PAULO CÉSAR HILST

TESTE DE COLORAÇÃO DE EXSUDATOS PARA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE SEMENTES DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae.*

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

PAULO CÉSAR HILST

TESTE DE COLORAÇÃO DE EXSUDATOS PARA AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE SEMENTES DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae.*

APROVADA: 15 de dezembro de 2009.

Prof. Luiz Antônio dos Santos Dias
(Coorientador)

Prof. Ney Sussumu Sakiyama
(Coorientador)

Prof. Julio Marcos Filho

Pesq. Antonio de Pádua Alvarenga

Profª Denise Cunha F. dos S. Dias
(Orientadora)

A Deus,

A minha família,

em especial aos meus pais Gastão e Valéria,

a minha irmã Carolina,

Dedico.

"Quem sabe concentrar-se numa coisa e insistir nela como único objetivo, obtém, ao fim e ao cabo, a capacidade de fazer qualquer coisa"

Mahatma Gandhi

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, especialmente ao Departamento de Fitotecnia, pela oportunidade da realização deste aperfeiçoamento.

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

À professora Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias, que por quase uma década foi mais do que uma orientadora, foi uma grande amiga, em seus momentos de ensinamentos e descontração.

À professora Eveline Mantovani Alvarenga, como conselheira desde o período de graduação, foi além disso, uma grande amiga e companheira.

À pesquisadora Maria Carmen Bhering, pela grande amizade ao longo de todos esses anos.

Ao professor Luiz Antônio dos Santos Dias, que além de conselheiro, pelas ajudas com estatística, foi um grande amigo em vários momentos de descontração.

A Natália Batista Borges por sempre estar ao meu lado, com muito amor e carinho.

Aos amigos e companheiros de pós-graduação, e a todos dos Laboratórios de Pesquisa e de Rotina de Sementes.

Aos laboratoristas José Eduardo Rodrigues e Marcos Antônio Bibiano.

Aos grandes amigos da graduação.

Agradeço a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para realização deste trabalho.

A todos, um grande abraço.

BIOGRAFIA

Paulo César Hilst, filho de Gastão Hilst Neto e Valéria da Graça Vergílio Hilst, nasceu no dia 27 de setembro do ano de 1982 em Jaú, estado de São Paulo.

Cursou o Primeiro Grau no Colégio Salesiano Dom Bosco na cidade de Americana, estado de São Paulo.

Após regresso à cidade natal, cursou o Segundo Grau no Colégio Objetivo, e concluiu seus estudos no Colégio Horácio Berlinck, no ano de 2000.

Em 2001, iniciou o curso de Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa na cidade de Viçosa, estado de Minas Gerais.

Em 2004, participou de estágio internacional, em propriedade agrícola na cidade de Flaxville, estado de Montana, EUA.

Em Março de 2007 recebeu o título de Engenheiro Agrônomo pela Universidade Federal de Viçosa.

Em agosto de 2007, iniciou nesta mesma instituição, o Curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, com especialização em Produção e Tecnologia de Sementes.

ÍNDICE

RESUMO ..... **vii**

ABSTRACT ..... **ix**

1. INTRODUÇÃO **1**

2. REVISÃO DE LITERATURA **3**

2.1 A semente de café (*Coffea arabica* L.) 3

2.2. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de café 3

2.2.1. Testes rápidos para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes de café 4

3. MATERIAL E MÉTODOS **10**

3.1 Ensaio 1 10

3.1.1. Caracterização da qualidade fisiológica dos lotes 10

3.1.1.1. Grau de umidade 10

3.1.1.2. Teste de germinação 10

3.1.1.3. Envelhecimento acelerado 11

3.1.1.4. Condutividade elétrica 11

3.1.2. Adequação de metodologia para o teste de coloração de exsudatos 11

3.1.3. Procedimento estatístico 12

3.2. Ensaio 2 12

3.2.1. Caracterização da qualidade fisiológica dos lotes 12

3.2.1.1. Grau de umidade 12

3.2.1.2. Teste de germinação 12

3.2.1.3. Primeira contagem de germinação 12

3.2.1.4. Envelhecimento acelerado 13

3.2.1.5. Condutividade elétrica 13

3.2.1.6. Emergência de plântulas 14

3.2.2. Teste de coloração de exsudatos 14

3.2.3. Relação entre intensidade de coloração do exsudato e categoria de plântula originada 17

3.3.4. Procedimento estatístico 19

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 20
4.1. Ensaio 1 20
4.2. Ensaio 2 24
5. CONCLUSÃO 40
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 41

RESUMO

HILST, Paulo César, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2009. **Teste de coloração de exsudatos para avaliação da viabilidade de sementes de café (*Coffea arabica* L.)** Orientador: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias. Co-orientadores: Luiz Antônio dos Santos Dias e Ney Sussumu Sakiyama.

Sementes de café são reconhecidamente problemáticas em termos de qualidade fisiológica, apresentando germinação lenta e desuniforme e perdendo rapidamente a viabilidade durante o armazenamento. Como para a condução do teste de germinação são necessários pelo menos 30 dias, os resultados obtidos poderão não mais refletir a real condição fisiológica das sementes. Diante disso, tem aumentado a necessidade de testes que permitam a avaliação rápida e segura da qualidade destas sementes. Objetivou-se desenvolver um teste rápido e prático para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de café, baseado na interpretação das diferentes intensidades de coloração dos exsudatos das sementes e, verificar a interferência do teor de água das sementes e do período de embebição das sementes nos resultados do teste de coloração de exsudatos. Para tanto, foi conduzido um ensaio utilizando-se sementes de seis lotes de café que foram avaliadas quanto à qualidade fisiológica pelos testes de germinação, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica. Como método rápido foi proposto o teste de coloração de exsudatos, no qual se avaliou a intensidade de coloração dos exsudatos liberados pelas sementes no papel toalha após cada período de avaliação. Para a condução do teste, as sementes, após a retirada do pergaminho, foram colocadas para embeber em água destilada por 10 minutos, para retirada da película prateada. Em seguida, foram distribuídas quatro repetições de 10 sementes, para cada tratamento, sobre folhas de papel toalha umedecidas com água destilada, sendo mantidas em germinador a 25ºC por 24, 48, 72, 96 e 120 horas. Foram estabelecidas três classes de intensidade de coloração: ausência de coloração, intensidade de coloração leve e intensidade de coloração forte, atribuindo-se os valores 0, 1 e 3, para cada classe, respectivamente. Foi realizado um segundo ensaio utilizando-se sementes dos cultivares Catuaí 44, Catuaí 99, Oeiras MG 6851, Topázio MG 1190 e Catucaí 3616, com teores de água de 30%, 20% e 12% que foram submetidas aos testes de germinação, primeira contagem, envelhecimento acelerado, condutividade elétrica, emergência de plântulas e coloração de exsudatos, realizando-se modificações na metodologia. Para a avaliação visual da intensidade de coloração foi incluída a intensidade de coloração média dos exsudatos, atribuindo-se novos valores para cada intensidade de

coloração, sendo 0, 3, 5 e 10, para exsudatos isentos de coloração, intensidade de coloração leve, intensidade de coloração média e intensidade de coloração forte, respectivamente, calculando-se o Índice de Viabilidade por meio da equação IV=100-(0xS)-(3xL)-(5xM)-(10xF). O teste de coloração do exsudato expresso pelo índice de viabilidade, pode ser utilizado para estimar a viabilidade de sementes de café, fornecendo resultados correlacionados ao teste de germinação. O teste de coloração do exsudato proposto pode ser recomendado para avaliação rápida da viabilidade das sementes de café. Os resultados mais promissores foram obtidos com sementes com 12% de umidade após períodos de embebição de 72, 96 e 120 horas e com 30% de umidade após períodos de embebição de 72 e 120 horas.

ABSTRACT

HILST, Paulo César, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2009. **Exsudate coloring test to evaluate the viability of coffee (*Coffea arabica* L.) seeds.** Advisor: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias. Co-advisors: Luiz Antônio dos Santos Dias and Ney Sussumu Sakiyama.

Coffee beans are known to be problematic in terms of physiological quality, with slow and uneven germination and losing fast its viability during storage. Due to the time that takes to conduct the germination test, at least 30 days, the results may no longer reflect the actual physiological condition of the seeds. Whereupon, has increased the need for tests that permit the quick and safe evalutaion of these seed quality. The objective of this research was to develop a quick and practical test to evaluate the physiological quality of coffee seeds, based on the interpretation of different color intensities of seed exudates, and the interference of water content of the seeds and the imbibition period in the test results. Therefore, a first test was conducted using six lots of coffee seeds, evaluated by germination, accelerated aging and electrical conductivity. To conduct the exsudate coloring test, the seeds, after removal of the parchment, were put into water for 10 minutes, to remove the silver film. Were then distributed four replications of 10 seeds for each treatment, over sheets of paper towel moistened with distilled water, being kept in a germination chamber at 25°C for 24, 48, 72, 96 and 120 hours. Three classes of coloring intensity were stablished: absence, light and strong intensity, assigning the values 0, 1 and 3, for each class, respectively. A second experiment using seeds from Catuaí 44, Catuaí 99, Oeiras MG 6851, Topázio MG 1190 e Catucaí 3616, with moisture contents of 30%, 20% and 12% were subjected to germination test, first count of germination, accelerated aging, electrical conductivity, seedling emergence and exudate coloring test, performing changes in the methodology. For the visual evaluation of the coloring intensities was included the medium intensity, assigning new values for each intensity, 0, 3, 5 and 10 for absence, light, medium and strong intensities, respectively, calculating the Index of Viability by the equation IV = 100 - (0XS) - (3xL) - (5XM) - (10xF). The exudate coloring test coupled with the index of viability, can be used to estimate the viability of coffee seeds, providing results correlated to the germination test. The exsudate coloring test proposed can be recommended for the fast assessment of the viability of coffee seeds. The best results were obtained with seeds with moisture content of 12% after soaking periods of 72, 96 and 120 hours and with moisture content of 30% after soaking periods of 72 and 120 hours.

1. INTRODUÇÃO

Depois do petróleo, o café é a segunda mercadoria mais importante para a economia mundial e, considerando que o Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café (BELING et al., 2009), é indiscutível a importância desta cultura para o país.

A propagação do cafeeiro arabica é feita por meio de mudas, as quais são produzidas a partir de sementes e, problemas relacionados à conservação destas sementes em curto/médio prazo, visando à produção de mudas com padrão de qualidade ideal e em época de clima favorável ao plantio, bem como a conservação das sementes ainda carece de soluções.

Assim, a produção de mudas de café com padrão de qualidade desejável e em época de clima favorável à implantação da lavoura no campo é ainda dificultada devido, principalmente, à baixa capacidade de conservação durante o armazenamento das sementes, aliada à sua germinação lenta e desuniforme (SGUAREZI et al., 2001).

Esse fato pode acarretar problemas aos produtores de sementes, pois o método oficial para avaliação da qualidade dos lotes a serem comercializados é o teste de germinação, que exige um período mínimo de 30 dias para a obtenção dos resultados (BRASIL, 1992), de modo que estes poderão não mais refletir a real condição fisiológica das sementes.

Diante disso, tem aumentado a necessidade de testes que permitam uma avaliação rápida e segura da qualidade das sementes, garantindo maior precisão nas tomadas de decisão, quando se trata da comercialização ou descarte de lotes.

Vários testes rápidos podem ser empregados para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de café, como alternativa ao teste de germinação, destacando-se o teste de tetrazólio (LOPEZ, 1988; DIAS e SILVA, 1998) e o de condutividade elétrica (COSTA e CARVALHO, 2006). O teste de tetrazólio vem sendo empregado para a avaliação da viabilidade de sementes de café, mas tem como inconveniente a dificuldade para a remoção do embrião, que exige técnica e treinamento do analista.

O teste de condutividade elétrica não tem apresentado resultados consistentes para sementes de café embora muito utilizado para avaliação do vigor das sementes de outras espécies. Entretanto, durante a condução deste teste, foram observadas diferenças na coloração do lixiviado das sementes de diferentes lotes, alguns se apresentando mais claros e outros com tonalidade marrom escuro. Este fato, já descrito por SERA e MIGLIORANZA (2000), alertou para a possibilidade de se buscar associar mais

consistentemente esta característica à qualidade fisiológica das sementes, já que exsudatos mais escuros geralmente eram constatados para lotes de baixa qualidade. De acordo com SERA e MIGLIORANZA (2000) sementes de café de qualidade inferior exsudam substâncias de coloração marrom, em diferentes intensidades, ao serem embebidas em água sobre folhas de papel toalha em placas de Petri, atribuindo notas para presença e ausência de exsudato marrom. Esta metodologia foi aperfeiçoada por HILST et al. (2003a, 2003b), que classificou os exsudatos em três categorias: ausência de coloração, coloração leve e coloração forte.

Durante a secagem das sementes, as membranas celulares sofrem um processo de desorganização estrutural, estando tanto mais desorganizadas quanto menor for o teor de água na semente (BEWLEY, 1986). Sementes menos vigorosas (mais deterioradas) apresentam menor velocidade de restabelecimento da integridade das membranas celulares durante o processo de embebição e, em consequência, liberam maiores quantidades de solutos para o meio exterior (MARCOS FILHO, 2005).

