a percentagem de umidade das sementes após o término de cada tratamento em função dos tempos e métodos estudados.

Foi observado que para a variável estudada houve efeito significativo ao nível indicado pelo teste “F” para os tempos e métodos de condicionamento, bem como para a interação entre estes fatores. Verificou-se também que em média, os tratamentos diferiram da testemunha. A interação altamente significativa entre os fatores métodos e tempos de condicionamento revelou a existência de dependência entre estes, ou seja, dentro de cada método estudado o tempo de condicionamento influenciou de forma diferenciada o aumento do teor de água das sementes.

Os resultados da tabela 4 , indicam um aumento no grau de umidade bastante significante aos 3 dias de condicionamento, independente do método utilizado. A partir do terceiro dia, esse ganho variou em função do tipo de condicionamento empregado. O maior ganho, em todos os tempos estudados ocorreram para sementes condicionadas no sistema de imersão em água destilada. Neste sistema, apesar de não ter havido a estabilização do grau de umidade nos

tempos avaliados, o ganho no teor de água do tempo de 6 para 9 dias de embebição foi menor que o de 3 para 6 dias. Já para as sementes imersas em solução de PEG, houve aumento no grau de umidade até aos 6 dias de embebição, com posterior estabilização. Em substrato de papel umedecido com solução de PEG, a umidade foi descendente a partir do terceiro dia (Tabela 4).

TABELA 3: Resumo da análise de variância relativa a percentagem de umidade das sementes em função dos tempos e métodos de condicionamento fisiológico. UFLA, Lavras, 1998.

Causa de Variação	GL	Quadrado Médio
Método	2	691,9860**
Resíduo (a)	3	0,02099
Tempo	2	1,7672*
Método x Tempo	4	40,8698**
Testemunha x Tratamentos	1	2544,0161**
Resíduo (b)	7	0,2314
Média geral		44,39
C.V (a)		0,32
C.V (b)		1,08

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Estes resultados evidenciam a esperada ausência de controle do processo de embebição quando as sementes foram submersas em água, o efeito do controle da absorção de água pela submersão em solução de PEG e a dificuldade do controle da embebição em substrato de papel, tendo em vista a progressiva higroscopicidade do papel toalha e a constante evaporação da água devido a maior superfície de exposição. Observação semelhante é relatada por Hardegree e Emerich (1990), os quais afirmam que nestes casos pode ocorrer a absorção de água pelo papel, reduzindo o potencial hídrico da solução. Segundo estes autores,

o fenômeno ocorre devido a fração hidrofílica do papel de filtro, a qual absorve água da solução, concentrando a solução de PEG.

TABELA 4: Percentagem de umidade das sementes ao final de cada tempo de condicionamento e em função do método estudado. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Método	Tempo de condicionamento (dias)		
	3	6	9
Imersão em sol. PEG	48,03 B b	53,85 B a	54,37 B a
Papel + sol. De PEG	41,30 C a	34,09 C b	32,62 C c
Imersão em água dest.	53,29 A c	57,12 A b	58,71 A a

-Médias distintas na linha e na coluna seguidas por letras minúscula e maiúsculas respectivamente, diferem entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de significância.

Vale ressaltar que as sementes submersas com solução de PEG, tiveram o processo de embebição praticamente paralizado aos 6 dias, quando atingiram teores de água próximos a 54%, coincidindo com o tempo e a percentagem de umidade de transição entre as fases II e III da curva de embebição (Figura 2) determinada no segundo capítulo deste trabalho. Por outro lado, apesar das sementes imersas em água destilada por 6 e 9 dias terem atingido um teor de água superior a 55,1%, umidade na qual de acordo com Lima et al. ocorre a protusão da radícula, não foi verificada a protusão de radícula em nenhuma semente .

5.1..2 Índice de velocidade de germinação

Pela Tabela 5 pode ser observado que para a variável estudada houve efeito significativo ao nível indicado pelo teste "F" para os tratamentos de condicionamento fisiológico.

De um modo geral, independente do tratamento de condicionamento fisiológico a que foram submetidas as sementes, todas apresentaram índices de velocidade de germinação superiores a testemunha (Tabela 6). Cabe destacar que a qualidade fisiológica do lote a ser submetido ao condicionamento fisiológico pode ser fator determinante nos resultados obtidos. Em sementes de *Eucalyptus citriodora* por exemplo, Cordoba et al (1995) determinaram que o osmocondicionamento só será efetivo quando a viabilidade das sementes for menor que 70,75 % enquanto que para *Eucalyptus grandis* o osmocondicionamento somente estimulará a emergência em valores abaixo de 84 %, indicando maior sensibilidade ao pré-tratamento. Na Tabela 6 é possível verificar que o índice de velocidade de germinação subiu de 1,34 (testemunha) para 2,72 (imersão em água por 9 dias), indicando uma alta resposta ao tratamento nas condições fisiológicas em que o lote se encontrava. É possível que a baixa qualidade do lote de sementes utilizado tenha contribuído para que houvesse uma maior expressão dos efeitos dos tratamentos.

TABELA 5: Resumo da análise de variância relativa ao índice de velocidade de germinação em substrato de papel em função dos tempos e métodos de condicionamento fisiológico. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Causa de variação	G.L.	Quadrado médio
Tratamento	9	0,6625**
Bloco	3	0,0178
Resíduo	27	0,0436
Média geral		2,15
C.V. (%)		9,71

**Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste "F".

Em relação aos métodos, foi verificado que os tratamentos em imersão em água nos tempos de 9 e 6 dias, resultaram nas maiores percentagens de

germinação desde a segunda contagem aos 15 dias, até a última aos 30 dias, o que resultou ao final das avaliações nos maiores índices de velocidade de germinação. Por outro lado a imersão na solução de PEG por 3 e 9 dias proporcionaram os menores IVG. Esse resultado provavelmente foi devido a permanência de resíduos do soluto, não eliminados totalmente durante o processo de lavagem das sementes, os quais podem ter limitado a absorção de oxigênio durante a germinação. De acordo com Heydecker e Coolbear (1977) a limitação da entrada de oxigênio na semente, constitui um dos fatores que influenciam negativamente nos resultados do condicionamento fisiológico. Foi observado, que as sementes que receberam os tratamentos de imersão em solução de PEG apresentavam coloração mais escura em relação as sementes dos demais tratamentos.

TABELA 6: Teste de Duncan para os índices de velocidade de germinação das sementes em substrato de papel. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Tratamentos	(IVG)
Imersão em água por 9 dias	2,72 a
Imersão em água por 6 dias	2,65 a
Condicionamento em papel 3 dias	2,44 ab
Imersão em água 3 dias	2,29 bc
Condicionamento em papel 6 dias	2,21 bcd
Imersão em sol. PEG 6 dias	2,06 cd
Condicionamento em papel 9 dias	1,95 d
Imersão em sol. PEG 3 dias	1,95 d
Imersão em sol. PEG 9 dias	1,90 d
Testemunha	1,34 e

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de significância.

Apesar do bom desempenho germinativo das sementes imersas em água, cabe ressaltar que de acordo com Powell e Matthews (1978) embora não haja

interferência de produtos químicos, há o risco de danos causados pela embebição muito rápida. Apesar disso, observou-se que os dois tratamentos que resultaram nos maiores índices (imersão em água por 9 e 6 dias) foram também os que apresentaram as maiores percentagens de umidade ao término do condicionamento. Por outro lado não parece ser correto atribuir os efeitos destes tratamentos apenas ao nível de hidratação, visto que o condicionamento em papel por 3 dias apresentou tendência de igualar-se ao resultado da imersão em água por 6 dias, mesmo apresentando um grau de umidade muito inferior.

É importante lembrar que em decorrência das características das sementes de cafeeiro, os tempos de condicionamento utilizados foram relativamente longos quando comparado a trabalhos com outras espécies. Para sementes de soja por exemplo, Giúdice (1996) determinou que uma boa condição para o condicionamento osmótico é o uso do polietileno glicol (PEG 6000) a um potencial de $-0,8$ MPa no período de 4 dias.

5.1.3 Índice de velocidade de emergência em canteiro

Analisando a Tabela 7, é possível observar que da mesma forma que foi visto na avaliação anterior, houve efeito altamente significativo ao nível indicado pelo teste “F” para os tratamentos. Na avaliação do índice de velocidade de emergência em canteiro, os maiores índices foram observados para a imersão em solução de PEG por 9 e 6 dias (Tabela 8).

Assim como discutido no item 5.1.2, é provável que em função das regas diárias e chuvas durante a condução do teste, tenham sido eliminados os resíduos de PEG, o que possibilitou que esses tratamentos expressassem realmente os ganhos adquiridos em decorrência do condicionamento osmótico. Segundo Khan

et al. (1978) uma das explicações para o mecanismo de condicionamento osmótico é a mobilização de materiais de reserva como açúcares, lipídios e proteínas através da síntese-de-novo de enzimas chaves do metabolismo. Por outro lado, Knypl e Khan (1981) destacam além desta última hipótese, a recuperação da integridade do sistema da membranas.

TABELA 7: Resumo da análise de variância relativa ao índice de velocidade de emergência em canteiro em função dos tempos e métodos de condicionamento fisiológico. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Causa de variação	G.L.	Quadrado médio
Tratamento	9	1,3721**
Bloco	3	0,1122
Resíduo	27	0,0834
Média geral		1,14
C.V. (%)		25,418

*Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Os dados contidos na Tabela 8 indicam que o tempo de 3 dias resultou nos menores índices de velocidade de emergência, independente do método de condicionamento, levando a crer que para o envigoramento de sementes de cafeeiro este período de tratamento é relativamente curto.

Um aspecto muito importante abordado por diversos pesquisadores que por sua vez pode estar relacionado aos resultados obtidos neste trabalho refere-se a maior resistência a condições de estresse (especialmente baixas temperaturas) durante a germinação decorrentes do condicionamento fisiológico, tendo-se comprovado este benefício em sementes de diferentes espécies: em sementes de soja osmocondicionadas com PEG 6000 por 4 a 8 dias a temperatura de 15°C (Knypl e Khan, 1981), sementes de alface osmocondicionadas com manitol a -8,4 atm por 4 dias a 20°C (Eira, 1988), sementes de milho doce imersas em água a

25°C por 36 horas (Gomes, 1997). Considerando que o semeio das sementes no canteiro foi realizado no início do inverno, é possível que as condições ambientais tenham influenciado nos resultados.