Uma vez que o teste de coloração de exsudatos tem como princípio a permeabilidade do sistema de membranas, este pode se constituir em alternativa promissora para a avaliação rápida da qualidade de sementes de café, considerando que é essencial a busca de testes rápidos que tornem o processo de avaliação da qualidade de sementes de café menos moroso, e que assegurem resultados confiáveis. Assim, informações referentes à metodologia e aplicabilidade do teste de coloração de exsudatos para sementes de café bem como a sua validação para aplicação em lotes comerciais constitui-se em fator importante para o setor de produção de sementes de café.

Diante do exposto o presente trabalho teve como objetivos o desenvolvimento de um teste rápido e prático para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de café, baseado na avaliação da intensidade de coloração dos exsudatos das sementes, com aprimoramento da metodologia existente e, ainda, verificar a interferência do teor de água das sementes e do período de embebição nos resultados do teste de coloração de exsudatos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A semente de café (*Coffea arabica* L.)

O fruto do cafeeiro é uma drupa que possui dois lóculos e duas sementes. O fruto quando maduro apresenta exocarpo de coloração vermelha ou amarela e um mesocarpo de consistência gelatinosa rico em açúcares e água (RENA e MAESTRI, 1986).

A semente é formada por um embrião de tamanho bastante reduzido (cerca de 3 a 4 mm) em relação à semente, um endosperma volumoso e um envoltório constituído por células esclerenquimatosas, denominado perisperma ou película prateada. Envolvendo exteriormente a semente encontra-se o endocarpo, ou pergaminho, um tecido remanescente do fruto, de característica coriácea quando maduro (RENA e MAESTRI, 1986).

O endosperma é formado por células nucleadas poliédricas e de paredes espessas, onde estão depositadas hemiceluloses, principalmente mananas e galactomananas, assumindo função de reserva (DEDECA, 1975), juntamente com substâncias graxas (CARVALHO e ALVARENGA, 1993). Segundo RENA e MAESTRI (1986) o endosperma contém ainda, água, aminoácidos, triglicerídeos, açúcares, dextrina, pentasonas, celulose, ácido caféico, ácido clorogênico, minerais e alcalóides, como a cafeína.

No interior do endosperma, normalmente localizado na base da superfície convexa, o embrião é constituído de eixo hipocótilo-radícula e dois cotilédones cordiformes (RENA e MAESTRI, 1986) que, durante o processo de germinação consome as reservas, culminando no rompimento do endosperma, quando é possível observar a protrusão da raiz primária (CARVALHO e ALVARENGA, 1993).

2.2. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de café

A longevidade das sementes, em geral, é afetada de modo decisivo por fatores de produção e de armazenamento. Todavia, mesmo sob condições ótimas de armazenamento, sementes de algumas espécies, como as de café (RODRIGUES, 1988) apresentam um período de vida curto, sendo mais propensas à deterioração. Segundo VOSSEN (1979), a longevidade das sementes de café está relacionada principalmente com seu teor de água e temperatura do ambiente de armazenamento.

De acordo com DELOUCHE (1963), a deterioração é um processo contínuo e

irreversível, determinado por uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas, físicas e citológicas, com início a partir da maturidade fisiológica, em ritmo progressivo, determinando a queda da qualidade fisiológica e culminando com a morte da semente.

Além de serem de difícil conservação durante o armazenamento, as sementes de café têm germinação lenta e irregular, mesmo sob condições favoráveis. Segundo BENDAÑA (1962) a germinação de sementes de café é lenta devido à presença do pergaminho, provavelmente, devido a sua impermeabilidade à água. Já para HUXLEY (1964), esse fato pode estar relacionado à restrição imposta pelo pergaminho à passagem de oxigênio para os tecidos internos da semente. Por outro lado, para PEREIRA et al. (2002), a lenta germinação das sementes do cafeeiro pode estar associada à película prateada, provável fonte de inibidores como a cafeína, sugerindo, assim, que a remoção desta estrutura pode trazer algum benefício à velocidade de germinação. Em geral, o processo de germinação de sementes com o pergaminho pode atingir até 90 dias nos períodos quentes do ano e 120 dias nos meses mais frios (WENT, 1957).

Com a intenção de acelerar o processo de germinação, SALES et al. (2001) verificaram que a imersão das sementes em solução de celulase não contribuiu para que houvesse redução significativa no tempo necessário à germinação.

A retirada do pergaminho é considerada eficiente para acelerar a germinação dessas sementes (FRANCO, 1970 e GUIMARÃES, 1995). Mas mesmo utilizando esta técnica, a germinação de sementes de café, sob condições ideais em laboratório, demanda um período de, no mínimo, 30 dias, considerando desde o momento da semeadura até a obtenção dos resultados, conforme metodologia estabelecida pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). Segundo DIAS e SILVA (1986), devido ao fato do teste de germinação demandar demasiado tempo, há possibilidade de ocorrência de situações em que o teste de germinação pode ocasionar resultados conflitantes com a real qualidade fisiológica do lote de sementes no momento da divulgação dos resultados, uma vez que as sementes de café perdem sua viabilidade em curto espaço de tempo. Sendo assim, é fundamental a utilização de testes rápidos para a avaliação da qualidade fisiológica destas sementes.

2.2.1. Testes rápidos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de café

Os testes para avaliação rápida da viabilidade ou do vigor de sementes constituem importantes ferramentas para fundamentar a pronta tomada de decisões, durante diferentes etapas da produção de sementes, especialmente entre a fase de maturação e a futura

semeadura em campo. Representam ainda importantes componentes em programas de controle de qualidade de sementes, permitindo agilizar a obtenção de informações, mediante o descarte de lotes de qualidade inferior durante a fase de recepção na unidade de beneficiamento e a racionalização do manejo, com a utilização mais eficiente da infra-estrutura disponível (MARCOS FILHO, 2005).

ABDUL-BAKI & ANDERSON (1973) relatam que a avaliação da qualidade fisiológica de sementes por meio de testes que demandam curto período de tempo estão relacionados com atividades enzimáticas e respiratórias das sementes ou, com a integridade das membranas celulares. Segundo DELOUCHE (1975), a deterioração da semente se inicia pela perda da permeabilidade seletiva das membranas celulares e termina com a perda do poder germinativo.

Em estudo baseado no formato e coloração do embrião, SERA e MIGLIORANZA (2003) concluíram que é possível separar sementes de alto e baixo poder germinativo baseando-se na coloração do embrião, sendo que sementes de baixa viabilidade têm embriões levemente amarelados e menos visíveis em contraste com os embriões brancos e mais visíveis das sementes de alta viabilidade. Verificaram ainda que sementes mais velhas apresentam maior porcentagem de embriões com a extremidade do eixo hipocótilo-radícula arredondado.

Baseando-se nas propriedades oxidantes e branqueantes do hipoclorito de sódio, REIS et al. (2004) desenvolveram um teste rápido para avaliação da qualidade de sementes de café denominado LERCAFÉ, através da imersão das sementes em solução de hipoclorito de sódio, seguida de avaliação visual da coloração desenvolvida na região próxima ao embrião das sementes. Sementes de baixa qualidade apresentavam embriões com coloração esverdeada o que não ocorria nas sementes de alta qualidade.

Para avaliação de injúrias em sementes de café, o teste LERCAFÉ foi eficiente para avaliar danos provocados por secagem sob alta temperatura e por broca (ZONTA et al., 2008), além de permitir estimar a germinação de sementes de café durante o armazenamento (ZONTA et al., 2009a).

Dentre os testes utilizados para avaliação rápida da qualidade de sementes de café destaca-se o teste de tetrazólio, fundamentado na atividade das enzimas desidrogenases. Este teste tem se mostrado eficiente para a estimativa do potencial de germinação de sementes de café (DIAS e SILVA, 1998) e tem sido um dos testes rápidos mais estudados para avaliação da qualidade fisiológica dessas sementes (FIGUEIREDO, 2000).

DELOUCHE et al. (1976) relata que a avaliação individual da semente, através do

teste de tetrazólio, permite estimar com grande precisão a qualidade do lote. Contudo, o teste apresenta como grande desvantagem a necessidade de analistas especializados e bem treinados, além de ser morosa a sua execução (ANTEPARA, 1979; VIEIRA et al., 1998). Um fato que dificulta a condução deste teste em sementes de café é a necessidade de extração do embrião para posterior coloração. VASQUEZ e MORILLO (1964), já relatavam que as sementes inteiras, com pergaminho, não apresentaram reação positiva de coloração e naquelas em que houve contato direto da solução de tetrazólio com o embrião ocorreu reação positiva de coloração, variando da tonalidade rosa claro até roxa.

Assim, para a extração do embrião e procurando evitar ao máximo os possíveis danos mecânicos durante o processo de preparo das sementes para a realização do teste, DIAS e SILVA (1986) utilizaram metodologia onde o endosperma foi seccionado, e apenas a parte contendo o embrião foi submetida à solução de tetrazólio, sendo que o embrião não é exposto diretamente à solução. Os resultados obtidos indicaram amplas possibilidades da utilização do teste de tetrazólio para estimar a viabilidade de sementes de cafeeiro, uma vez que não houve variação entre os tratamentos utilizados para a coloração do embrião. Entretanto, ARAÚJO et al. (1997), concluíram que quando os embriões são colocados na solução com parte do endosperma, a interpretação sobre a viabilidade fica dificultada. Fato esse corroborado por ZONTA et al. (2009b), os quais concluíram que o teste é eficiente para avaliar a viabilidade e o vigor das sementes quando o embrião é exposto diretamente na solução de tetrazólio.

Além do teste de tetrazólio, baseado na atividade de enzimas desidrogenases, há também os testes rápidos que se baseiam na integridade do sistema de membranas celulares e que vem sendo estudados para sementes de café, como os testes de condutividade elétrica, lixiviação de potássio, pH do exsudato e coloração do exsudato.

Após a colheita, com a secagem das sementes, as membranas celulares sofrem um processo de desorganização estrutural, estando tanto mais desorganizadas quanto menor for o teor de água na semente (BEWLEY, 1986) perdendo assim, temporariadmente, a sua integridade organizacional (SIMON e RAJA HARUN, 1972).

Segundo ABDUL-BAKI & BAKER (1973) o processo de deterioração, provavelmente, está relacionado com o fato dos radicais livres, produzidos como resultados da peroxidação de lipídios durante o envelhecimento, reagirem com os lipídios das membranas, acarretando distúrbios à sua estrutura e alterações nas reservas armazenadas nas sementes.

Para MARCOS FILHO (2005), a evolução do processo de deterioração é

dificilmente identificadao através de alterações morfológicas nas sementes, sendo que as manifestações fisiológicas são mais evidentes. Dentre elas, a redução da velocidade de emergência, é o primeiro sintoma da queda de desempenho, geralmente determinada pela desorganização do sistema de membranas.

A capacidade de reorganização das membranas na fase inicial do processo de embebição das sementes irá influenciar de modo significativo à quantidade de lixiviados que serão liberados pelas mesmas (BEWLEY e BLACK, 1985).

As membranas tornam-se estruturadas quando a semente se encontra com teor de água de, no mínimo, 20% (base úmida) (SIMON, 1974), e a capacidade de reorganização das membranas celulares e de reparar certo nível de dano é maior para sementes de mais alto vigor, em comparação àquelas de menor vigor. Assim, quanto maior o vigor da semente, maior será a capacidade de restabelecer a integridade das membranas celulares durante a embebição e menor quantidade de lixiviados será liberada para o meio externo (MATTHEWS e POWELL, 1981; MARCOS FILHO et al., 1987; VIEIRA, 1994)

O teste de pH do exsudato ou teste de fenolftaleína foi aplicado em sementes de café por VIEIRA et al. (1998), que recomendaram a imersão individual das sementes em 2 ml de água por 8 horas a 25ºC. Após este período, foi acrescentada uma gota de solução de fenolftaleína e uma gota de solução de carbonato de sódio anidro, avaliando-se em seguida a coloração desenvolvida no exsudato. Sementes cujos exsudatos apresentaram coloração rósea são viáveis e com exsudatos incolor, inviáveis .

Nesse mesmo sentido, FIGUEIREDO (2000) estudou a possibilidade de aplicação do teste de pH do exsudato na determinação rápida da viabilidade de sementes de cafeeiro, concluindo que a concentração de solução 1:0,75 fenolftaleína/carbonato de sódio, por um período de 15 horas, possibilitou a classificação dos lotes à semelhança do teste de tetrazólio e na concentração de 1:1, por 10 horas, à semelhança do teste de condutividade elétrica. Na concentração de 1:0,75, por 20 horas, o teste possibilitou a classificação dos lotes à semelhança do teste de germinação. Contudo, a metodologia para este teste varia em função da safra do lote de sementes, sendo que para lotes recém-colhidos, é mais indicada a utilização de concentração de 1:1 e tempo de embebição de 10 horas.

Com o objetivo de avaliar a qualidade fisiológica de lotes de sementes, baseando-se no princípio da perda de eletrólitos para o meio de embebição, MATTEWS e POWELL (1981) descrevem o teste de condutividade elétrica. Segundo POWELL (1986), a quantidade de exsudatos liberada pelas sementes durante a embebição tem sido avaliada através da condutividade elétrica da solução, a qual está relacionada à qualidade

fisiológica da semente.

DESWAL e SHEORAN (1993), trabalhando com medidas de absorbância espectrofotométrica, concluíram que as medidas de condutividade elétrica apresentam resultados favoráveis apenas quando as sementes apresentavam altas concentrações de eletrólitos.