TABELA 8: Teste de Duncan para os índices de velocidade de emergência em canteiro. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Tratamentos	(IVE)
Imersão em sol. PEG 9 dias	2,09 a
Imersão em sol. PEG 6 dias	1,87 ab
Condicionamento em papel 6 dias	1,60 bc
Imersão em água por 9 dias	1,23 cd
Imersão em água por 6 dias	1,15 de
Condicionamento em papel 9 dias	1,11 de
Condicionamento em papel 3 dias	0,82 def
Imersão em água 3 dias	0,74 efg
Imersão em sol. PEG 3 dias	0,41 fg
Testemunha	0,34 g

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de significância.

5.1.4 Teste de germinação aos 15 e 30 dias

Através da análise de variância apresentada na Tabela 5 foi verificado que os efeitos provocados pelos fatores tratamento e contagem, bem como a interação entre estes sobre a germinação das sementes de café foram altamente significativos.

A semelhança do que foi detectado para o teste de velocidade de germinação, na avaliação da percentagem de germinação aos 15 e 30 dias, os mais altos índices de germinações foram verificados para os tratamentos em imersão em água (Tabela 9). A imersão das sementes em água destilada por 9 dias foi melhor em relação ao tempo de 6 dias, que por sua vez também foi

superior quando comparada a média observada no tempo de 3 dias, muito embora pelo teste de Duncan as médias sejam iguais entre si, revelando apenas a tendência de superioridade com o aumento do tempo de imersão.

Em relação aos tratamentos em imersão em solução de polietileno glicol (PEG 8000), observou-se que nos tempos de 3 e 6 dias as médias de germinação aos 30 dias foram iguais, apresentando a tendência de igualarem-se aos tratamentos em imersão em água. Os mais baixos índices de germinações aos 30 dias foram proporcionados pelos tratamentos de condicionamento em papel, no período de 9 e 3 dias, apresentando esses, um ganho em relação a testemunha de apenas 7 e 11% respectivamente.

TABELA 9: Teste de Duncan para a percentagem de germinação aos 15 e 30 dias, em função dos tempos e métodos de condicionamento fisiológico. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Contagem aos 15 dias		Contagem aos 30 dias	
Tratamento	Germinação (%)	Tratamento	Germinação (%)
Imersão água 6 d.	32,16 a	Imersão água 9 d.	72,52 a
Imersão água 9 d.	29,92 ab	Imersão água 6 d.	71,27 ab
Imersão PEG 3 d.	29,46 abc	Imersão água 3 d.	68,69 abc
Imersão PEG 6 d.	28,71 abc	Imersão PEG 3 d.	68,59 abc
Condic. papel 6 d.	26,21 abcd	Imersão PEG 6 d.	62,34 abcd
Imersão água 3 d.	24,17 bcd	Condic.papel 6 d.	60,95 bcd
Condic. papel 9 d.	23,11 bcd	Imersão PEG 9 d.	59,52 cd
Condic. papel 3 d.	22,42 cd	Condic.papel 3 d.	57,28 d
Imersão PEG 9 d.	20,89 d	Condic.papel 9 d.	53,00 de
Testemunha	13,96 e	Testemunha	45,87 e

Médias na coluna seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5% de significância.

5.2 Experimento II: Efeito de potenciais hídricos e tempos de condicionamento sobre a qualidade fisiológica e padrões proteicos e enzimáticos de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.).

5.2.1 Grau de umidade das sementes

Verifica-se pela Tabela 10 que para a característica percentagem de umidade das sementes, houve efeito significativo pelo teste "F" ao nível de 1% para o tempo de condicionamento, potencial hídrico e para a interação.

Observa-se na Figura 3 que a variação da umidade das sementes em função do tempo de condicionamento, ajustou-se a equações de regressão quadrática em todos os potenciais hídricos a que foram submetidas. Nota-se que a imersão em água destilada resultou nos maiores teores de água desde o início das avaliações, como deveria-se esperar, em função da ausência de restrição da embebição pelo potencial hídrico do meio.

TABELA 10: Resumo da análise de variância relativa a percentagem de umidade das sementes em função do potencial hídrico e do tempo de embebição. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Causa de variação	GL	Quadrado Médio
Potencial hídrico (P)	4	183,79454**
Resíduo (a)	5	0,01042
Tempo de condicionamento (TC)	3	87,91484**
P x TC	12	1,96026**
Resíduo (b)	15	0,03954
Média Geral		50,51875
C.V. (A) (%)		0,20203
C.V. (B) (%)		0,39363

** significativo ao nível de 1% de significância pelo teste de "F".

Através da avaliação das curvas de embebições sob diferentes potenciais hídricos, é possível notar claramente a influência efetiva imposta pelas concentrações crescentes das soluções de polietileno glicol (PEG 6000) na absorção de água pelas sementes (Figura 3). A percentagem de umidade foi maior no potencial 0 (água), diminuindo com a redução do potencial osmótico, concordando assim com observações de Reddy e Veeranjaeyulu, 1990; Bujalski et al., 1991 e 1992; Hardegree e Emmerich, 1992; Tarquis e Bradford, 1992 citados por Cordoba et al. (1995a) em outras espécies.

Por outro lado, Eira (1988) afirma que a velocidade de embebição não depende somente do potencial osmótico da solução, mas também das propriedades desta como por exemplo sua viscosidade. A absorção de água pelas sementes é caracterizada como sendo um processo altamente condicionado a propriedades físico-químicas, controlada pelas propriedades da água. Desta forma, a embebição está relacionada com as propriedades dos colóides, sofrendo influência das condições ambientais e da composição do solvente que afeta a velocidade do processo (Labouriau, 1983).

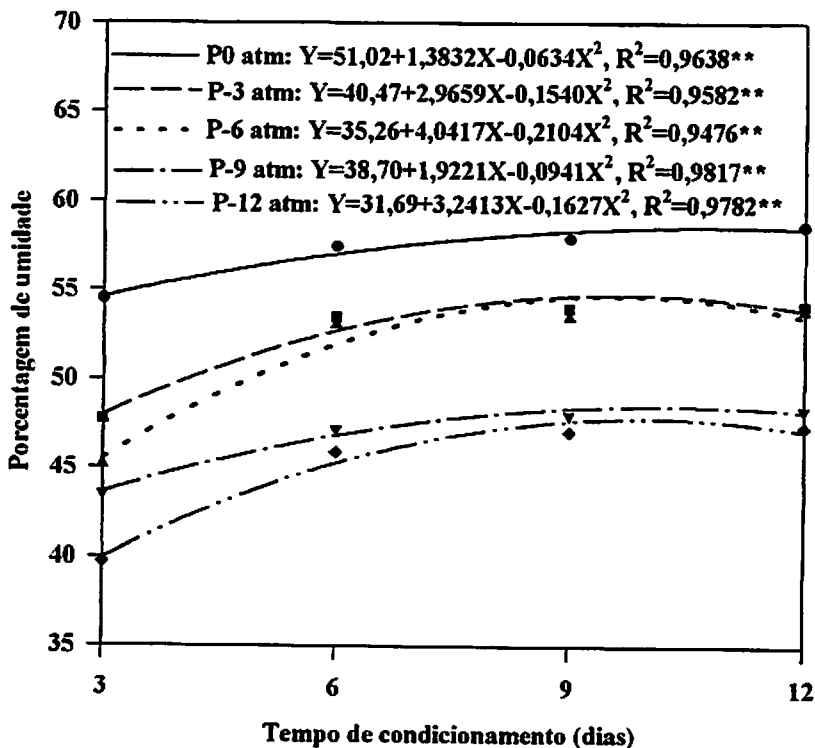


FIGURA 3: Efeito de potenciais hídricos e tempos de condicionamento na absorção de água por sementes de cafeeiro. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Ao comparar os ganhos de umidade observados na curva de embebição (Figura 2) do capítulo II com a Figura 3, constata-se que no presente trabalho, para os mesmos tempos de embebição, os teores de água são sensivelmente maiores. É provável que a imersão direta das semente em água constitua um meio mais favorável a absorção de água em relação ao papel toalha, concordando com

a observação relatada por Eira (1988), de que a velocidade de embebição também depende da área de contato entre a semente e a solução.

Foi observado ainda que não ocorreu protusão de radícula em nenhuma semente mesmo tendo atingido um grau de umidade superior aquele observado por Lima et al. (1997) e no experimento II do capítulo I (Figura 2) por ocasião da emissão da radícula. É possível que a falta de oxigenação adequada e a diferença de temperatura de 25°C para 30°C utilizada no estudo da curva de embebição possam estar relacionados ao impedimento à protusão de radícula.

TABELA 11: Estudo das equações de regressão, destacando o tempo na umidade máxima, a umidade máxima e o teor de água das sementes nos diferentes potenciais hídricos em relação ao condicionamento em água destilada. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Potencial osmótico	Tempo na umidade máxima (dias)	Umidade máxima (%)	Umidade aos 10,90* dias (%)
P 0	10,90	58,56	58,56
P -3	9,62	54,76	54,50
P -6	9,60	54,66	54,31
P -9	10,21	48,52	48,47
P -12	9,96	47,83	47,68

*Tempo no qual as sementes imersas em água atingiram a umidade máxima.

Observa-se na tabela 11 que a umidade máxima atingida pelas sementes dentro da faixa de tempo estudada foi menor a medida que a concentração das soluções de polietileno glicol (PEG 6000) foi aumentada.

5.2.2. Percentagem de germinação

Analisando a Tabela 12, onde é apresentado o resumo da análise de variância relativa a percentagem de germinação para os tratamentos testados, pode-se destacar o efeito não significativo para a interação entre os fatores tempo de condicionamento e potencial hídrico, os quais por sua vez, foram significativos aos níveis indicados quando avaliados independentemente. Por outro lado, a interação entre os fatores tempo de condicionamento, potencial hídrico e contagem, bem como da testemunha com a interação entre os demais fatores foram significativas ao nível de 1%.

TABELA 12: Resumo da análise de variância para a percentagem de germinação de sementes de cafeeiro em função do potencial hídrico e do tempo de condicionamento. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Causa de variação	GL	Quadrado Médio
Potencial hídrico (P)	4	1605,48125**
Resíduo (A)	15	19,37750
Tempo de condicionamento (TC)	3	58,31583*
P x TC	12	28,38458
Resíduo (B)	45	17,01083
Contagem (C)	4	81034,11875**
P x C	16	286,95156**
TC x C	12	70,20542**
P x TC x C	48	23,02156**
Testemunha	5	4592,5606**
Resíduo (C)	255	6,39745
Média Geral		71,36190
C.V. (A) (%)		6,16854
C.V. (B) (%)		5,77958
C.V. (C) (%)		3,54435

* Significativo ao nível de 5% de significância pelo teste de "F".

** Significativo ao nível de 1% de significância pelo teste de "F".

Considerando que as contagens das percentagens de germinações tiveram início aos 10 dias após a instalação do teste para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes após o “priming”, a média de germinação independente do tratamento a que foram submetidas foi relativamente alta (71,%) em relação a obtida no experimento I (37,) (Tabela 5). Cabe destacar que além dos efeitos de tratamentos diferentes a que foram submetidas as sementes, para a realização do presente trabalho optou-se por utilizar um lote de melhor qualidade fisiológica em relação ao primeiro.

Na Figura 4 são apresentados os gráficos referentes ao estudo da variação da percentagem de germinação em função das contagens, relativos ao potencial hídrico de cada solução para o tempo de 3 dias de condicionamento. Observa-se que na contagem aos 10 dias, a percentagem de germinação das sementes submetidas a todos os tratamentos de condicionamento fisiológico foram superiores a testemunha (9,0%), com destaque para o tratamento em imersão em água por 3 dias (28,%). Por outro lado, constatou-se que nas avaliações posteriores, as médias de germinação detectada na testemunha manteve-se muito próxima da dos demais tratamentos, sendo que sua germinação máxima foi inferior apenas ao condicionamento em água, embora as diferenças não tenham sido muito expressivas (Tabela 13).

Na Figura 5, observa-se que o tempo de 6 dias de condicionamento proporcionou as mesmas tendências de variação da percentagem de germinação em relação ao tempo de 3 dias, exceto pelo efeito prejudicial mais acentuado que a diminuição do potencial hídrico das soluções ocasionou, reforçando os resultados obtidos com outras espécies em relação aos efeitos do aumento do potencial osmótico das soluções de PEG (Cordoba et al.,1995a; Cordoba et al. 1995b; Braccini et al., 1996; Penariol et al., 1997).

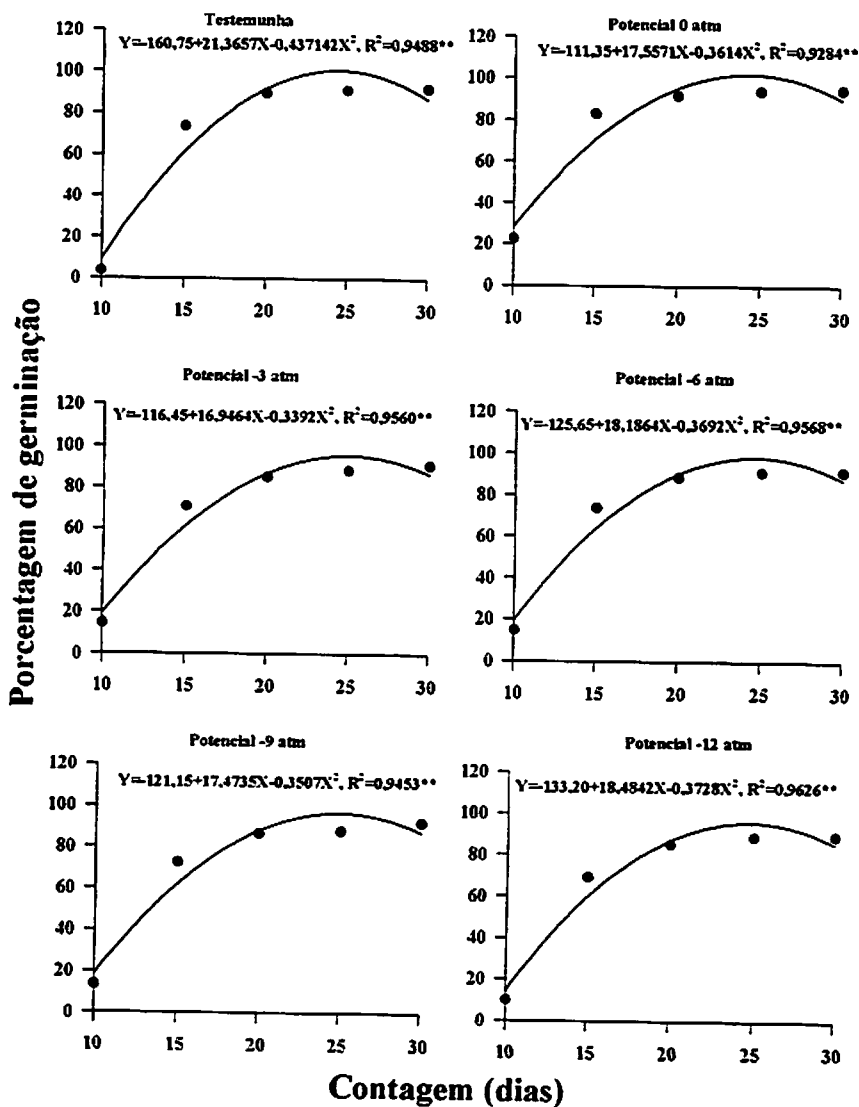


FIGURA 4: Percentagem de germinação em função da interação entre os fatores potencial hídrico e contagem para o tempo de 3 dias de condicionamento fisiológico. UFLA, Lavras-MG, 1998.

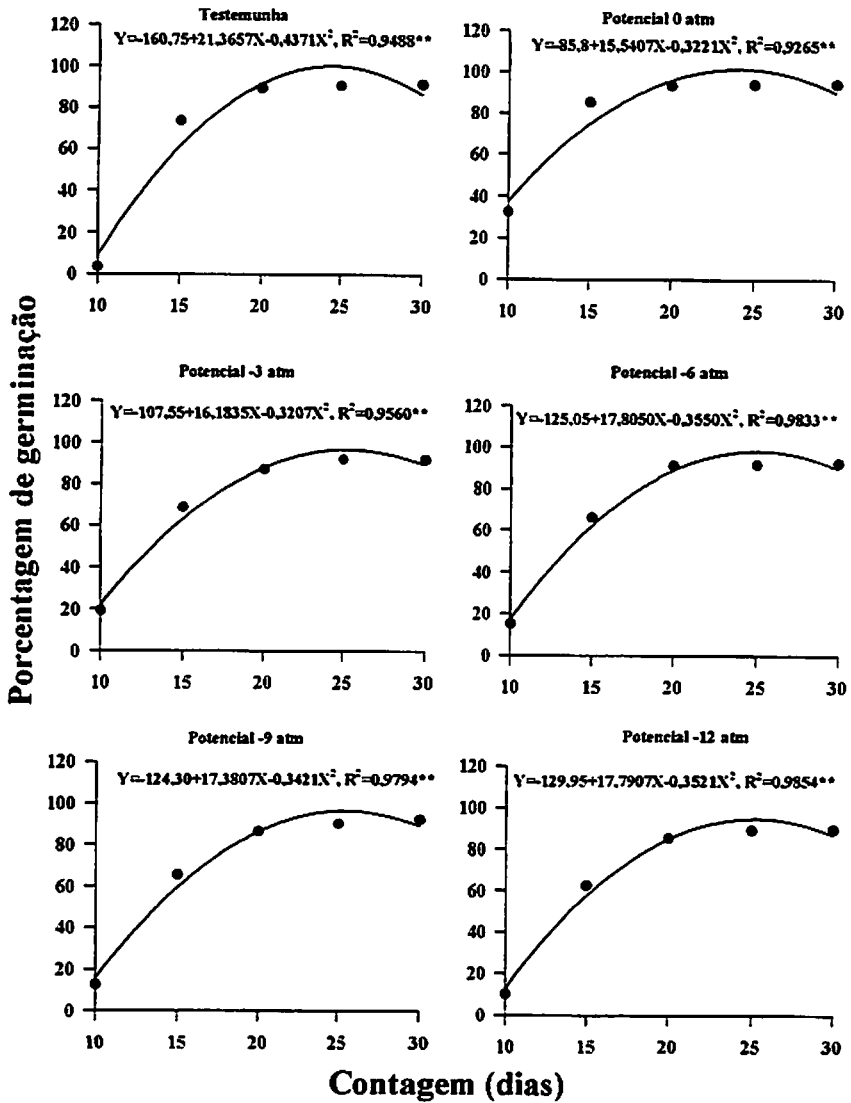


FIGURA 5: Percentagem de germinação em função da interação entre os fatores potencial hídrico e contagem para o tempo de 6 dias de condicionamento fisiológico. UFLA, Lavras-MG, 1998.