A desorganização das membranas celulares em grãos de café defeituosos permite que a água penetre e se difunda com maior facilidade nos grãos (ILLY et al., 1982), estando relacionada com a lixiviação de potássio e à condutividade elétrica das sementes (PRETE, 1992). Segundo GOULART et al. (2007) maior lixiviação de potássio, com conseqüente aumento da condutividade elétrica, são fortes indicadores de danos na membrana e na parede celular.

O teste de condutividade elétrica pode ser conduzido pelo método de massa, utilizando repetições de 25, 50 ou 100 sementes, ou pelo método individual, no qual se determina a condutividade elétrica do exsudato de cada semente da amostra. COSTA e CARVALHO (2006), utilizando este último método em sementes de café, conseguiram separar lotes em diferentes níveis de qualidade fisiológica.

Sementes de café submetidas a diferentes métodos de secagem apresentaram valores crescentes de condutividade elétrica até o período de 72 horas de embebição, ocorrendo decréscimo a partir daí, indicando que o teste de condutividade elétrica foi eficiente para avaliar os danos provocados pela secagem, especialmente quando foram utilizados períodos de embebição de 48 e 72 horas. Para SOTO et al. (1995), o teste de condutividade elétrica foi mais eficiente para avaliar a viabilidade das sementes de café que o teste de tetrazólio.

Em café, a presença de sementes defeituosas ou com danos influenciou de maneira significativa tanto os valores de condutividade elétrica como os de lixiviação de potássio, favorecendo interpretações inadequadas quanto à qualidade do lote de sementes analisado (MALTA et al., 2005).

Durante a condução do teste de condutividade elétrica em sementes de café têm sido observadas diferenças na coloração dos lixiviados das sementes de diferentes lotes, alguns se apresentando mais claros e outros com tonalidade marrom escuro. Este fato alertou para a possibilidade de se buscar associar esta característica à qualidade fisiológica das sementes, uma vez que estudando os exsudatos de sementes de café, SERA e MIGLIORANZA (2000) observaram que sementes de lotes de baixa qualidade geralmente originaram exsudatos de coloração mais escuros sobre folhas de papel toalha umedecidas,

após 12 horas de embebição, o que pode ser um indicativo do nível de qualidade fisiológica dos lotes.

Segundo SERA e MIGLIORANZA (2006) a exsudação marrom apresentada no papel pode estar ligada à perda de substâncias lixiviadas no processo de deterioração das sementes. Os autores observaram correlações negativas da coloração de exsudatos das sementes após diferentes períodos de embebição com a germinação, trabalhando com sementes colhidas em três anos.

Nestes testes baseados na liberação de exsudatos pelas sementes, diversos fatores podem afetar a intensidade de lixiviação de solutos e, consequentemente, os resultados, destacando-se a qualidade da água, a temperatura e duração do período de embebição, o teor de água e o número de sementes testadas, a presença de dano mecânico ou por inseto, o tamanho da semente (PANOBIANCO e VIEIRA, 1996; VIEIRA et al., 1996).

Dentre os fatores já citados, têm merecido especial atenção o teor de água das sementes, a temperatura e o período de embebição em água durante a condução do teste. Geralmente, quanto maior for período de embebição das sementes, maior será a lixiviação de solutos e, conseqüentemente, mais intensa será a coloração do exsudato. Assim, é necessário determinar o período de embebição adequado para avaliação da coloração do exsudato, de modo a obter resultados confiáveis.

Diante das informações até então obtidas, o desenvolvimento de um teste rápido e prático baseado na avaliação visual da intensidade de coloração dos exsudatos das sementes de café, indicam a potencialidade do teste de coloração de exsudatos para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de café.

Sementes de café são comercializadas com teores de água variáveis, até acima de 30%, e como a organização do sistema de membranas está diretamente relacionada ao teor de água das sementes, pode haver grande influência deste fator na quantidade de exsudatos liberados pelas sementes. Segundo VIEIRA e KRZYZANOWSKI (1999), o teor de água das sementes é de extrema importância para a padronização do teste de condutividade elétrica, bem como para a obtenção de resultados uniformes. Teores de água muito baixos ou muito altos, apresentam influência significativa nos resultados deste teste (AOSA, 1983; CARVALHO, 1994). Assim, este é um fator relevante para a obtenção de resultados consistentes em testes baseados na organização do sistema de membranas celulares.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Sementes do Departamento de Fitotecnia, localizado no Campus da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais e constou de dois ensaios.

3.1. Ensaio 1

Foram utilizadas sementes de café (*Coffea arabica* L.) de seis lotes do cultivar Catuaí 44, produzidas em Viçosa, MG. As sementes de cada lote, apresentavam teor de água de, aproximadamente, 12% (Quadro 1), foram mantidas em ambiente de laboratório durante todo o período experimental.

3.1.1.Caracterização da qualidade fisiológica dos lotes

3.1.1.1. Grau de umidade

Foi adotado o método da estufa a 105°C ± 3°C, em duas subamostras de 30 sementes por tratamento, após a retirada do pergaminho, segundo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). Os resultados foram expressos em porcentagem em base úmida.

3.1.1.2. Teste de germinação

Foram utilizadas quatro subamostras de 50 sementes (sem pergaminho) dispostas em papel toalha umedecida com água destilada, na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco. Foram confeccionados rolos que foram mantidos em germinador regulado à 30°C constantes, conforme critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992). Avaliações foram efetuadas aos 21 e 30 dias após a instalação do teste, sendo os resultados expressos em porcentagem média de plântulas normais para cada lote.

Quadro 1. Valores médios dos teores de água dos seis lotes de sementes de café.

	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5	Lote 6
Teor de água (%)	11,8	12,0	12,2	12,1	11,9	11,9

3.1.1.3. Envelhecimento acelerado

Foi adotada a metodologia descrita por HILST et al. (2003b), utilizando-se caixas de plástico (11,0 x 11,0 x 3,5 cm). Foram distribuídas aproximadamente 250 sementes de café sem pergaminho sobre uma tela de alumínio, a qual foi acoplada as caixas, contendo ao fundo, 40 mL de água destilada. A seguir, as caixas tampadas foram mantidas em incubadora B.O.D. a 45°C por 72 horas. Após esse período, foram também tomadas quatro subamostras de 50 sementes e colocadas para germinar conforme descrito anteriormente, para o teste de germinação, avaliando-se aos 21 dias após a semeadura, computando-se a porcentagem média de plântulas normais.

3.1.1.4. Condutividade elétrica

Foi adotada a metodologia relatada por VIEIRA & KRZYZANOWSKI (1999). Foram utilizadas oito subamostras de 50 sementes, pesadas em balança com precisão de 0,001 g e, posteriormente, colocadas em copos de plástico, contendo 75 mL de água destilada, mantidos em germinador regulado a 25ºC, por 24 horas. Em seguida, o conteúdo dos copos foi agitado com bastão de vidro para permitir homogeneização dos lixiviados na solução, procedendo-se, então, a leitura da condutividade elétrica da solução de embebição feita em condutivímetro, sendo os resultados expressos em µS/cm/g de sementes.

3.1.2. Adequação de metodologia para o teste de coloração do exsudatos

Foram utilizadas quatro subamostras de 10 sementes de cada lote imersas em água destilada por aproximadamente 10 minutos, para remoção da película prateada, com a ajuda de pinças, tomando-se o cuidado para não provocar danos à semente. Em seguida, as sementes foram dispostas com a face plana em contato com 2 folhas de papel toalha umedecidas com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco, sobre telas de alumínio acopladas a caixas de plástico, contendo, ao fundo, 40 mL de água destilada. As caixas foram tampadas e acondicionadas em germinador regulado a 25ºC, onde permaneceram por 24, 48, 72, 96 e 120 horas. Após cada período, as sementes foram afastadas para a avaliação visual da intensidade de coloração do exsudato formado

embaixo de cada uma delas. Foram estabelecidas três classes de intensidade de coloração: ausência de coloração, intensidade de coloração leve e intensidade de coloração forte, atribuindo-se os valores 0, 1 e 3, para cada classe, respectivamente (Figura 1). A partir da soma dos valores obtidos em cada repetição foi obtida a média das notas de cada lote. Após cada avaliação, as sementes foram colocadas novamente em suas posições originais e mantidas no germinador até o momento da próxima avaliação.

3.1.3. Procedimento estatístico

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.2. Ensaio 2

Foram utilizadas sementes de café (*Coffea arabica* L.) das cultivares Catuaí 44, Catuaí 99, Oeiras MG 6851, Topázio MG 1190 e Catucaí 3616, produzidos em Viçosa, MG. Os frutos, colhidos no estádio cereja, foram despolpados e, as sementes, colocadas para secar a sombra, até atingirem teores de água de, aproximadamente, 30%, 20% e 12% (Quadro 2). O controle do teor de água das sementes foi realizado indiretamente pelo peso de amostras de cada lote, até que estas atingissem os pesos pré-estabelecidos para cada teor de água desejado e, então, duas subamostras de cada lote foram retiradas para realização da determinação da umidade pelo método da estufa a 105°C (BRASIL, 1992).

3.2.1. Caracterização da qualidade fisiológica dos lotes

3.2.1.1. Grau de umidade

Foi adotado o método descrito para o ensaio 1.

3.2.1.2. Teste de germinação

Adotou-se a metodologia descrita para o ensaio 1.

3.2.1.3. Primeira contagem de germinação

Consistiu da porcentagem de plântulas normais obtidas por ocasião da primeira contagem do teste de germinação descrito anteriormente.

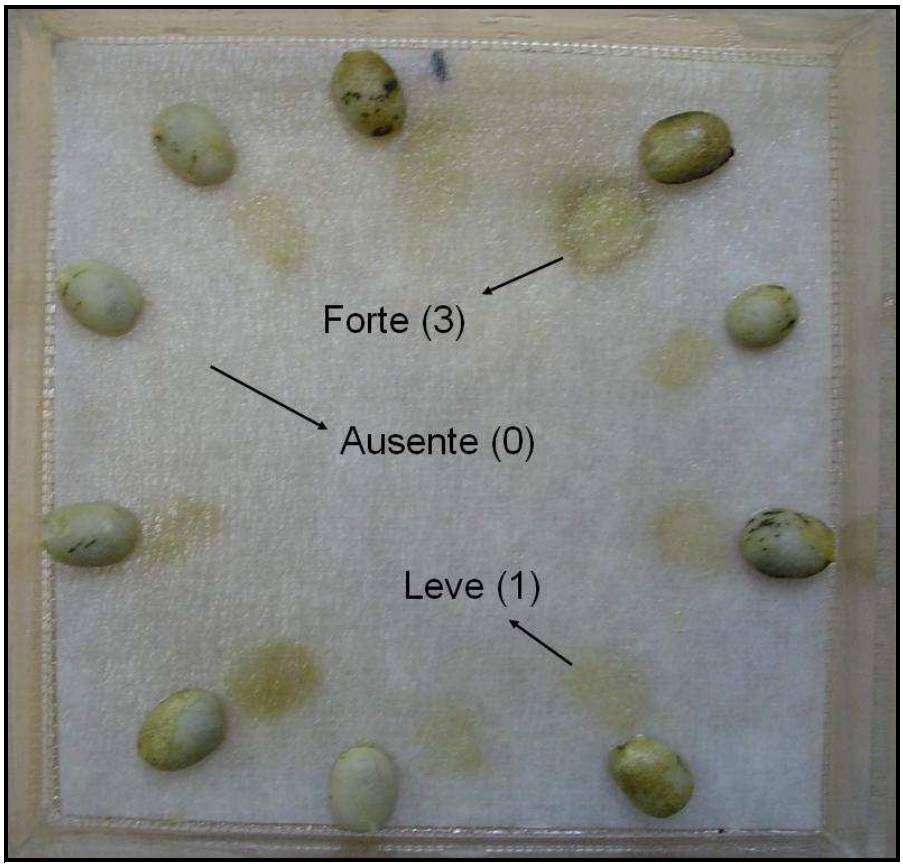

Figura 1. Ilustração das intensidades de coloração do exsudato de cada semente, atribuindo-se os valores 0, 1 e 3, para ausência de coloração, coloração leve e forte, respectivamente.

Quadro 2. Valores médios dos teores de água dos cinco lotes de sementes de café em cada faixa de umidade.

Faixa de umidade	CV 44	CV 99	Oeiras MG 6851	Topázio 1190	Catucaí 3616
12%	11,9	11,8	12,1	12,0	12,1
20%	20,9	20,4	19,8	19,9	20,1
30%	29,7	30,2	30,0	30,3	29,9

3.2.1.4. Envelhecimento acelerado

Foi adotada a metodologia descrita no ensaio 1.

3.2.1.5. Condutividade elétrica

Foi adotada a metodologia relatada por VIEIRA & KRZYZANOWSKI (1999) descrita no ensaio 1, utilizando-se os períodos de embebição de 24, 48, 72, 96 e 120 horas.

A cada período de embebição, a condutividade elétrica da solução de embebição foi determinada em condutivímetro, sendo os resultados expressos em µS/cm/g de sementes.

3.2.1.6. Emergência das plântulas

Foi realizada em sacos plásticas contendo substrato na proporção de duas partes de terra para uma de areia. Os sacos foram mantidas em casa de vegetação pertencente ao Laboratório de Sementes do Departamento de Fitotecnia - UFV. Foram utilizadas 200 sementes, em quatro repetições de 50 sementes para cada tratamento. A avaliação da porcentagem de emergência de plântulas foi efetuada quando as mudas encontravam-se no estádio 'orelha de onça', aos 80 dias após a semeadura.