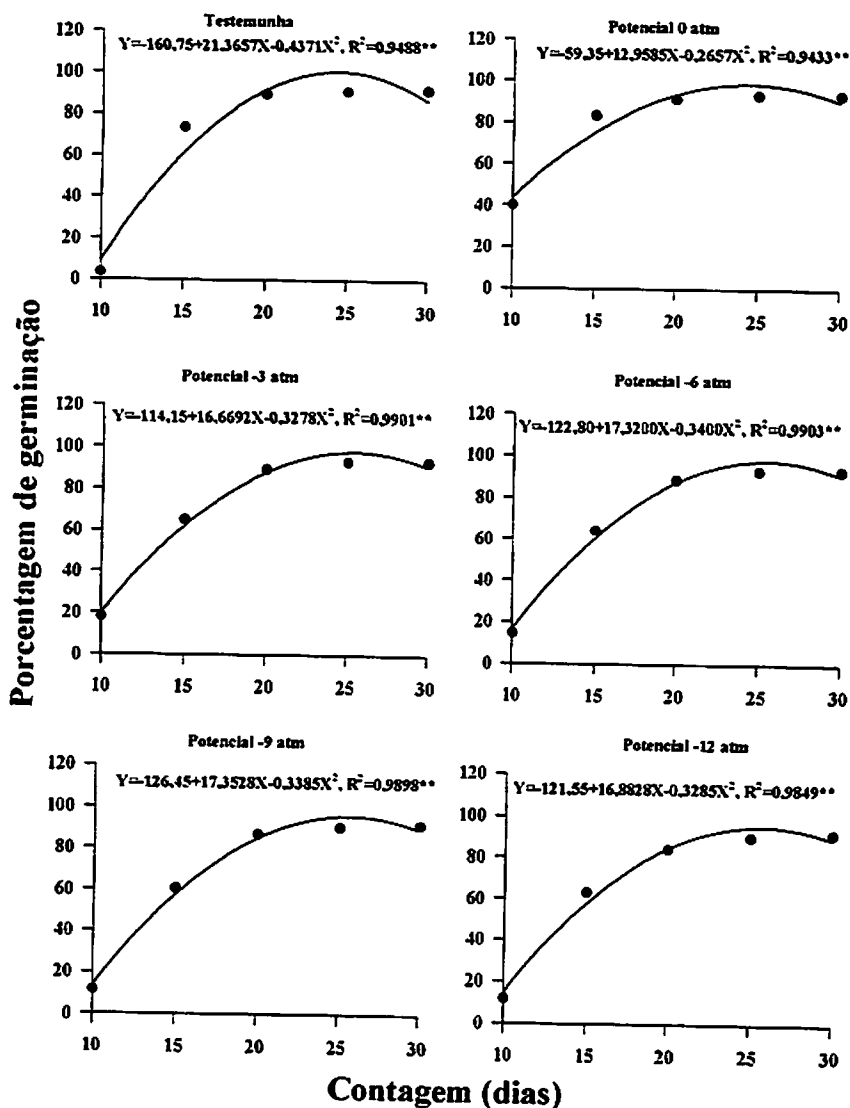
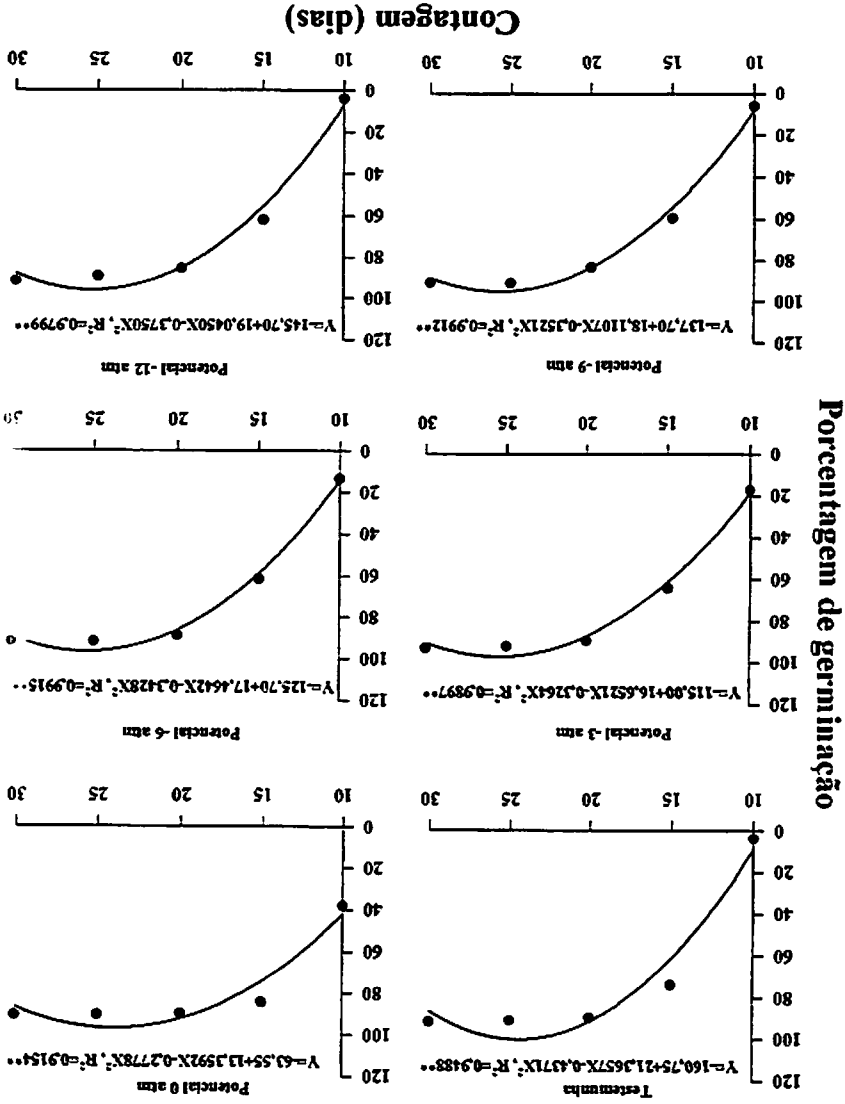


FIGURA 6: Percentagem de germinação em função da interação entre os fatores potencial hídrico e contagem para o tempo de 9 dias de condicionamento fisiológico. UFLA, Lavras-MG, 1998.

FIGURA 7: Percentagem de germinação em função da interação entre os fatores potencial hídrico e contagem para o tempo de 12 dias de condicionamento fisiológico. UFLA, Lavras-MG, 1998.



No tempo de 9 dias de condicionamento (Figura 6), a percentagem de germinação foi sensivelmente prejudicada em todos os potenciais hídricos, sendo seus efeitos tanto mais drásticos quanto maior a concentração da solução. Também para o tempo de 12 dias foi constatado que a germinação máxima das sementes foi prejudicada pelos tratamentos de condicionamento fisiológico (Tabela 13).

TABELA 13: Resumo dos pontos de tempo na contagem máxima e germinação máxima para os tratamentos de condicionamento fisiológico. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Tempo de condicionamento (dias)	Potencial hídrico (atm)	Contagem máxima (dias)*	Germinação máxima (%)*
3	0	24,29	100
	-3	24,98	93
	-6	24,62	97
	-9	24,91	95
	-12	24,79	94
6	0	24,12	100
	-3	24,23	95
	-6	24,07	96
	-9	25,40	95
	-12	25,26	93
9	0	24,38	97
	-3	25,42	96
	-6	25,47	96
	-9	25,63	94
	-12	25,69	94
12	0	24,04	95
	-3	25,51	96
	-6	25,47	95
	-9	25,72	93
	-12	25,39	94
Testemunha		24,44	98

* Valores médios estimados segundo as curvas de análise de regressão.

5.2.3 Percentagem de plântulas com raízes secundárias

Assim como observado na avaliação da percentagem de germinação, houve também efeito significativo da interação entre os fatores potencial hídrico, tempo de condicionamento e contagem para a percentagem de plântulas com raízes secundárias e que em média os tratamentos do fatorial diferiram da testemunha (Tabela 14).

TABELA 14: Resumo da análise de variância relativa a percentagem de plântulas com raízes secundárias aos 20 e 30 dias após a instalação do teste, em função dos tratamentos de condicionamento fisiológico. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Causa de variação	GL	Quadrado Médio
Potencial hídrico (P)	4	1472,24062**
Resíduo (A)	15	19,11042
Tempo de condicionamento (TC)	3	6444,43958**
P x TC	12	57,21563**
Resíduo (B)	45	15,31597
Contagem (C)	1	74261,30625**
P x C	4	420,25938**
TC x C	3	2956,35625**
P x TC x C	12	27,35104**
Testemunha	2	1365,55360**
Resíduo (C)	255	12,38446
Média Geral		61,63690
C.V. (A) (%)		7,09241
C.V. (B) (%)		6,34938
C.V. (C) (%)		5,70949

** Significativo ao nível de 1% de significância pelo teste "F".

Foi verificado que independente do tempo de imersão das sementes em água e nas soluções osmoticamente ativas, a percentagem de plântulas com raízes secundárias diminuiu com o aumento da concentração das soluções, sendo que a

equação de regressão linear foi significativa ao nível de 1%, mostrando uma linear decrescente para ambas as avaliações em todos tempos de condicionamento (Figura 8). Nota-se também pela Figura 9 que a percentagem média de plântulas com raízes secundárias foi maior na avaliação aos 30 dias em relação a primeira efetuada aos 20 dias.

Na avaliação realizada aos 30 dias, as mais altas percentagens de plântulas com raízes secundárias foram constatadas nos tratamentos em imersão em água por 3 dias (91,0%) e 6 dias (88,0%) além da imersão em solução de PEG a -3 atm por 3 dias (88,7%), enquanto na testemunha a média foi de 87,25%. Nos demais tratamentos observou-se que os efeitos foram prejudiciais a emissão de raízes secundárias, principalmente no potencial hídrico de -12 atm.

Jackson (1962) cita a ocorrência da inibição do crescimento de pelos absorventes decorrentes do uso do polietileno glicol, embora tenha se referido ao uso de PEG com maior peso molecular. De acordo com Heydecker e Coolbear (1977) um dos fatores que mais comumente interferem no condicionamento fisiológico de sementes é a manutenção do nível adequado de oxigênio. É possível então que a menor disponibilidade de oxigênio imposta pelas soluções de PEG mais concentradas tenha promovido efeitos negativos sobre a qualidade fisiológica destas.

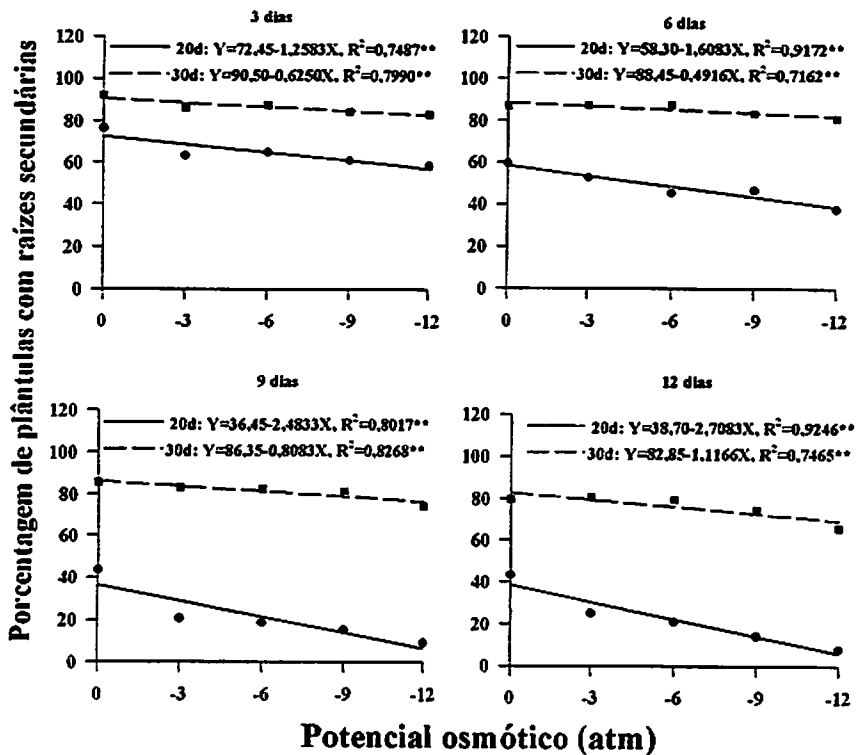


FIGURA 8: Percentagem de plântulas com raízes secundárias em função do potencial hídrico das soluções, nos tempos de 3, 6, 9 e 12 dias de condicionamento. UFLA, Lavras-MG, 1998.

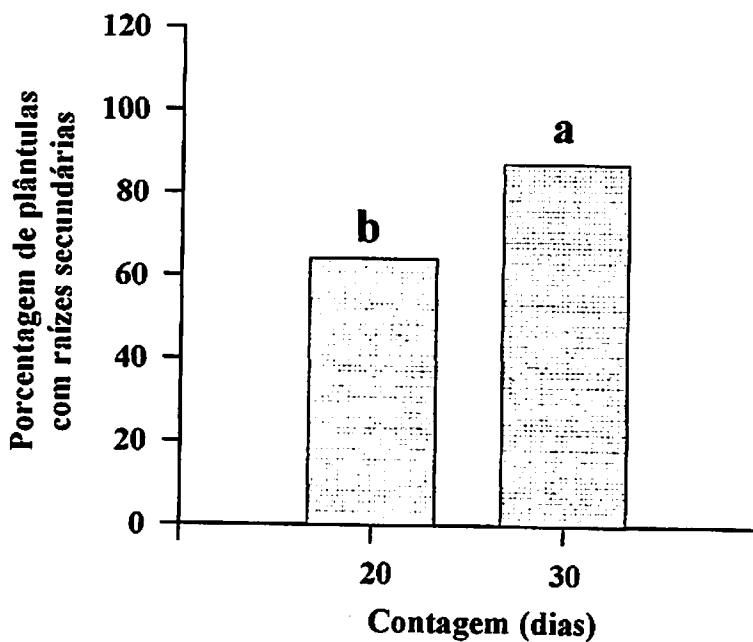


FIGURA 9: Percentagem de plântulas com raízes secundárias em função dos tratamentos de condicionamento fisiológico aos 20 e 30 dias após a instalação do teste de avaliação da qualidade fisiológica das sementes. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Para Bewley e Black (1982) e Dietrich (1986) a maior ação do oxigênio a nível de embrião, pode evitar que substâncias fenólicas atuem negativamente nos processos de alongação celular das raízes.

5.2.4 Peso de matéria seca do sistema radicular

Pela Tabela 15, nota-se que o condicionamento fisiológico das sementes de cafeeiro a diferentes tempos e potenciais hídricos da solução, alterou significativamente o peso de matéria seca do sistema radicular aos 30 dias após a instalação do teste, revelando entretanto a independência entre estes fatores para o parâmetro avaliado. Pode-se observar também que houve alta significância para a testemunha em comparação com os demais tratamentos.

TABELA 15: Resumo da análise de variância relativa ao peso da matéria seca do sistema radicular, em função dos tratamentos de condicionamento fisiológico. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Causa de variação	GL	Quadrado Médio
Potencial hídrico (P)	4	0,35783**
Resíduo (A)	15	0,00455
Tempo de condicionamento (TC)	3	1,68999**
P x TC	12	0,00627
Testemunha	1	0,16860**
Resíduo (B)	49	0,00931
Média Geral		61,63690
C.V. (A) (%)		7,09241
C.V. (B) (%)		6,34938

** Significativo ao nível de 1% de significância pelo teste "F".

Foi verificado que para a característica peso de matéria seca do sistema radicular a regressão linear foi significativa ao nível de 1% tanto para a variação do potencial hídrico (Figura 10) como para o tempo de condicionamento (Figura 11), mostrando nos dois casos uma linear descendente. Com relação ao potencial hídrico, a análise revelou um efeito negativo sobre o peso da matéria seca do sistema radicular, enquanto que a imersão em água praticamente não exerceu nenhum efeito sobre a característica estudada. A imersão em solução de PEG a

-12 atm resultou no mais baixo peso de matéria seca do sistema radicular (1,27g), apresentando em relação a testemunha, uma diminuição de 0,40g. O mais alto peso médio de matéria seca foi observado no tempo de 3 dias de condicionamento (1,80g).

Em diversos trabalhos, optou-se por utilizar o peso seco de toda plântula ou da planta como forma de avaliar os efeitos do “priming”. Braccini et al. (1996) também observou que o decréscimo nos níveis de potencial osmótico provocou redução acentuada no peso de matéria seca das plântulas em função da qualidade fisiológica inicial da semente. Por outro lado, Paes et al. (1997) estudando os efeitos de diferentes solutos na germinação e vigor de sementes de guar (*Cyamopsis tetragonoloba* L.) verificaram que os efeitos tóxicos provocados pela absorção de íons foi mais prejudicial que os efeitos provocados pelos níveis de potenciais osmóticos. Com relação ao polietileno glicol, esta hipótese pode ser praticamente descartada, pois de acordo com Steuter et al. (1981), o PEG além de não ser iônico, não penetra nas células.

5.2.5 Percentagem de plântulas no estágio de “palito de fósforo”

Os resultados da análise de variância para este parâmetro não detectaram significância para a interação entre os fatores tempo de imersão e potencial hídrico, os quais por sua vez tiveram significância ao nível indicado pelo teste “F”. Observou-se também que em média, os tratamentos de “priming” não diferiram da testemunha (Tabela 16).

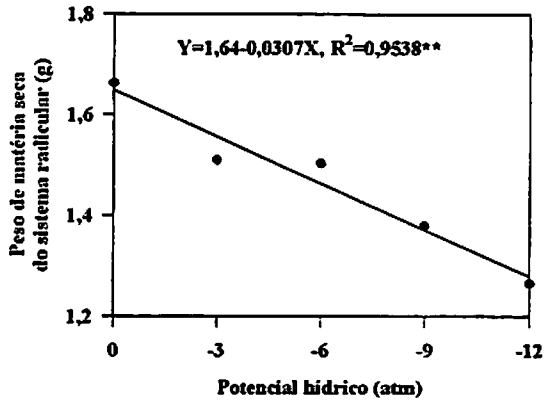


FIGURA 10: Peso de matéria seca do sistema radicular de plântulas de café em função do potencial hídrico das soluções de condicionamento fisiológico. UFLA, Lavras-MG, 1998.

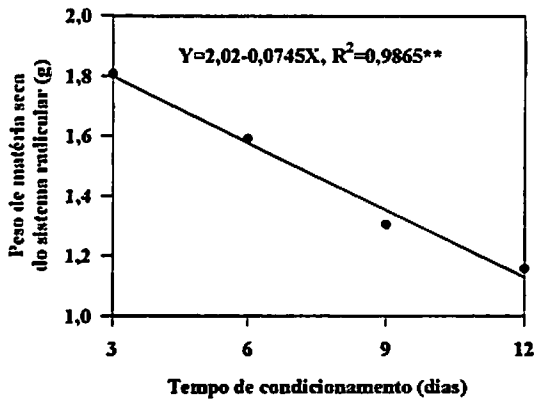


FIGURA 11: Peso de matéria seca do sistema radicular de plântulas de café em função do tempo de imersão nas soluções de condicionamento fisiológico. UFLA, Lavras-MG, 1998.

TABELA 16: Resumo da análise de variância relativa a percentagem de plântulas no estádio de “palito de fósforo” aos 60 dias após a instalação do teste. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Causa de variação	GL	Quadrado Médio
Potencial hídrico (P)	4	528,6811*
Bloco	3	82,8003
Resíduo (A)	12	110,4380
Tempo de condicionamento (TC)	3	4584,0497**
Resíduo (B)	9	100,1871
P x TC	12	76,,9155
Testemunha	1	46,5467
Resíduo (C)	36	95,2050
Média Geral		73,7540
C.V. (A) (%)		14,25
C.V. (B) (%)		13,57
C.V. (C) (%)		13,23

* Significativo ao nível de 5% de significância pelo teste de “F”.

** Significativo ao nível de 1% de significância pelo teste de “F”.

Pela Figura 12 verifica-se que para os níveis de potenciais hídricos estudados, a equação de regressão linear foi significativa ao nível de 1%, mostrando uma linear decrescente. A imersão das sementes em água promoveu um aumento de aproximadamente 3,6 % em relação a testemunha (77,10), sendo que a partir do potencial hídrico de -3 atm a percentagem de plântulas no estádio de palito de fósforo foi prejudicada pela concentração das soluções de PEG. Por outro lado, Guimarães (1995) determinou que para acelerar o processo germinativo de sementes de cafeeiro, estas devem ter o endocarpo retirado e não devem sofrer nenhum tipo de imersão.

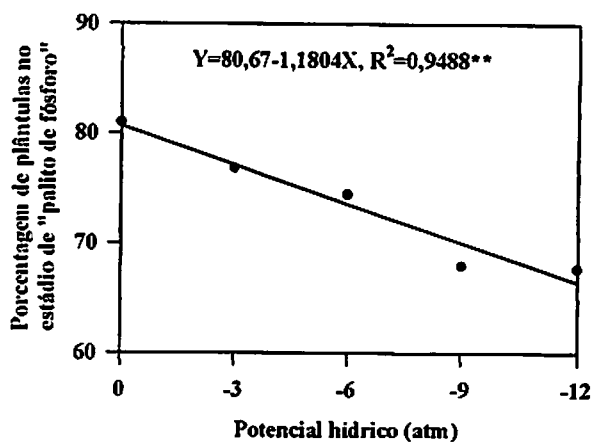


FIGURA 12: Percentagem de plântulas de café no estágio de “palito de fósforo” em função dos potenciais hídricos das soluções de condicionamento fisiológico. UFLA, Lavras-MG, 1998.