3.2.2. Teste de coloração de exsudatos

Foi adotada a metodologia proposta no ensaio 1 com modificações. Quatro subamostras de 10 sementes foram imersas em água destilada por aproximadamente 10 minutos, para remoção da película prateada, com a ajuda de pinças, tomando-se o cuidado para não provocar danos à semente. Em seguida, as sementes foram dispostas com a face plana em contato com 3 folhas de papel toalha umedecidas com água destilada na proporção de 3 vezes o peso do papel seco, sobre telas de alumínio acopladas a caixas de plástico, contendo ao fundo, 40 ml de água destilada. As caixas foram tampadas e acondicionadas em germinador regulado a 25ºC, onde permaneceram por 24, 48, 72, 96 e 120 horas. Após cada período, as sementes foram afastadas para a avaliação visual da intensidade de coloração do exsudato formado embaixo de cada uma delas, atribuindo-se os valores 0, 3, 5 e 10, para sementes isentas de coloração, intensidade de coloração leve, intensidade de coloração média e intensidade de coloração forte, respectivamente, conforme Figura 2. Após cada avaliação, as sementes foram colocadas novamente em suas posições originais.

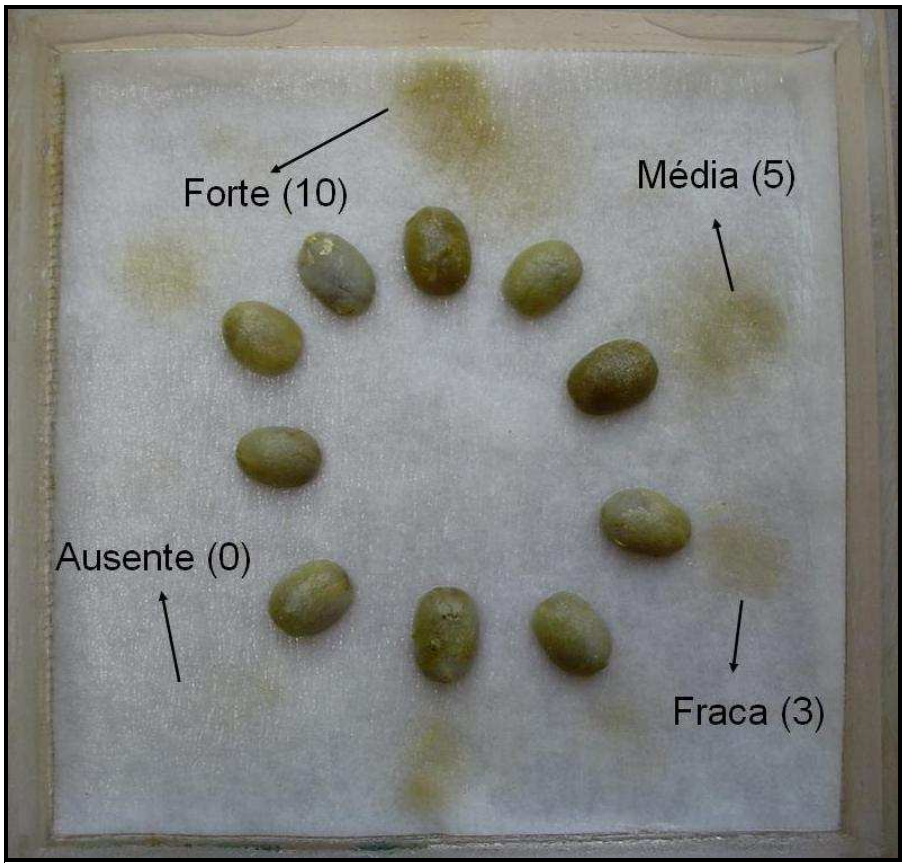

Figura 2. Ilustração das intensidades de coloração do exsudato de cada semente, atribuindo-se os valores 0, 3, 5 e 10, para ausência de coloração, coloração leve, média e forte, respectivamente.

Baseado no na quantidade de coloraçãonúmero de exsudatos de cada classe (ausente, fraca, média e forte), originados das sementes de um determinado lote, foi proposto o cálculo de um índice. Considerando-se um lote cujas sementes não originem intensidade de coloração de exsudatos com intensidade de coloração visível (coloração ausente), foi atribuído o valor máximo de 100%. Já para um lote cujas sementes originaram exsudatos com intensidades de coloração de exsudatosfraca, média e forte, foi descontado, do valor máximo, o valor de cada intensidade de coloração avaliada, para cada repetição.

Os valores obtidos ao final de cada período de avaliação foram utilizados para o cálculo do Índice de Viabilidade de cada lote, aplicando-se a seguinte fórmula para os dados de cada repetição, totalizando 10 sementes em cada repetição:

IV = 100 - (0 x S) - (3 x L) - (5 x M) - (10 x F), onde:

IV é o Índice de Viabilidade das sementes

S é o número de sementes isentas de coloração

L é o número de sementes que originaram intensidade de coloração leve

M é o número de sementes com intensidade de coloração média

F é o número de sementes com intensidade de coloração forte.

A partir dos valores de IV obtidos para cada repetição de cada lote, calculou-se a média de cada lote.

Exemplo 1 – aplicação da fórmula de IV:

Após determinado o final de um período de avaliaçãoembebição observou-se que, em uma repetição do lote A, com 10 sementes, oito não originaram intensidade de coloração, duas sementes originaram exsudato com intensidade de coloração leve, atribuindo-se valor 3 para cada uma delas. Assim, substituindo os valores na fórmula tem-seremos:

S = 8; L = 2; M = 0; F = 0

IV = 100 - (0 x S) - (3 x L) - (5 x M) - (10 x F)

IV = 100 - (0 x 8) - (3 x 2) - (5 x 0) - (10 x 0)

IV = 100 – 0 – 6 – 0 – 0

IV = 94

JáP para o lote B, após determinado o final de um período de embebiçãoavaliação, em uma repetição, com 10 sementes, observou-se que três não originaram intensidade de coloração, uma semente originou exsudato com intensidade de coloração leve, atribuindo-se valor 3, duas originaram intensidade de coloração média, atribuindo-se valor 5 para cada uma delas, e quatro originaram intensidade de coloração forte, atribuindo-se valor 10 para cada uma delas. Assim, substituindo os valores na fórmula tem-seremos:

S = 3; L = 1; M = 2; F = 4

IV = 100 - (0 x S) - (3 x L) - (5 x M) - (10 x F)

IV = 100 - (0 x 3) - (3 x 1) - (5 x 2) - (10 x 4)

IV = 100 – 0 – 3 – 10 – 40

IV = 47

A partir das possíveis combinações entre o número de colorações de cada intensidade, totalizando no máximo 10 sementes por repetição, foi desenvolvida uma

tabela de tripla entrada para obtenção dos resultados (Tabela 1). Para obtenção dos valores de Índice de Viabilidade, para cada repetição, a partir da Tabela 1, basta cruzar a quantidade de sementes que originaram intensidade de coloração média (coluna lateral esquerda da tabela), com a quantidade de sementes que originou intensidade de coloração forte (coluna lateral direita da tabela) e, finalmente, com a quantidade de sementes que originaram intensidade de coloração leve (linha superior da tabela), totalizando no máximo 10 sementes.

Exemplo 2 – aplicação da Tabela 1:

UtilizandoSe utilizarmos os mesmo dados do exemplo 1, para o lote A, onde oito sementes não originaram exsudato com intensidade de coloração, duas originaram exsudato com intensidade de coloração leve, basta cruzar os dados de duas sementes que originaram intensidade de coloração leve, linha superior, com zero que originou intensidade de coloração média, coluna lateral esquerda, e zero que originou intensidade de coloração forte, coluna lateral direita, encontrando o valor 94.

Já para o lote B, onde três sementes não originaram intensidade de coloração, uma originou intensidade de coloração leve, duas originaram intensidade de coloração médias e quatro originaram intensidade de coloração forte, basta cruzar os dados de uma sementes que originou intensidade de coloração leve, linha superior, com duas sementes que originaram intensidade de coloração média, coluna lateral esquerda, com quatro sementes que originaram intensidade de coloração forte, coluna lateral direita, encontrando o valor 47.

3.2.3. Relação entre intensidade de coloração do exsudato e categoria de plântula obtida

Foi adotada a metodologia descrita no ensaio 2 (HILST et al., 2003a) para a condução do Teste de Coloração de Exsudatos. Porém, foram utilizadas apenas sementes com teores de água de 12% e ao final da última avaliação, após 120 horas, as sementes foram colocadas para germinar de acordo com metodologia descrita para o teste de germinação, tomando-se o cuidado de identificar cada semente no substrato de germinação colocando-se a mesma identificação adotada no teste de coloração do exsudato. Na avaliação procurou-se relacionar a coloração do exsudato liberado pela semente (no teste de coloração do exsudato) e a categoria de plântula (normal ou anormal) ou semente obtida (semente morta) após a germinação individual da semente.

Tabela 1. Tabela de tripla entrada para obtenção do Índice de Viabilidade (%) de lotes de sementes de café, baseado no número de exsudatos com intensidade de colorações leve, média e forte, originado das sementes de cada repetição, totalizando no máximo de 10 sementes.

Nº de sementes com intensidade de coloração LEVE

Nº de sementes com intensidade de coloração MEDIA

Nº de sementes com intensidade de coloração FORTE

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
0	100	97	94	91	88	85	82	79	76	73	70	0
0	90	87	84	81	78	75	72	69	66	63		1
0	80	77	74	71	68	65	62	59	56			2
0	70	67	64	61	58	55	52	49				3
0	60	57	54	51	48	45	42					4
0	50	47	44	41	38	35						5
0	40	37	34	31	28							6
0	30	27	24	21								7
0	20	17	14									8
0	10	7										9
0	0											10
1	95	92	89	86	83	80	77	74	71	68		0
1	85	82	79	76	73	70	67	64	61			1
1	75	72	69	66	63	60	57	54				2
1	65	62	59	56	53	50	47					3
1	55	52	49	46	43	40						4
1	45	42	39	36	33							5
1	35	32	29	26								6
1	25	22	19									7
1	15	12										8
1	5											9
2	90	87	84	81	78	75	72	69	66			0
2	80	77	74	71	68	65	62	59				1
2	70	67	64	61	58	55	52					2
2	60	57	54	51	48	45						3
2	50	47	44	41	38							4
2	40	37	34	31								5
2	30	27	24									6
2	20	17										7
2	10											8
3	85	82	79	76	73	70	67	64				0
3	75	72	69	66	63	60	57					1
3	65	62	59	56	53	50						2
3	55	52	49	46	43							3
3	45	42	39	36								4
3	35	32	29									5
3	25	22										6
3	15											7
4	80	77	74	71	68	65	62					0
4	70	67	64	61	58	55						1
4	60	57	54	51	48							2
4	50	47	44	41								3
4	40	37	34									4
4	30	27										5
4	20											6
5	75	72	69	66	63	60						0
5	65	62	59	56	53							1
5	55	52	49	46								2
5	45	42	39									3
5	35	32										4
5	25											5
6	70	67	64	61	58							0
6	60	57	54	51								1
6	50	47	44									2
6	40	37										3
6	30											4
7	65	62	59	56								0
7	55	52	49									1
7	45	42										2
7	35											3
8	60	57	54									0
8	50	47										1
8	40											2
9	55	52										0
9	45											1
10	50											0

3.3. Procedimento estatístico

O experimento foi instalado no delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. A análise de variância foi realizada em esquema fatorial (5 x 3), sendo 5 cultivares x 3 teores de água das sementes. Para os fatores qualitativos, a comparação entre as médias foi realizada pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Foram calculados os coeficientes de correlação de Pearson (r) entre Índice de Viabilidade obtido no teste de coloração de exsudato e os demais testes utilizados para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes; a significância dos valores de r foi determinada pelo teste t, a 1 e 5% de probabilidade (DIAS e BARROS, 2009).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ensaio 1

Na Tabela 2 encontram-se os resultados referentes aos testes de avaliação da qualidade fisiológica das sementes. Verifica-se que a porcentagem de germinação das sementes do lote 1 foi significativamente superior à obtida para as sementes do lote 3, enquanto os demais lotes apresentaram qualidade fisiológica intermediária. No teste de envelhecimento acelerado, os lotes 4 e 6 foram classificados como mais vigorosos em relação ao lote 3, identificado como o de pior qualidade fisiológica, ficando os demais lotes em posição intermediária. Assim, tanto pelo teste de germinação como pelo de envelhecimento acelerado houve coerência quanto à indicação do lote de pior qualidade, ou seja, o lote 3. Pelo teste de condutividade elétrica, os lotes 1 e 6 tiveram desempenho inferior ao dos lotes 2 e 4, indicados como os de melhor qualidade, sendo o lote 3 (identificado nos testes de germinação e envelhecimento como de pior qualidade) classificado como de qualidade fisiológica intermediária. Portanto, os resultados deste teste não foram coerentes com os obtidos nos testes de germinação e envelhecimento acelerado quanto à classificação dos lotes em níveis de qualidade.

Para o teste de coloração de exsudatos, é possível observar na Tabela 3 que, em todos os períodos de embebição, houve separação dos lotes em níveis de qualidade fisiológica. Em geral, nos períodos de 24, 96 e 120 horas de embebição, observou-se pior desempenho para o lote 6 em relação ao lote 4, o de melhor desempenho. Já nos períodos de 48 e 72 horas, foram classificados como de pior qualidade os lotes 1, 3 e 6, permanecendo o lote 4 como o de melhor desempenho. Porém, estes resultados não se mostraram coerentes com os apresentados pelos demais testes realizados, principalmente com relação ao lote de pior qualidade (Tabela 2).

De acordo com observações feitas durante a condução do teste de coloração de exsudato concluiu-se que a metodologia adotada para a avaliação dos resultados precisaria ser modificada para que houvesse relação com os resultados dos demais testes, ou seja, que realmente exprimisse a qualidade das sementes.

Tabela 2. Valores médios obtidos nos testes de germinação (Germ), condutividade elétrica (CE) e envelhecimento acelerado (EA) das sementes de seis lotes de café.

Lote	Germ (%)		CE (µs/cm/g)		EA (%)	
1	84,5	A	23,53	A	54,5	AB
2	78,5	AB	12,67	C	55,0	AB
3	66,0	B	20,76	AB	41,5	B
4	83,3	AB	11,78	C	69,5	A
5	80,5	AB	17,19	B	53,5	AB
6	74,5	AB	21,48	A	64,0	A
C.V (%)	10,36		9,38		13,36	

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Tabela 3. Valores médios obtidos nos testes de coloração de exsudatos das sementes de seis lotes de café, após diferentes períodos de embebição.

	Período de embebição									
Lote	**24h**		**48h**		**72h**		**96h**		**120h**	
1	7,3	AB	8,5	A	10,5	A	10,8	AB	11,0	AB
2	4,5	AB	4,8	AB	6,8	AB	7,8	AB	7,8	AB
3	7,8	AB	8,5	A	10,3	A	11,0	AB	11,8	A
4	0,0	B	0,0	B	0,0	B	1,5	B	2,0	B
5	4,5	AB	5,8	AB	5,8	AB	6,3	AB	6,8	AB
6	9,3	A	10,8	A	10,8	A	11,3	A	11,8	A
CV (%)	36,82		42,43		27,32		18,17		16,53	

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Por exemplo, se na avaliação de dois lotes, A e B, com 10 sementes por repetição, conforme Figura 3 e Figura 4, respectivamente, ambos apresentam cinco sementes que originaram exsudato de intensidade leve, a qual se atribuía o valor 1, cinco sementes que originaram exsudato de intensidade forte, a qual se atribuía o valor 3, essa repetição teria uma soma de 20 pontos (5 leves x 1 + 5 fortes x 3 = 5 + 15 = 20). Supondo que isto também ocorra nas demais repetições, a média de cada lote será 20 pontos.

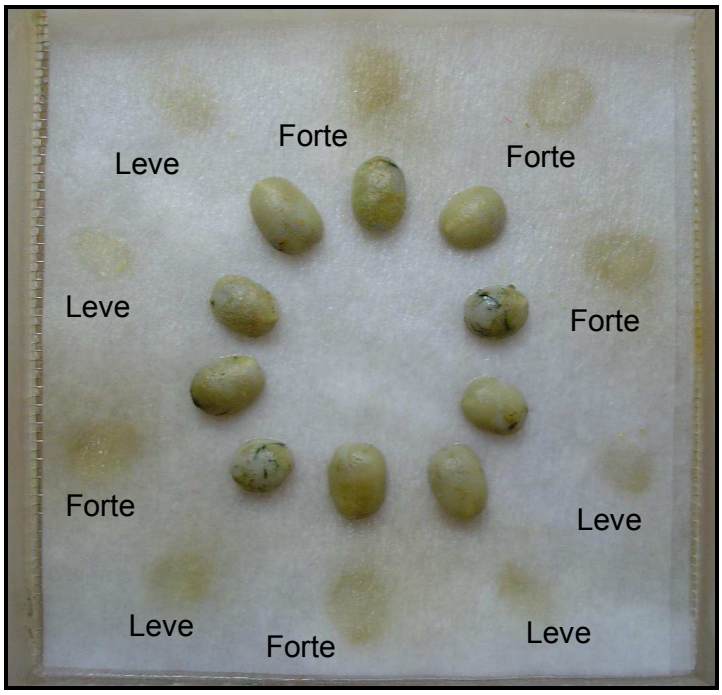

Figura 3. Ilustração das intensidades de coloração obtidas na avaliação do lote A, utilizando três classes de intensidade de coloração (ausente, leve e forte), e média igual a 20.

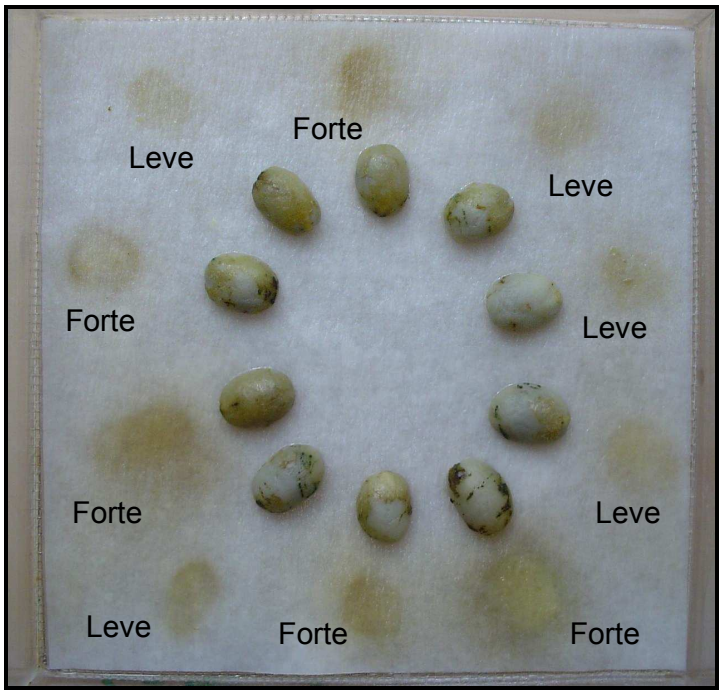

Figura 4. Ilustração das intensidades de coloração obtidas na avaliação do lote B, utilizando três classes de intensidade de coloração (ausente, leve e forte), e média igual a 20.

Assim, através dessa metodologia, não foi possível diferenciar os lotes, uma vez que apresentam as mesmas quantidades de sementes que originaram classes de intensidade de coloração. Foi proposta, então, outra metodologia (Ensaio 2) para a avaliação do teste de coloração de exsudatos, na qual passou a ser considerada a classe média de intensidade de coloração, tornando a avaliação mais precisa , atribuindo-se também novos valores a cada classe de intensidade, proporcionando, então, o ajuste necessário para que os resultados fossem compatíveis com os resultados de viabilidade das sementes, cujo exemplo será descrito mais abaixo, na discussão do Ensaio 2.

Ensaio 2

Na Figura 5 encontram-se os resultados referentes aos testes de avaliação da qualidade das sementes com teores de água de 12%. Observa-se que as sementes do lote 4 apresentaram germinação superior à dos lotes 2, 3 e 5 não diferindo significativamente apenas das sementes do lote 1, resultados estes semelhantes aos obtidos no teste de emergência de plântulas, onde o lote 4 foi superior aos demais. Já pela primeira contagem de germinação, verifica-se melhor desempenho para as sementes do lote 1 em relação aos demais ficando o lote 4 em posição intermediária. No teste de envelhecimento acelerado observa-se que os lotes 1, 2, 3 e 4 não diferiram significativamente entre si, sendo superiores ao lote 5, classificado como o de pior desempenho.

Quando foram utilizadas sementes com teores de água de 20% (Figura 6), não foi possível constatar diferenças significativas entre os lotes nos testes de germinação, primeira contagem de germinação e emergência de plântulas. Apenas pelo teste de envelhecimento acelerado verificou-se a superioridade dos lotes 2 e 4 em relação aos demais. Observa-se ainda que os valores absolutos obtidos quando este teste foi conduzido com sementes com 20% de água foram superiores aos observados para sementes com 12% de água (Figura 5). Este fato é difícil de ser explicado, pois, geralmente, sementes mais úmidas são mais sensíveis aos efeitos das condições de alta temperatura e umidade relativa empregados neste teste, que contribuem para acelerar o processo de deterioração das sementes, resultando em menor porcentagem de germinação após o envelhecimento acelerado.

As sementes do lote 5 com teores de água de 30% (Figura 7) tiveram germinação, tanto na primeira contagem como na contagem final, significativamente inferior às dos demais lotes. Nota-se que sementes deste lote com teores de água de 12% também tiveram germinação inferior à obtida para os lotes 1 e 4, porém não diferindo dos lotes 2 e 3. A primeira contagem do teste de germinação das sementes com teores de água de 30% foi baixa para todos os lotes, em comparação com os valores obtidos para sementes com 12% e 20% de água.

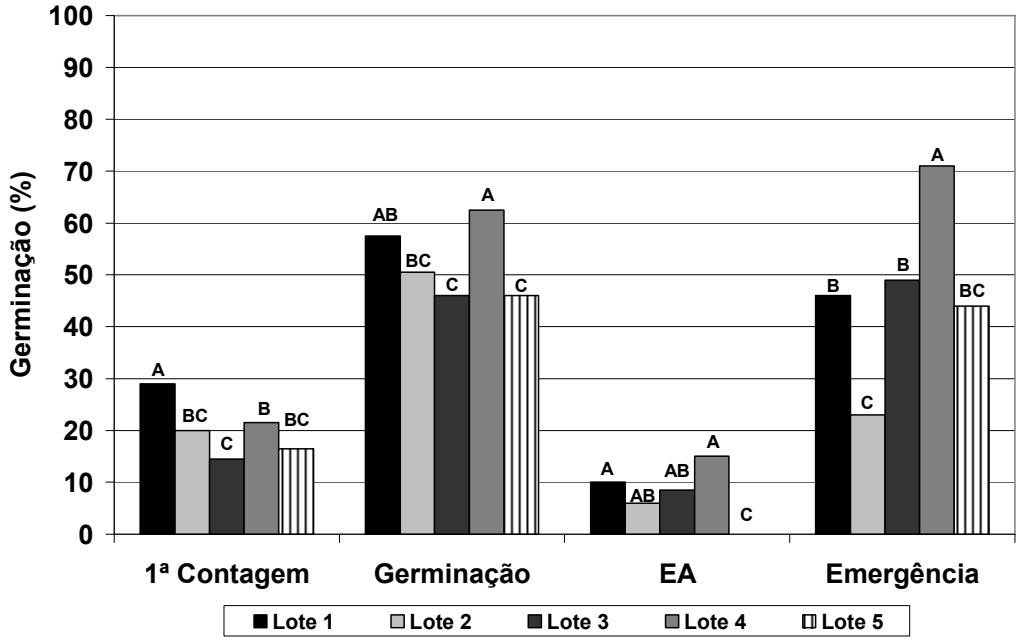

Figura 5. Resultados dos testes de avaliação da qualidade das sementes dos cinco lotes de café com teores de água de 12%. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

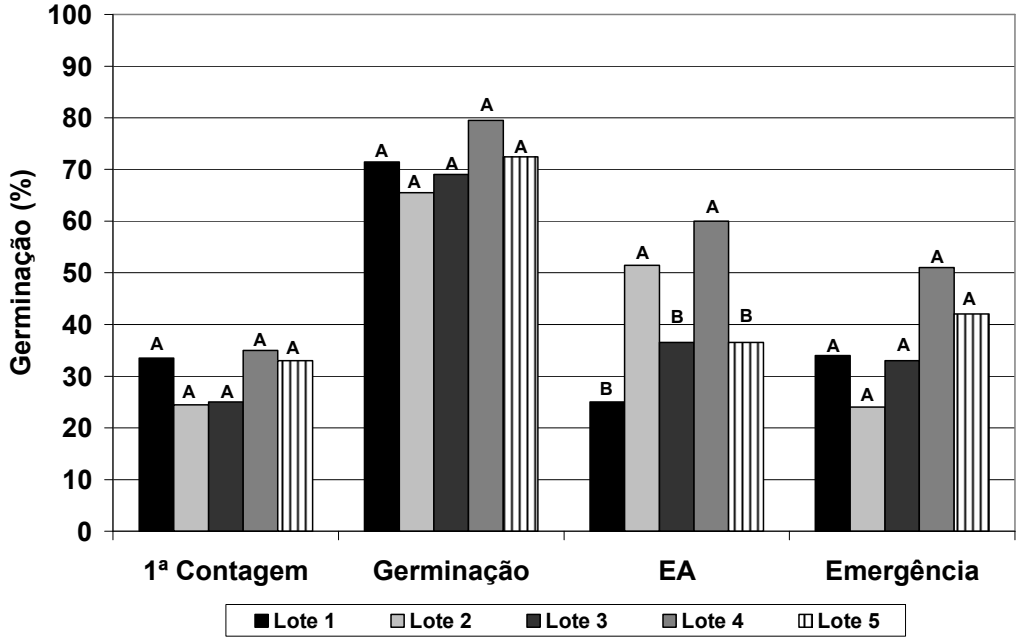

Figura 6. Resultados dos testes de avaliação da qualidade das sementes dos cinco lotes de café com teores de água de 20%. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