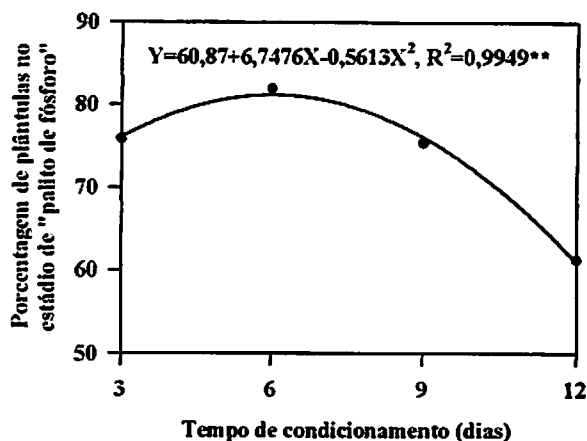


FIGURA 13: Percentagem de plântulas de café no estágio de “palito de fósforo” em função dos tempos de imersão nas soluções de condicionamento fisiológico. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Em relação ao tempo de imersão nota-se que a equação de regressão quadrática foi significativa ao nível de 1 %, tendo como ponto de máxima o tempo de 6 dias de imersão, quando a percentagem de plântulas no estágio de “palito de fósforo” foi de 81,0 % (Figura 13). Mesmo tendo verificado que em média os tratamentos não tenham diferido da testemunha, cabe destacar que a imersão em água por 6 dias destacou-se dos demais tratamentos, confirmando os resultados obtidos no experimento I (Tabela 6) e no presente experimento (Tabela 13), na avaliação da germinação em substrato de papel.

5.2.6 Percentagem de plântulas no estágio de “orelha de onça”.

De acordo com Carvalho (1993) o estágio de “orelha de onça” corresponde ao final do desenvolvimento e liberação das folhas cotiledonares, antes da formação dos primeiros pares de folhas verdadeiras. Quanto aos resultados da avaliação referente a percentagem de plântulas no estágio de “orelha de onça”, estes indicaram que a interação entre os fatores potencial hídrico e tempo de condicionamento não foi significativa, os quais por sua vez apresentaram alta significância isoladamente. A Tabela 17 mostra também que em média os tratamentos de condicionamento fisiológico não diferiram da testemunha.

As figuras 14 e 15 indicam que para a característica avaliada, a regressão linear foi significativa ao nível de 1 % para os níveis de potenciais hídricos e tempos de condicionamentos, mostrando uma linear decrescente em ambos os casos.

TABELA 17: Resumo da análise de variância relativa a percentagem de plântulas no estádio de “orelha de onça” aos 90 dias após a instalação do teste. UFLA, Lavras-MG, 1998.

Causa de variação	GL	Quadrado Médio
Potencial hídrico (P)	4	547,9214*
Bloco	3	73,1171
Resíduo (A)	12	42,6452
Tempo de condicionamento (TC)	3	5247,7686**
Resíduo (B)	9	65,6120
P x TC	12	55,4320
Testemunha	1	146,2787
Resíduo (C)	36	54,3705
Média Geral		23,2584
C.V. (A) (%)		28,08
C.V. (B) (%)		34,83
C.V. (C) (%)		31,70

* Significativo ao nível de 5% pelo teste “F”.

** Significativo ao nível de 1% pelo teste “F”.

Com relação ao potencial hídrico, observa-se que a imersão em água pura foi o tratamento que apresentou maior percentual, entretanto seu desempenho foi praticamente igual a testemunha (29,0 %). Já para o tempo de condicionamento, independente do potencial hídrico, a média de plântulas no estádio de orelha de onça foi de 42,0 % para o tempo de 3 dias de imersão e de apenas 4,24 % para o tempo de 12 dias, revelando um efeito altamente prejudicial com o aumento do tempo de imersão.

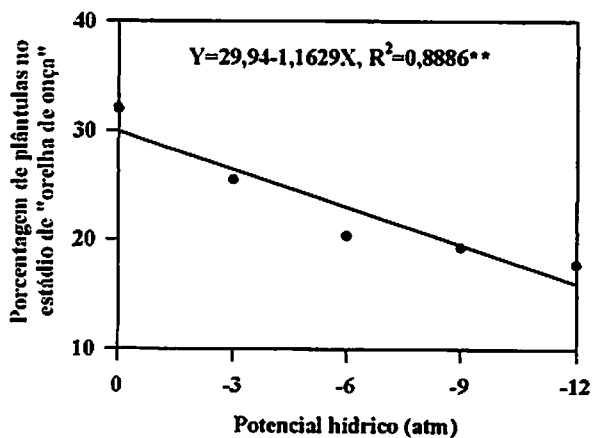


FIGURA 14: Percentagem de plântulas de cafeeiro no estágio de “orelha de onça” em função dos potenciais hídricos das soluções de condicionamento fisiológico. UFLA, Lavras-MG, 1998.

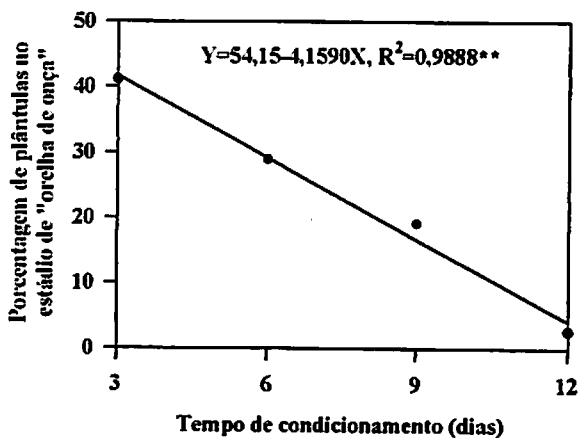


FIGURA 15: Percentagem de plântulas de cafeeiro no estágio de “orelha de onça” em função dos tempos de imersões nas soluções de condicionamento fisiológico. UFLA, Lavras-MG, 1998.

5.2.7 Alterações em padrões eletroforéticos de enzimas e proteína

Os sistemas isoenzimáticos revelaram um aumento no número e intensidade de bandas da enzima álcool desidrogenase com o aumento das concentrações das soluções de PEG (Figuras 16 e 17). A álcool desidrogenase (ADH) atua no metabolismo anaeróbico de plantas, reduzindo o acetaldeído a etanol (Vantoi, Fausey e McDonald, 1987). De acordo com Zang et al. (1994), a produção de acetaldeído durante o armazenamento acelera a deterioração das sementes. Segundo os autores, o acetaldeído teve o maior efeito danoso independente da umidade relativa e temperatura do ambiente de armazenamento, enquanto o etanol causou deterioração de sementes, somente em condição de umidade relativa alta. É provável que a atividade da ADH revelada para a testemunha (semente seca) esteja associada com um provável acúmulo de acetaldeído. Há de se considerar ainda que durante o processamento das sementes após a colheita, foi realizada a degomagem, sendo necessário para isto, que ocorresse a fermentação. Para Miranda, Vieira e Carvalho (1990) os quais estudaram os efeitos danosos provocados pelo etanol e ácido acético durante a degomagem, o controle deste processo, pode contribuir para o melhor armazenamento das sementes de cafeeiro.

Por outro lado, foi observada a diminuição da intensidade de bandas da enzima malato desidrogenase (MDH) (Figura 18 e 19), a qual catalisa a reação do malato à oxaloacetato, tendo importante função no ciclo de Krebs, além de participar do movimento de malato através da membrana mitocondrial e fixação de CO₂ nas plantas (Conn e Stumpf, 1980).

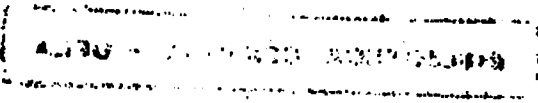
É provável então que o efeito negativo provocado principalmente pelas soluções de PEG mais concentradas sobre a qualidade fisiológica das sementes de cafeeiro esteja também associado ao acúmulo de produtos tóxicos, formados pela

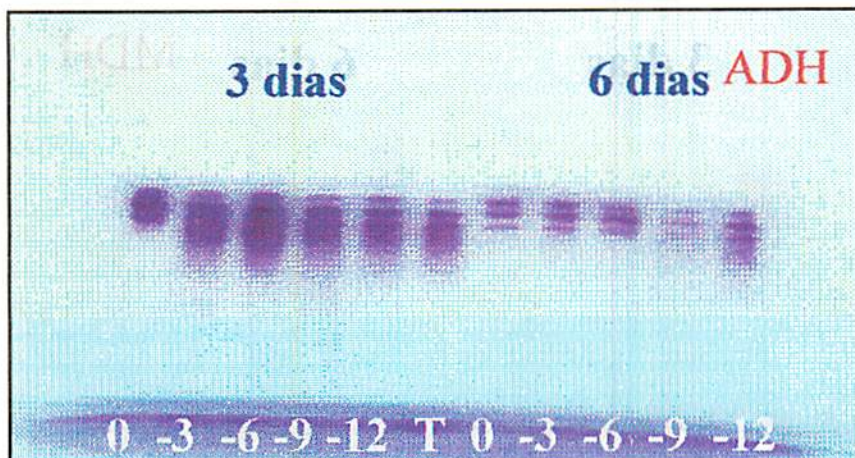
rota anaeróbica e ao consumo de reservas das sementes. A avaliação de proteína total (Figuras 20 e 21) indicou maior intensidade de bandas na testemunha e nas sementes imersas em água (onde há maior disponibilidade de O_2), dando indícios da perda de proteínas de reserva e de proteínas solúveis.

Neste sentido, Alves et al. (1997) destacam que os produtos finais da fermentação (acetaldeído, etanol e ácido lático) são fitotóxicos, acumulam rapidamente e provocam distúrbios na organização celular, podendo levar a célula a morte, além da solubilização de lipídios das membranas citoplasmáticas e das organelas pela ação do etanol. Ainda segundo estes autores, a anoxia causa grande aceleração no consumo de glicose, diminuindo drasticamente a sua disponibilidade para a célula. Em condições anaeróbicas, para a célula produzir a mesma quantidade de energia (ATP) que em condições aeróbicas, há necessidade de aumentar o consumo de glicose, pois a produção de ATP por molécula de glicose metabolizada é baixa (2 ATP/ mol de glicose).

Ao analisarmos os efeitos dos tratamentos no teste de germinação e nas avaliações do vigor, nota-se principalmente, que os efeitos negativos provocados pelo aumento do tempo de condicionamento e da concentração da solução foi mais expressivo sobre o vigor do que sobre a germinação.

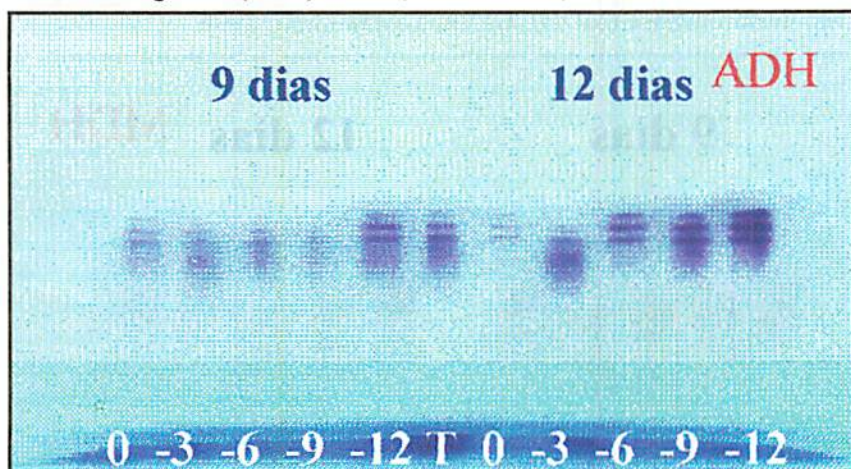
Em uma avaliação geral, pode-se relacionar em parte o melhor desempenho apresentado pelos tratamentos em imersão em água em todos os tempos estudados, a baixa atividade da enzima ADH, a qual atua na respiração anaeróbica, e alta atividade da MDH, indicando que a rota aeróbica de respiração celular foi mais favorecida, implicando no menor consumo de armazenados. Em função do maior tempo de condicionamento exigido para as sementes de cafeeiro em relação a maioria das sementes das espécies já estudadas, ficou evidenciado pelos testes químicos, que os cuidados com o suprimento adequado de oxigênio na


solução de imersão são de grande importância, principalmente quando são utilizados produtos osmoticamente ativos para o controle da hidratação.



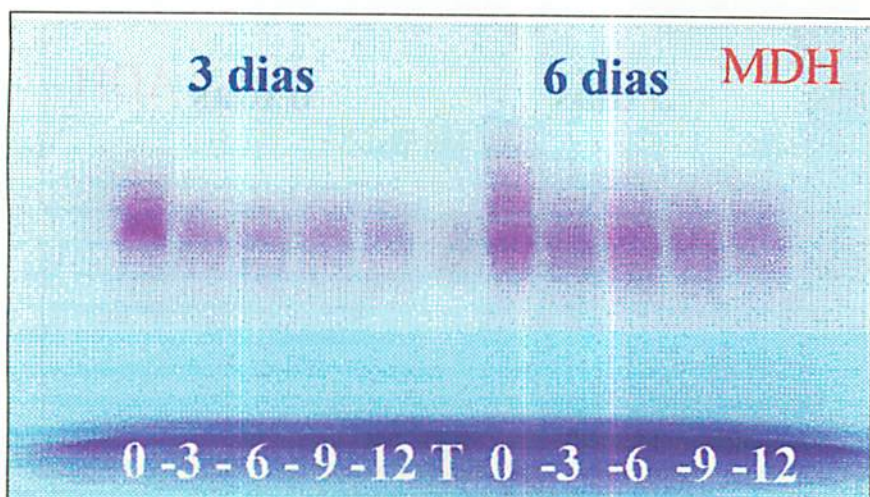
Potencial hídrico (atm)

FIGURA 16. Padrões isoenzimáticos de sementes de cafeeiro, submetidas a diferentes potenciais hídricos nos tempos de 3 e 6 dias, reveladas para álcool desidrogenase (ADH). UFLA, Lavras - MG, 1998.



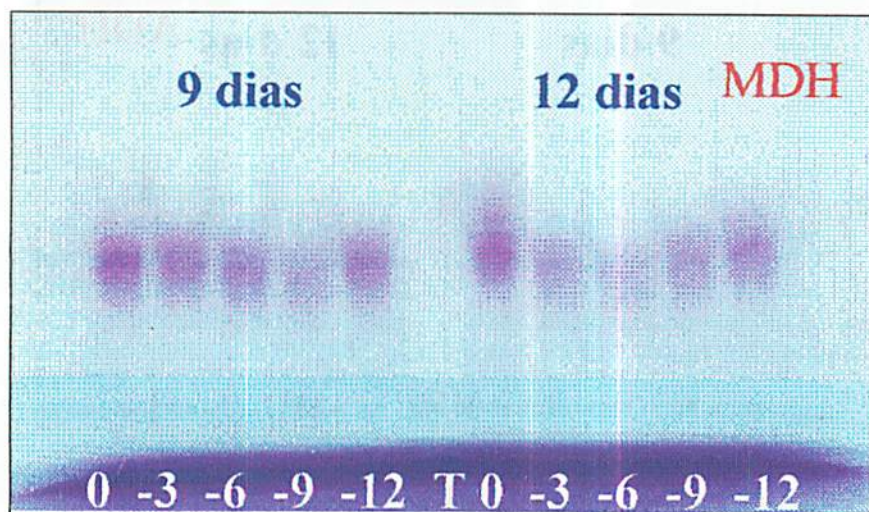
Potencial hídrico (atm)

FIGURA 17. Padrões isoenzimáticos de sementes de cafeeiro, submetidas a diferentes potenciais hídricos nos tempos de 9 e 12 dias, reveladas para álcool desidrogenase (ADH). UFLA, Lavras - MG, 1998.



Potencial hídrico (atm)

FIGURA 18. Padrões isoenzimáticos de sementes de cafeeiro, submetidas a diferentes potenciais hídricos nos tempos de 3 e 6 dias, reveladas para malato desidrogenase (MDH). UFLA, Lavras - MG, 1998.



Potencial hídrico (atm)

FIGURA 19. Padrões isoenzimáticos de sementes de cafeeiro, submetidas a diferentes potenciais hídricos nos tempos de 9 e 12 dias, reveladas para malato desidrogenase (MDH). UFLA, Lavras - MG, 1998.

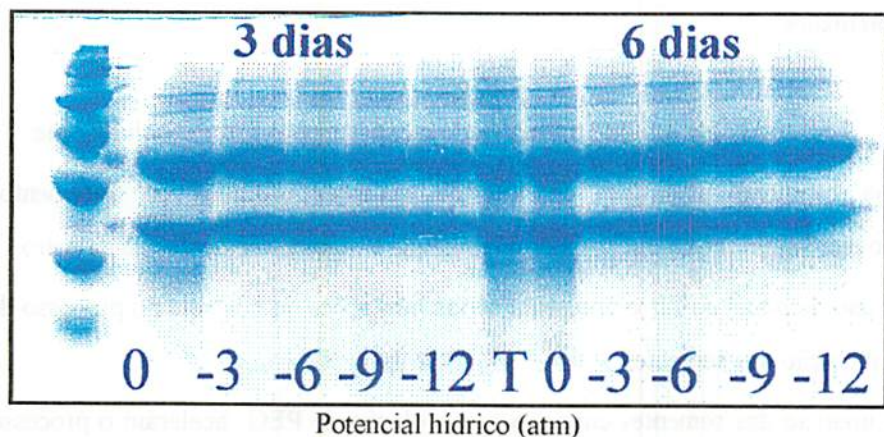


FIGURA 20. Padrões eletroforéticos de proteína total de sementes de cafeeiro submetidas ao condicionamento fisiológico por 3 e 6 dias. UFLA, Lavras - MG, 1998.

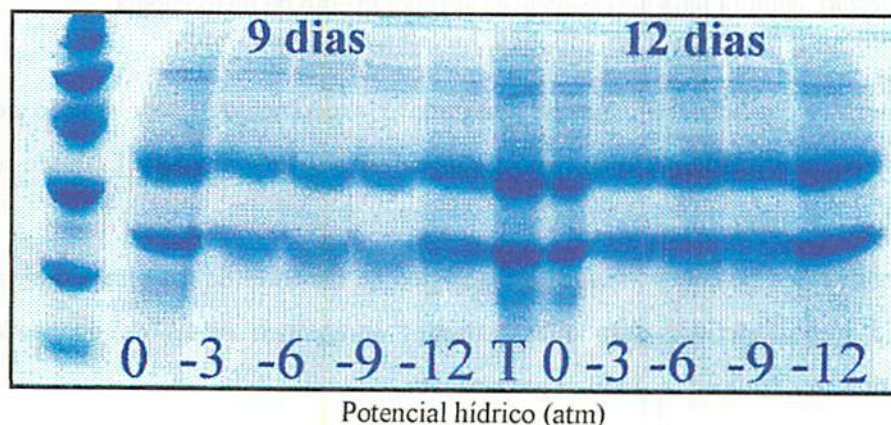


FIGURA 21. Padrões eletroforéticos de proteína total de sementes de cafeeiro submetidas ao condicionamento fisiológico por 9 e 12 dias. UFLA, Lavras - MG, 1998.

6 Conclusões

Nas condições em que foi realizado o experimento I, foi concluído que:

- a) Na condição fisiológica do lote de sementes utilizado os tratamentos promovem significativa melhoria na viabilidade e vigor de sementes de cafeeiro.
- b) O uso do papel de filtro apresenta sérias limitações no controle do processo de embebição das sementes.
- c) A imersão das sementes em água e em solução de PEG aceleram o processo germinativo.
- d) O condicionamento fisiológico mostrou-se promissor para a espécie em questão, embora haja necessidade de aprimoramento da metodologia.

Nas condições em que foi realizado o experimento II, em relação ao condicionamento fisiológico de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) pode-se concluir que:

- a) Os métodos de condicionamento fisiológico de sementes de cafeeiro testados, são menos efetivos quando as sementes apresentam níveis de qualidade fisiológica mais altos (86% de germinação).
- b) Ganhos significativos podem ser obtidos sobre o vigor, proporcionado principalmente pelos tratamentos em imersão em água.
- c) As avaliações eletroforéticas revelam que manifestações bioquímicas não desejáveis podem ocorrer em função do método de condicionamento empregado.