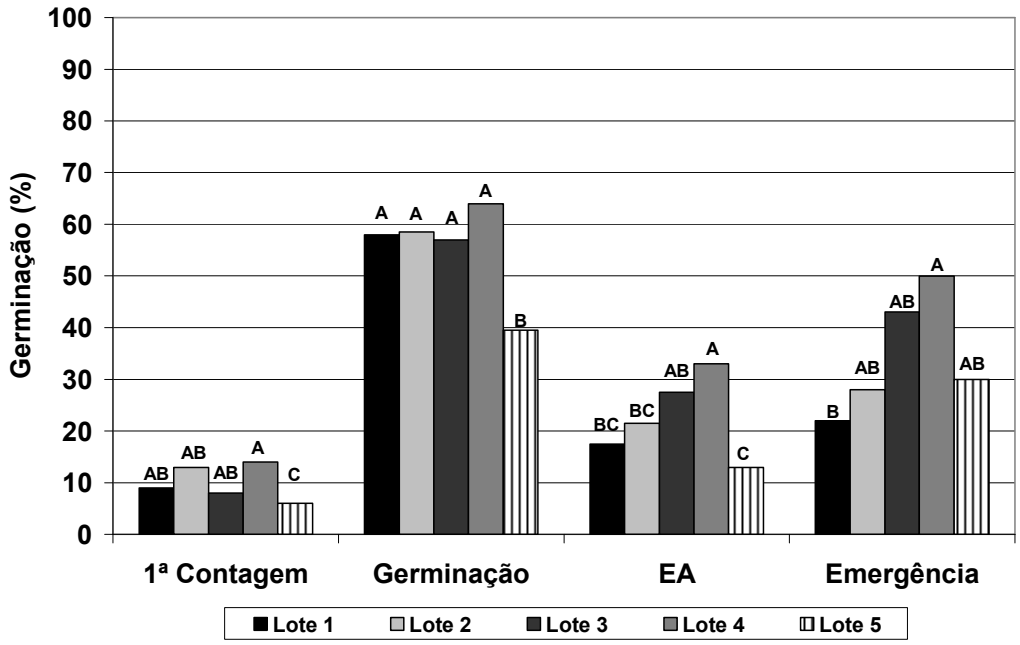

Figura 7. Resultados dos testes de avaliação da qualidade das sementes dos cinco lotes de café com teores de água de 30%. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Para todos os lotes estudados, foram observados valores absolutos de germinação inferiores para sementes com teores de água de 12% comparados aos obtidos para sementes com 20 e 30% de umidade (Figuras 6 a 7). Resultados semelhantes foram encontrados por BRACCINI et al. (1999) e BRAGHINI e FAZUOLI (2007), em trabalho com sementes de café com diferentes teores de água e em diferentes condições de armazenamento, concluindo que sementes com teores de água em torno de 35% apresentaram maiores porcentagens de germinação.

Pelo teste de envelhecimento acelerado (Figura 7), verifica-se maior vigor para as sementes do lote 4 que não diferiram das do lote 3, sendo ambos os lotes superiores ao lote 5. Já pelos resultados de emergência de plântulas, praticamente não houve diferença significativa entre os lotes 2, 3, 4 e 5, sendo o lote 4 superior ao lote 1. Nota-se que para sementes com 12% de água (Figura 5), neste teste, maior valor foi obtido para o lote 4, que foi superior aos demais.

Verifica-se que o teste de condutividade elétrica não foi eficiente para classificar os lotes em níveis de qualidade fisiológica, em todos os períodos de avaliação, quando realizado com sementes com teores de água de 12 e 20% (Tabela 4). Para sementes com teores de água de 30%, no período de 24 horas, também não foi possível a separação dos lotes em níveis de qualidade. Já nos períodos de 48, 72 e 96 horas (sementes com 30% de umidade) verificou-se a superioridade dos lotes 2 e 4 em relação ao lote 5, sendo os lotes 1 e 3 classificados como de qualidade intermediária. No período de 120 horas, tanto os lotes 2 e 4 como o lote 3, foram superiores ao lote 5, permanecendo o lote 1 na classe intermediária.

Trabalhando com diferentes métodos de secagem, LIMA et al. (2003) concluíram que o teste de condutividade elétrica não permitiu classificar os lotes em níveis de vigor quando as sementes foram secas naturalmente. O teste de condutividade elétrica foi eficiente apenas quando se utilizou o período de embebição de 48 horas, classificando os lotes em diferentes níveis de danos de secagem.

Em síntese, de modo geral, considerando a maioria dos testes aplicados, verifica-se melhor desempenho para as sementes do lote 4, principalmente com teor de água de 12 e 30%, destacando-se, em alguns testes, o lote 5 como de pior qualidade (Figuras 5 e 7).

Os índices de viabilidade das sementes calculados com base nos resultados do teste de coloração do exsudato (Figura 8) conduzido com sementes com 12% de umidade e embebidas por 72, 96 e 120 horas, indicam melhor qualidade fisiológica para as sementes dos lotes 1 e 4 e menor qualidade para as sementes dos lotes 2, 3 e 5 que não diferiram entre si.

Nota-se que com 24 horas de embebição, também foram classificados como lotes de melhor qualidade os lotes 1 e 4, embora neste período o lote 1 não tenha diferido significativamente do lote 5, que por sua vez foi similar aos lotes de menor qualidade (lotes 2 e 3). Verifica-se, no período de 48 horas de embebição, melhor desempenho também para os lotes 1 e 4 e pior desempenho para o lote 2, ficando o lote 5 em posição intermediária.

À semelhança do que foi observado nos testes de avaliação da qualidade fisiológica (Figura 6), também no teste de coloração de exsudato não foi possível detectar diferença significativa entre a qualidade dos cinco lotes estudados quando as sementes apresentavam teores de água de 20% (Figura 9). Verifica-se que as sementes de todos os lotes apresentaram valores semelhantes para o índice de viabilidade. Pelo teste de

envelhecimento acelerado (Figura 6), observa-se que as sementes dos lotes 2 e 4 foram superiores às dos demais lotes, o que não foi detectado pelo teste de coloração do exsudato.

Tabela 4. Resultados do teste de condutividade elétrica (µS/cm/g) das sementes dos cinco lotes de café, com teores de água de 12, 20 e 30%, após os períodos de 24, 48, 72, 96 e 120 horas de embebição.

		Condutividade elétrica (µS/cm/g)				
Umidade	**Lote**	**24 h**	**48 h**	**72 h**	**96 h**	**120 h**
12%	**1**	24.48 a	30.13 a	35.78 a	40.93 a	45.90 a
	2	24.73 a	30.13 a	35.83 a	41.88 a	48.53 a
	3	26.10 a	32.05 a	39.00 a	44.58 a	49.03 a
	4	22.63 a	27.05 a	30.10 a	33.93 a	37.78 a
	5	25.95 a	32.15 a	37.75 a	44.73 a	48.30 a
	Lote	**24 h**	**48 h**	**72 h**	**96 h**	**120 h**
20%	**1**	20.55 a	26.20 a	30.85 a	35.10 a	40.18 a
	2	20.53 a	25.30 a	29.63 a	34.43 a	38.28 a
	3	22.10 a	27.90 a	32.68 a	37.10 a	40.65 a
	4	19.03 a	22.73 a	26.25 a	28.83 a	31.35 a
	5	21.33 a	26.10 a	30.35 a	34.63 a	39.53 a
	Lote	**24 h**	**48 h**	**72 h**	**96 h**	**120 h**
30%	**1**	20.48 a	27.10 ab	32.95 ab	35.58 ab	44.53 ab
	2	18.93 a	22.43 b	29.88 b	32.95 b	41.58 b
	3	21.23 a	27.68 ab	32.63 ab	34.40 ab	40.38 b
	4	18.90 a	23.18 b	26.65 b	26.73 b	31.83 b
	5	23.30 a	32.48 a	40.93 a	45.20 a	56.23 a
CV (%)		**9,97**	**12,66**	**12,66**	**12,70**	**13,66**

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Por outro lado, para sementes com 30% de água (Figura 10), houve diferença significativa entre os lotes em todos os períodos de embebição. No período de 24 horas foi possível constatar a superioridade dos lotes 1, 3 e 4 em relação ao lote 5, ficando o lote 2 em posição intermediária. Nota-se, em todos os períodos de embebição, que, em geral, as sementes do lote 5 tiveram índices de viabilidade inferiores, principalmente em relação aos obtidos para os lotes 1, 3 e 4.

Pelas Figuras 8, 9 e 10, é possível observar, tanto para lotes de alto e baixo Índice de Viabilidade, maior intensidade de coloração originada das sementes, conseqüentemente, menores valores de Índice de Viabilidade, quando essas se encontravam com teores de água de 12%, comparadas às obtidas para sementes com teores de água de 20 e 30%.

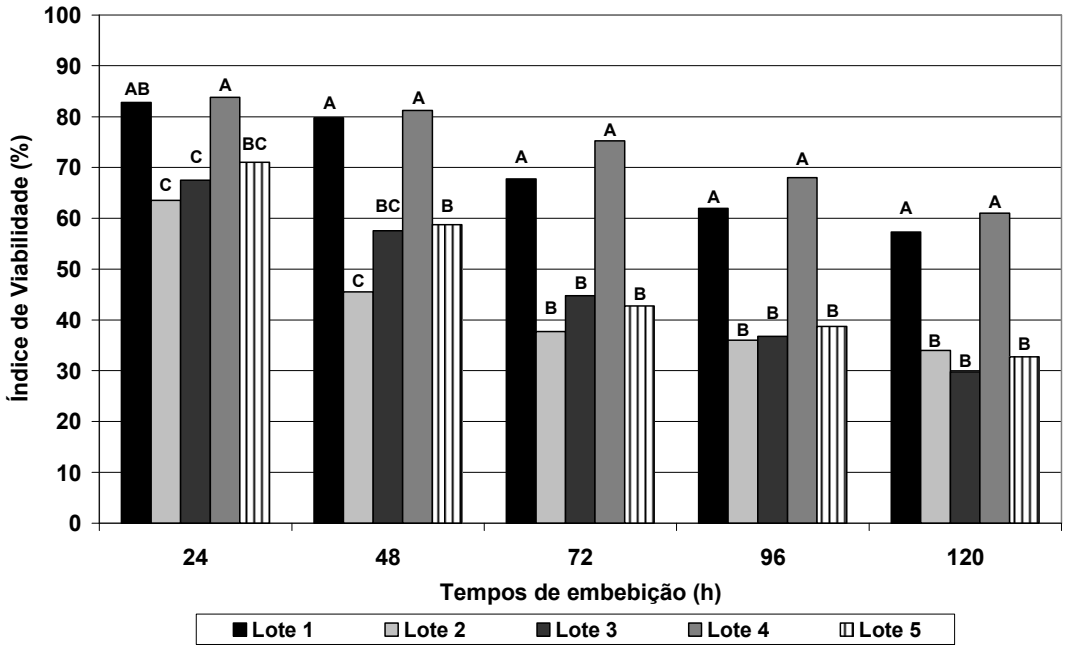

Figura 8. Índice de Viabilidade das sementes de café, de cinco lotes, com teores de água de 12%, após diferentes períodos de embebição. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

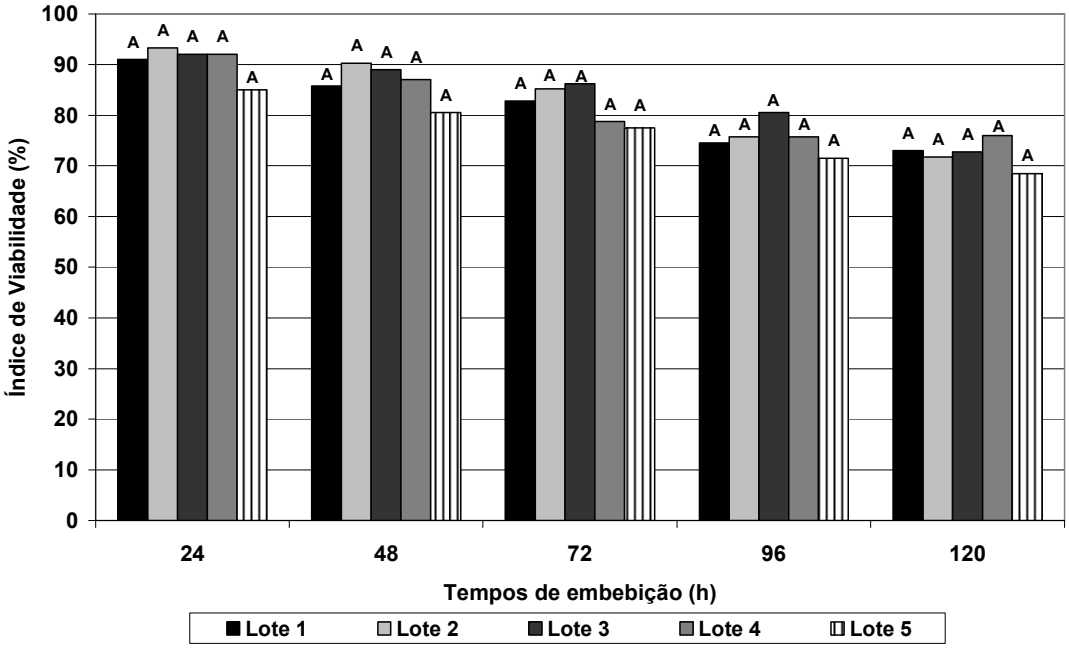

Figura 9. Índice de Viabilidade das sementes de café, de cinco lotes, com teores de água de 20%, após diferentes períodos de embebição. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

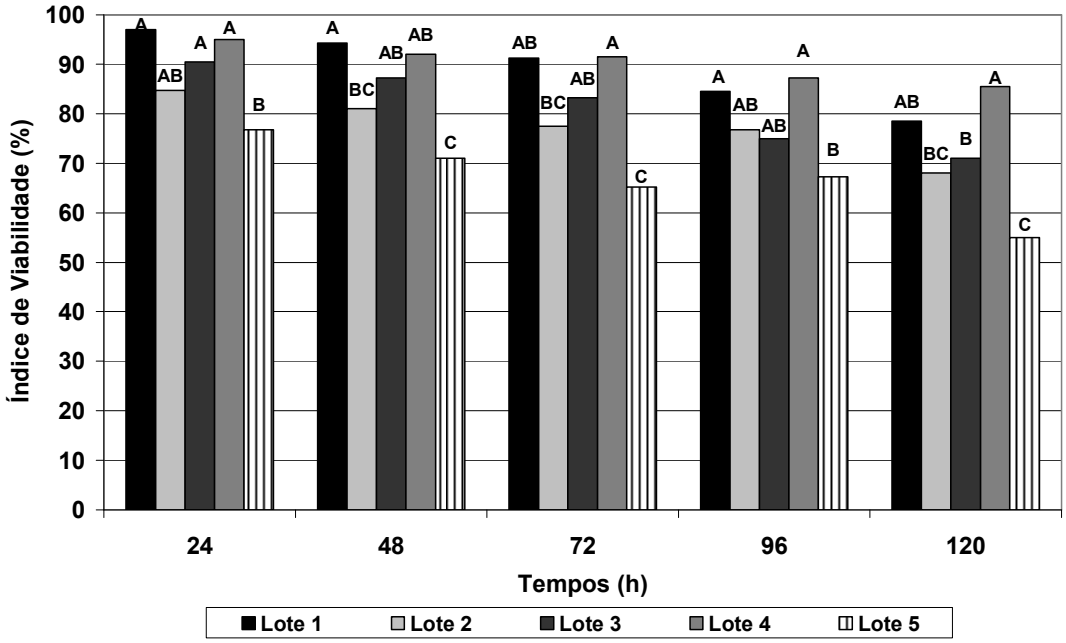

Figura 10. Índice de Viabilidade das sementes de café, de cinco lotes, com teores de água de 30%, após diferentes períodos de embebição. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Confrontando os resultados obtidos nos testes de coloração do exsudato (índices de viabilidade) com aqueles observados nos demais testes de avaliação da qualidade fisiológica das sementes, pode-se afirmar que, de modo geral, houve concordância entre os testes quanto à superioridade das sementes do lote 4 e a inferioridade das sementes do lote 5, na maioria dos testes realizados.

De um modo geral, os resultados mais promissores foram obtidos com sementes com 12% de umidade após períodos de embebição de 72, 96 e 120 horas, e com sementes com 30% de umidade após períodos de embebição de 72 e 120 horas.

Assim, quando foi utilizada a nova metodologia de avaliação, separando intensidades de coloração média da intensidade de coloração forte, tem-se que o mesmo lote A exemplificado anteriormente no Ensaio 1 (Figuras 3), apresenta em uma repetição cinco sementes que originaram exsudato de intensidade leve, a qual se atribuí o valor 3, três sementes que originaram exsudato de intensidade média, a qual se atribui o valor 5, e três sementes que originaram exsudato de intensidade forte, a qual se atribui o valor 10, conforme Figura 11, essa repetição terá um IV de 50% {IV = 100 - (5 leves x 3 + 3

médias x 5 + 2 fortes x 10) = 100 – 50 = 50%}. Supondo que isto também ocorresse nas demais repetições, o lote A apresentará um IV médio de 50%.

Considerando agora o lote B, exemplificado acima no Ensaio 1 (Figuras 4), o qual apresenta em uma repetição cinco sementes que originaram exsudato de intensidade leve, a qual se atribuí o valor 3, uma sementes que originaram exsudato de intensidade média, a qual é atribuído o valor 5, e quatro sementes que originaram exsudato de intensidade forte, a qual é atribuído o valor 10, conforme Figura 12, essa repetição terá um IV de 40% {IV = 100 - (5 leves x 3 + 1 média x 5 + 4 fortes x 10) = 100 – 60 = 40%}. Supondo também uma homogeneidade entre as repetições, o IV médio desse lote será 40%.

Assim, por meio da nova metodologia proposta, na qual foi incluída uma nova classe de intensidade de coloração (média), sendo atribuídos novos valores a cada classe, juntamente com o Índice de Viabilidade, é possível diferenciar lotes de sementes de café através do teste de coloração de exsudatos.

Na Figura 13 é possível observar diferenças na intensidade de coloração originada de sementes dos cinco lotes, e seus respectivos Índices de Viabilidade, após o período de 120 horas de embebição no teste de coloração de exsudatos. Lotes com maiores Índices de Viabilidade, como o lote 4, apresentam intensidades de coloração menos evidentes, enquanto lotes com Índices de Viabilidade menores, como os lotes 2, 3 e 5, apresentam intensidades de coloração mais forte e em maiores quantidades.

Comparando as ilustrações do teste realizado com sementes com teores de água de 12%, Figura 13, com as do teste realizado com sementes com teores de água de 20 e 30%, Figuras 14 e 15, respectivamente, é evidente a diferença na intensidade de coloração dos exsudatos obtidas ao final do teste. Embora tenha apresentado correlação com o teste de germinação tanto para sementes com alta e baixa umidade, é possível observar que sementes com teores de água de 12% proporcionam melhores condições para avaliação das intensidades de coloração, facilitando sua avaliação pelo teste, já sementes com teores de água mais elevados, permitem uma menor lixiviação, proporcionando intensidade de coloração menos evidente.

Segundo BEWLEY e BLACK (1994), sementes totalmente ou parcialmente hidratadas, apresentam menor lixiviação de solutos quando colocadas para embeber em meio úmido. Assim, sementes com teores de água de 20 e 30% apresentarem valores absolutos de Índices de Viabilidade maiores quando comparados aos obtidos com as sementes com teores de água de 12%, ou seja, originaram coloração menos intensas no

teste de coloração de exsudatos, uma vez que as membranas já encontravam-se parcial ou totalmente organizadas, permitindo uma menor exsudação.

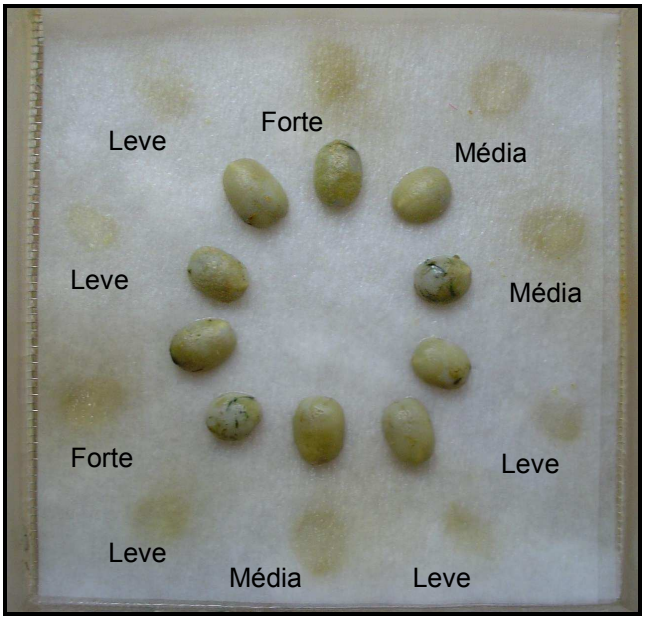

Figura 11. Ilustração das colorações dos exsudatos obtidas na avaliação do lote A, adotando-se quatro classes de intensidade (ausente, leve, média e forte) e o IV = 50%.

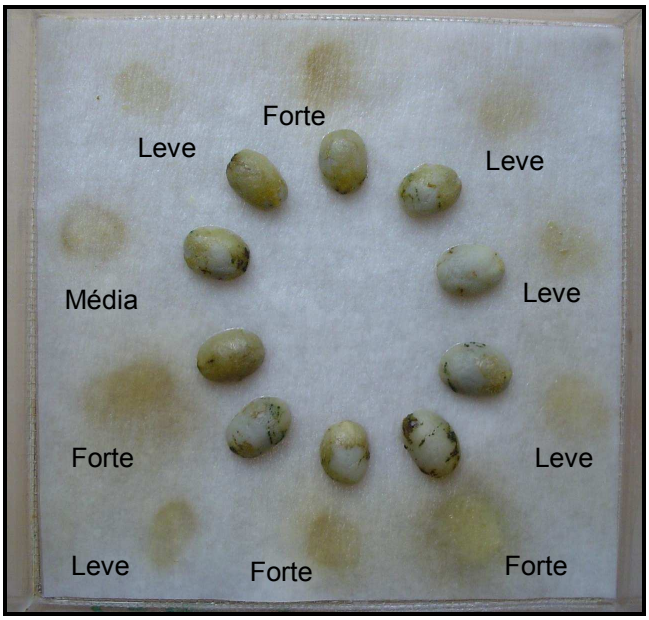

Figura 12. Ilustração das colorações dos exsudatos obtidas na avaliação do lote B, adotando-se quatro classes de intensidade (ausente, leve, média e forte) e o IV = 40%.

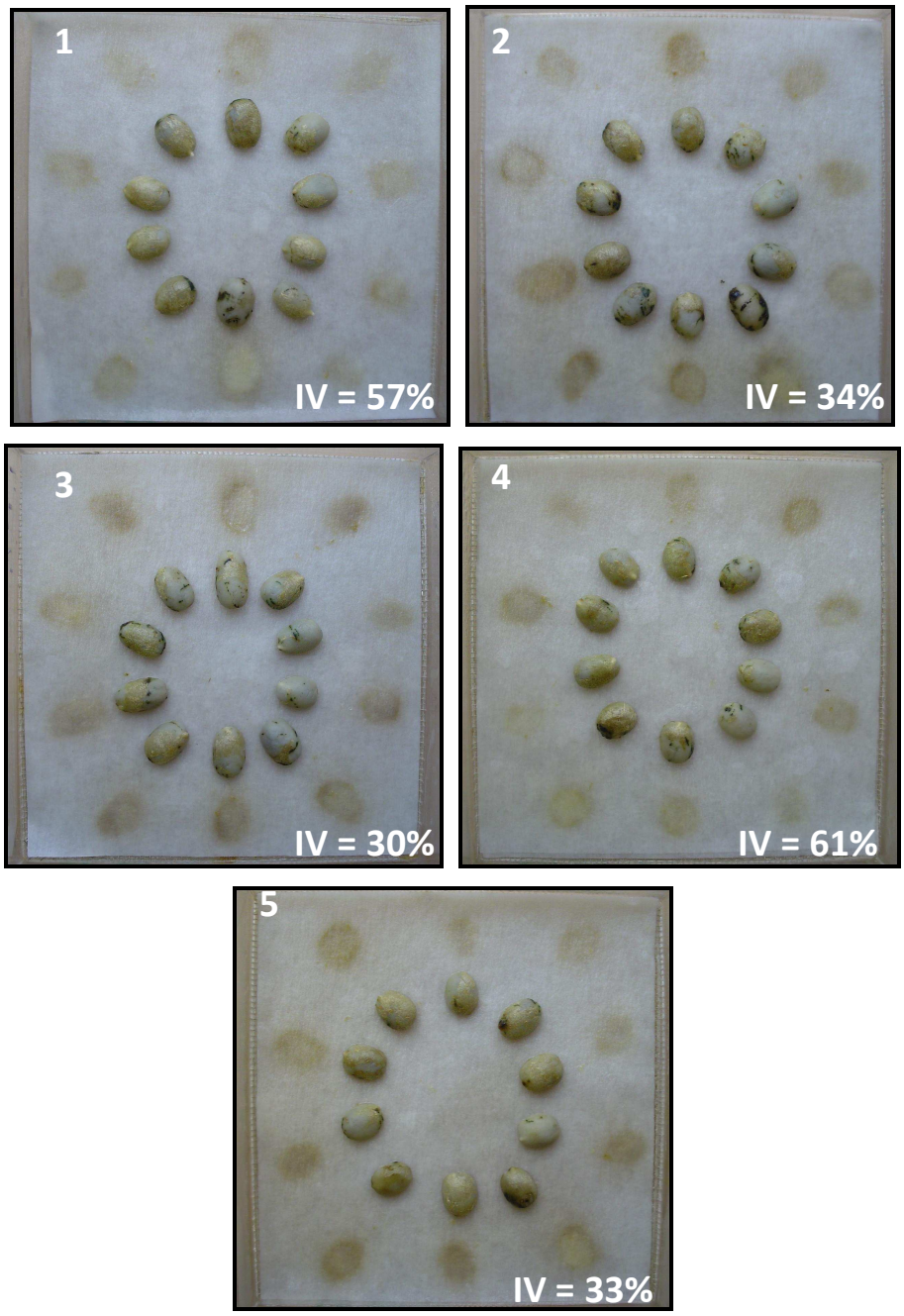

Figura 13. Ilustrações das colorações de exsudatos obtidas na avaliação dos cinco lotes, com sementes com teores de água de 12%, após 120 horas de embebição, e seus respectivos Índices de Viabilidade (IV).