7 Referências bibliográficas

- ALFENAS, A.C.; PETERS, I.; BRUCE, W. PASSADOS, G.C. Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Viçosa: SIF, 1991. 292p.**
- ALVES, J.D.; OLIVEIRA, L.E.M.; GOMIDE, M.B. Apostila de Fisiologia Vegetal; Lavras: UFLA, 1997. 131p. (Apostila - disc. Bio 108).**
- BGAZO, J.C.H.O.; PAULA, J.F. de. Considerações sobre o preparo do café visando a melhoria da qualidade. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.11, n.126, p.76-78, jun.1985.**
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. Seeds: physiology of development and germination. New York: Plenum, 1994. 445p.**
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. Berlin: Springer-Verlag, 1982. v.2, 375p.**
- BRACCINI, A.L.; REIS, M.S.; SEDIYAMA, T.; ROCHA, V.S. Influência do potencial hídrico induzido por soluções de polietileno glicol na qualidade fisiológica de sementes de soja. In: SEMINÁRIO PANAMERICANO DE SEMILLAS, 15, Gramado, 1996. Resumos...Gramado: FELAS, 1996 p.33.**
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para análise de sementes. Brasília, 1992. 365p.**
- CAIXETA, I.F. Maturação fisiológica da semente do cafeeiro cv. Mundo Novo. Lavras: ESAL, 1981. 48p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).**
- CARVALHO, M.M. de; ALVARENGA, G. Cultura do cafeeiro; parte II. Lavras: ESAL, 1993. 50p. (Apostila de Cafeicultura).**
- CARVALHO, M.M.de. Formação de mudas. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.4, n.44, p.14-18, 1978.**

- CONN, E.C.; STUMPF, P.K. **Introdução à Bioquímica**. São Paulo: Edgard Bliicher, 1980. 451p.
- CÓRDOBA, G.A.T.; BORGES, E.E. de L e; BORGES, R. de. C. G.; NEVES, J.C.L. Osmocondicionamento, secagem e armazenamento de sementes de *Eucalyptus hook* e *Eucapypthus grandis* W. Hill (ex. Maiden). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.17, n.1, p.81-85, 1995 a.
- CÓRDOBA, G.A. T.; LIMA, BORGES, E.E.L.; BORGES, R. R..C.G.; NEVES, J.C.L. Osmocondicionamento em sementes de *Esenbeckia leiocarpa* Engel (Guarantã). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.17, n.2, p.217-226, 1995 b.
- DIETRICH, S.M. de. C. Inibidores de crescimento. In: FERRI, M.G. **Fisiologia vegetal**. 2.ed. São Paulo: EPU, 1986, v.2, p.193-212.
- EIRA, M.T.S. **Condicionamento osmótico de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.): Efeitos sobre a germinação e desempenho sob estresse hídrico, salino e térmico**. Piracicaba: ESALQ, 1988. 90p. (Dissertação - Mestrado).
- GIÚDICE, M. P. DEL. **Condicionamento osmótico de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. Viçosa: UFV, 1996. 117p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia).
- GOMES, M.S. CAMARGO, R. de; VIEIRA, M.G.G.C.; CARVALHO, M.L.M. **Condicionamento osmótico de milho doce**. **Informativo Abrates**, Curitiba, v.7, n.1/2, p.186,1997.
- GUIMARÃES, R.J. **Formação de mudas de cafeeiro: (*Coffea arabica* L.): Efeitos de reguladores de crescimento e remoção do pergaminho na germinação de sementes e do uso de N e K em cobertura, no desenvolvimento de mudas**. Lavras: UFLA, 1995. 133p. (Tese - Doutorado em Fitotecnia).
- HARDEGREE, S.P.; EMMERICH, W.E. Effect of polyethylene glycol exclusion on the water potential of solution-saturated filter paper. **Plant Physiology**, New York, v.92, p.462-466, 1990.

- HEYDECKER, W.; COOLBEAR, P. Seed treatments for improved performance; survey and attempted prognosis. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.5, p.353-425, 1977.
- JACKSON, W.T. Use of carbowaxes (polyethylene glycols) as osmotic agents. **Plant Physiology**, Rockville, v.37, n.4, p.513-519, 1962.
- KHAN, A.A.; BRAUM, J.W.; TAO, K.L.; MILLIER, W.F.; BENSIN, R.F. New methods for maintaining seed vigor and improving performance. **Journal of Seed Technology**, Lansing, v.1, n.2, p.33-57, 1976.
- KNYPL, J.S.; KHAN, A.A. Osmoconditioning of soybean seeds to improve performance at suboptimal temperatures. **Agronomy Journal**, Madison, v.73, n.1, p. 112-16, Jan./Feb. 1981.
- KOEPPER, W. "Roteiro para classificação climática" [s.n.t.], 1970, 6p. (mimiografado).
- LABOURIAU, L.G.A. **Germinação das sementes**. Washington: OEA, 1983. 174p. (Coleção de Monografias Científicas Biológica, 24).
- LIMA, W.A.A.; ARAÚJO, R.F.; DIAS, D.C.F.S.; ALVARENGA, E.M.; ARAÚJO, E.F. Ajuste de metodologia para o condicionamento osmótico de sementes de café (*Coffea arabica* L.). **Informativo Abrates**, Curitiba, v.7, n.1/2, p.107, 1997.
- MICHEL, B.E.; KAUFMANN, M.R. The osmotic potential of PEG 6000. **Plant Physiology**, Lancaster, v.51, n.5, p.914-916, 1973.
- MIRANDA, J.M.; VIEIRA, M.G.G.C.; CARVALHO, M.M. Inativação da germinação de sementes de café após tratamento com etanol, ácido acético e calor. **Ciência e Prática**, Lavras, v.14, n.2, p.202-207, 1990.
- PAES, J.M.V.; BRITO, C.H.; PIRES, N.M.; PERIUS, M.G.; MARROCOS, P.C.L.; ALVARENGA, E.M. Efeito de diferentes solutos na germinação e no vigor de sementes de guar (*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taubert). **Informativo Abrates**, Curitiba, v.7, n.1/2, p.102, 1997.

- PENARIOL, A.L.; RODRIGUES, T.J.D.; VIEIRA, R.D.; PERECIN, D. Absorção de água por sementes de amendoim submetidas a diferentes níveis de potencial osmótico. *Informativo Abrates*, Curitiba, v.7, n.1/2, p.38, 1997.
- POWELL, A.A.; MATTHEWS, S. The damaging effect of water on dry pea embryos during imbibition. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v.29, n.112, p.1215-1229, 1978.
- STEUTER, A.A.; MOZAFAR, A.; GOODIN, J.R. Water potential of aqueous polyethylene glycol. *Plant Physiology*, Lancaster, v.67, n.1, p.64-67, 1981.
- VANTOAI, T.T.; FAUSEY, N.R.; McDONALD JR, M.B. Anaerobic metabolism enzymes as markers of flooding stress in maize seeds. *Plant and Soil*, New York, v.102, n.1, p.33-39, 1987
- ZHANG, M.; MAEDA, Y.; FURIHATA, Y.; NAKAMAR, Y.; ESASHI, Y. A mechanism of seed deterioration in relation to the volatile compounds evolved by dry seeds themselves. *Seed Science Research*, Wallingford, v.4, p.49-56, Mar.1994.
- WOODSTOCK, L.W.; TAO, K.L.J. Prevention of imbibitional injury in low vigor soybean embryonic axes by osmotic control of water uptake. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.51, n.1, p.133-139, 1981.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os resultados obtidos no segundo capítulo deste trabalho permitiram identificar com clareza todas as fases da curva de embebição de sementes de cafeeiro, servindo posteriormente de base para os estudos de condicionamento fisiológico. A partir destas informações, as quais também são essenciais para outras linhas de pesquisas como o aperfeiçoamento de testes de vigor, será possível inferir com maior segurança sobre o processo de absorção de água das sementes de cafeeiro.

Em trabalhos futuros onde haja novamente a necessidade de traçar a curva de embebição de sementes de cafeeiro, a inativação de sementes para a determinação do final da fase I poderá ser feita pelo aquecimento destas em embalagem hermética à temperatura de 70°C por 12 horas, sem a necessidade da retirada do endocarpo.

O estudo do processo de embebição das sementes de cafeeiro determinou que a presença do endocarpo afeta o padrão de absorção de água, tanto em sementes mortas como em sementes vivas, chegando a impedir o início da fase III (protusão da radícula) quando estas são colocadas em meio asséptico.

Em relação as sementes viáveis sem endocarpo, observou-se que a curva de embebição apresenta padrão trifásico, sendo que a fase I se completa entre 132 e 144 horas e a fase III tem início em torno de 228 horas após o início da embebição.

No experimento I do capítulo III, foi verificado que para a condição fisiológica do lote de sementes utilizado, o condicionamento fisiológico promove significativa melhoria no desempenho das sementes. Embora tenham sido constatadas algumas variações nos resultados dos testes de avaliação dos efeitos do "priming" em função da metodologia, tanto o condicionamento em água como

em solução de PEG se mostraram eficientes, enquanto o uso do papel de filtro apresenta algumas limitações de ordem prática, além não permitir a manutenção da hidratação das sementes durante o condicionamento.

Pelo experimento II do terceiro capítulo pode-se constatar que para lotes de sementes com melhores níveis de qualidade fisiológica como o que foi utilizado, os benefícios decorrentes dos tratamentos de "priming" são detectados mais a nível de vigor do que sobre a germinação, podendo até mesmo prejudicar a qualidade das sementes, quando são utilizadas soluções muito concentradas. O método por imersão em água destilada destacou-se de uma maneira geral como um dos mais promissores para o aperfeiçoamento de uma técnica eficiente e adaptada às sementes de cafeeiro.

As avaliações das atividades das enzimas álcool desidrogenase e malato desidrogenase, assim como de proteína, permitiram boas correlação com os testes de vigor, revelando a necessidade de maiores estudos em relação ao suprimento adequado de oxigênio, quando utiliza-se o método de imersão das sementes, principalmente em soluções de PEG mais concentradas.

Como avaliação geral deste trabalho, foi possível concluir que o envigoramento de sementes de cafeeiro é perfeitamente viável, especialmente quando considerados os ganhos obtidos sobre o lote de menor qualidade fisiológica (Experimento I - capítulo III). A partir dos resultados deste estudo, outros fatores precisam pesquisados, como por exemplo: temperatura de condicionamento, sistema de aeração da solução, adição de produtos químicos a solução de condicionamento que impeçam a formação de compostos tóxicos as sementes, além da avaliação da atividade de outras enzimas e o consumo de reservas das sementes em função dos tratamentos.