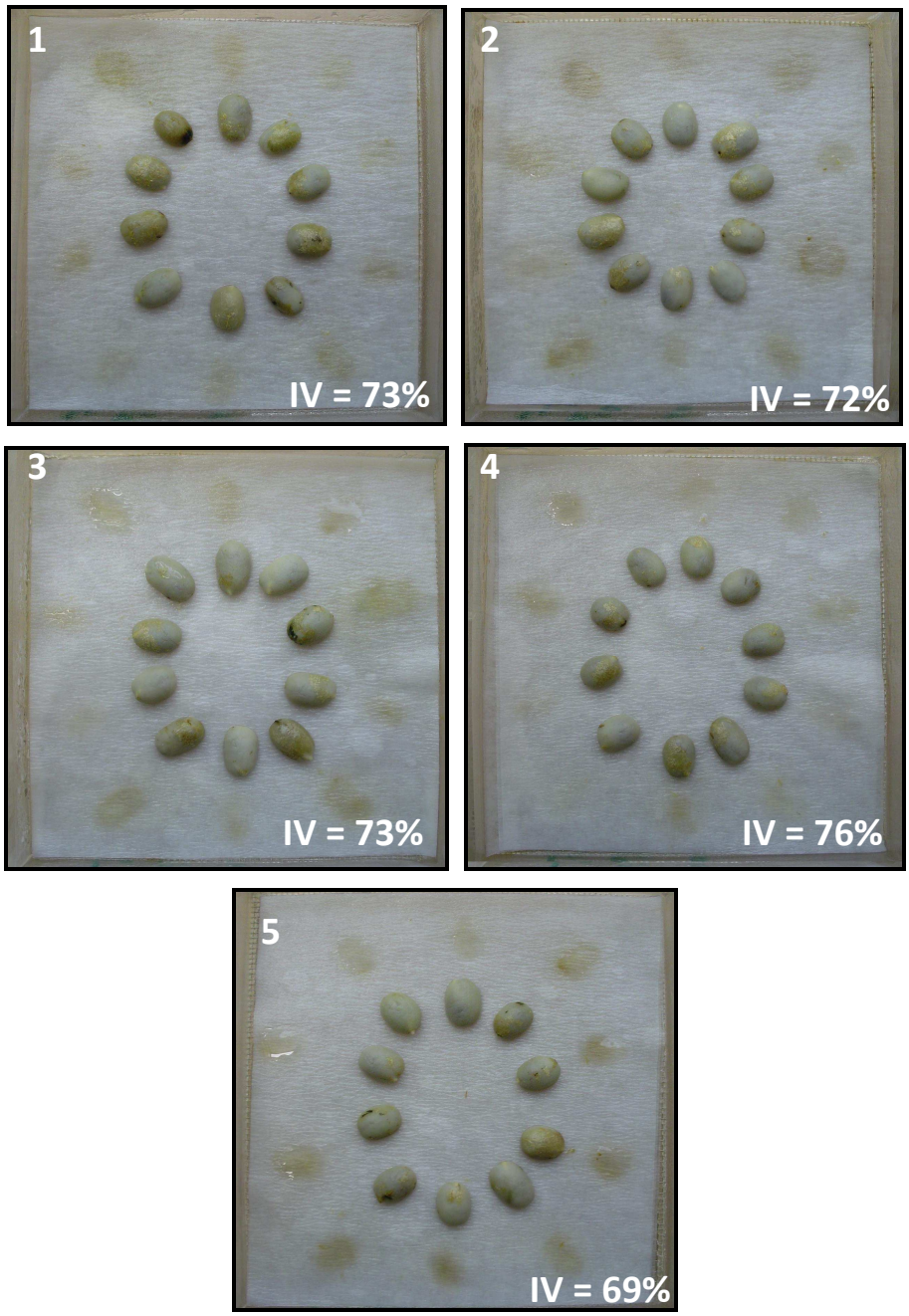

Figura 14. Ilustrações das colorações de exsudatos obtidas na avaliação dos cinco lotes, com sementes com teores de água de 20%, após 120 horas de embebição, e seus respectivos Índices de Viabilidade (IV).

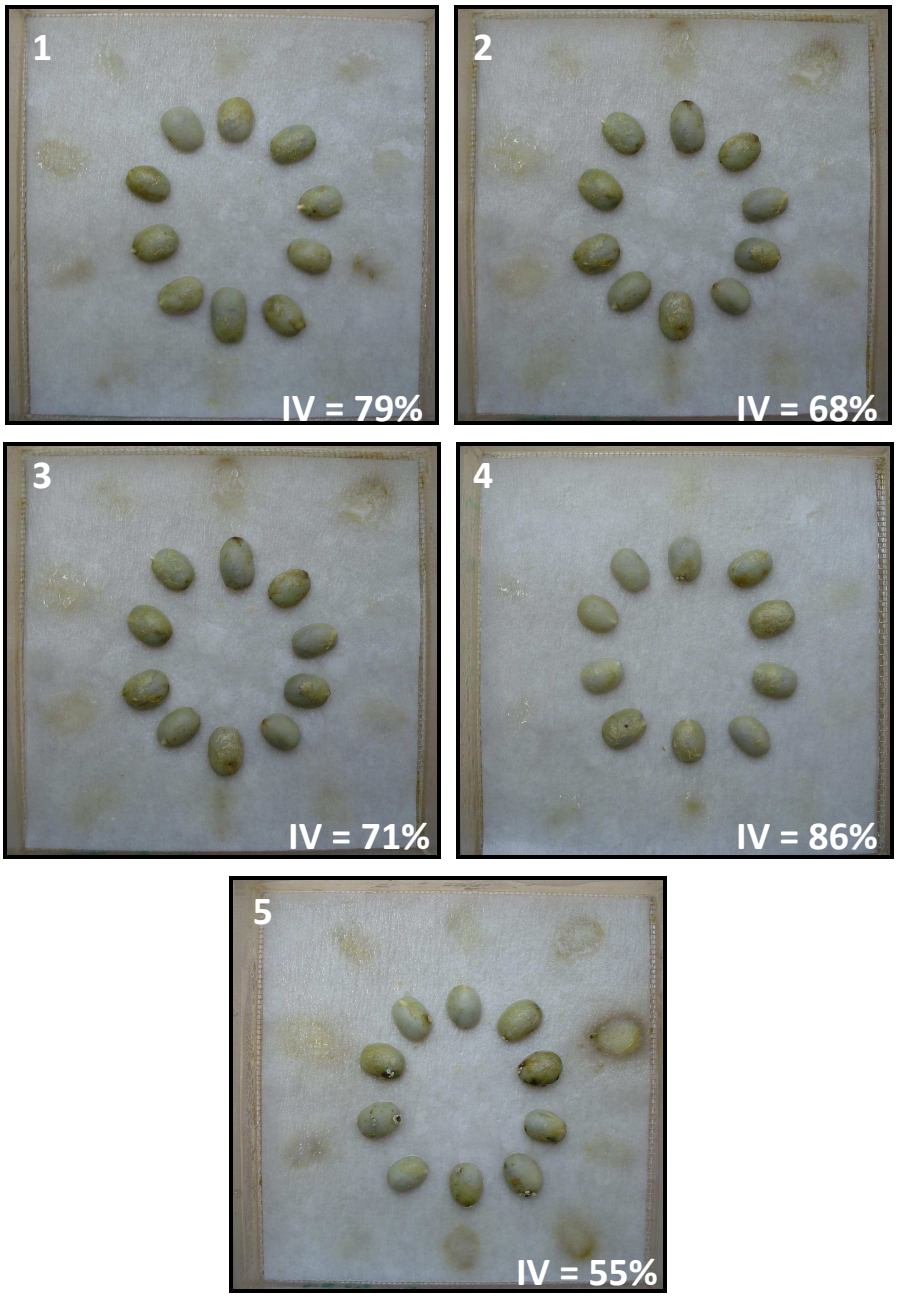

Figura 15. Ilustrações das colorações de exsudatos obtidas na avaliação dos cinco lotes, com sementes com teores de água de 30%, após 120 horas de embebição, e seus respectivos Índices de Viabilidade (IV).

Na Tabela 5 encontram-se os coeficientes de correlação entre os períodos de embebição do teste de coloração de exsudatos e os demais testes realizados quando se utilizaram sementes com teores de água de 12%. Houve correlação significativa entre os resultados do teste de coloração de exsudatos nos períodos de 72, 96 e 120 horas de embebição e os do teste de germinação, indicando que o novo teste proposto fornece resultados associados aos de germinação, podendo ser utilizado para estimar a viabilidade das sementes de café em período de tempo inferior ao necessário para a condução do teste de germinação (pelo menos 30 dias). Este é um aspecto importante para a tomada de decisões quanto ao destino dos lotes logo após a colheita, durante o processamento, armazenamento e comercialização.

Para sementes com teores de água de 20% (Tabela 6) não houve correlação significativa entre os resultados do teste de coloração de exsudatos e germinação, reforçando os resultados da Figura 9. É difícil encontrar uma explicação para este comportamento, e a continuidade dos estudos relacionados a este teste, empregando-se lotes com níveis de qualidade e de umidade bastante distintos poderá auxiliar neste esclarecimento.

Na Tabela 7 verifica-se, altas correlações com os resultados do teste de germinação, significativas para 72 e 120 horas, quando foram utilizadas sementes com teores de água de 30%, indicando que para sementes com teores de água elevados o teste de coloração do exsudato pode ser utilizado para estimar a viabilidade, uma vez que fornece resultados relacionados à germinação do lote.

Importante considerar que para a condução do teste de coloração de exsudatos não são necessários equipamentos e materiais específicos além daqueles tradicionalmente utilizados para a realização do teste de germinação, o que torna o novo teste interessante, uma vez que permite a avaliação rápida da viabilidade de sementes de café.

Em síntese, como o teste de coloração de exsudatos não apresentou correlação com os testes de envelhecimento acelerado, condutividade elétrica, emergência e primeira contagem de germinação utilizados para avaliação do vigor, ele deve ser utilizado para estimar a viabilidade das sementes de café, pois apresentou alta correlação com os resultados de germinação.

Na Tabela 8 encontram-se os percentuais de uma semente originar uma plântula normal ou anormal, ou ser morta, comparando-se os resultados obtidos na avaliação da intensidade de coloração no teste de coloração de exsudatos após o período de 120 horas

Tabela 5. Coeficientes de correlação simples (r) entre os testes de germinação (Germ), primeira contagem de germinação (1ª Cont), envelhecimento acelerado (EA), condutividade elétrica e emergência de plântulas (Emerg) e os obtidos nos testes de coloração de exsudatos (Exs) após 24, 48, 72, 96 e 120 horas de embebição, conduzidos com sementes com teores de água de 12%.

	Germ	1ª Cont	EA	Emerg	Exs 24	Exs 48	Exs 72	Exs 96	Exs 120
Germ	1,00	0,75	0,83	0,58	0,85	0,80	**0,91 ***	**0,95 ***	**0,97 ****
1ª Cont	-	1,00	0,53	0,08	0,67	0,63	0,67	0,72	0,79
EA	-	-	1,00	0,64	0,65	0,67	0,80	0,77	0,76
Emerg	-	-	-	1,00	0,76	0,80	0,79	0,73	0,63

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

Tabela 6. Coeficientes de correlação simples (r) entre os testes de germinação (Germ), primeira contagem de germinação (1ª Cont), envelhecimento acelerado (EA), condutividade elétrica e emergência de plântulas (Emerg) e os obtidos nos testes de coloração de exsudatos (Exs) após 24, 48, 72, 96 e 120 horas de embebição, conduzidos com sementes com teores de água de 20%.

	Germ	1ª Cont	EA	Emerg	Exs 24	Exs 48	Exs 72	Exs 96	Exs 120
Germ	1,00	0,85	0,33	**0,97 ****	-0,18	-0,40	-0,76	-0,25	0,50
1ª Cont	-	1,00	-0,04	0,81	-0,44	-0,67	-0,84	-0,62	0,18
EA	-	-	1,00	0,31	0,36	0,35	-0,22	0,06	0,48
Emerg	-	-	-	1,00	-0,35	-0,52	-0,83	-0,28	0,34

** significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.

de embebição com o teste de germinação individual das sementes, quando realizadas com teores de água de 12%.

Tabela 7. Coeficientes de correlação simples (r) entre os testes de germinação (Germ), primeira contagem de germinação (1ª Cont), envelhecimento acelerado (EA), condutividade elétrica e emergência de plântulas (Emerg) e os obtidos nos testes de coloração de exsudatos (Exs) após 24, 48, 72, 96 e 120 horas de embebição, conduzidos com sementes com teores de água de 30%.

	Germ	1ª Cont	EA	Emerg	Exs 24	Exs 48	Exs 72	Exs 96	Exs 120
Germ	1,00	0,80	0,79	0,39	0,84	0,86	**0,90 ****	0,87	**0,90 ****
1ª Cont	-	1,00	0,67	0,36	0,44	0,47	0,57	0,69	0,67
EA	-	-	1,00	0,87	0,59	0,59	0,66	0,59	0,73
Emerg	-	-	-	1,00	0,24	0,24	0,62	0,22	0,41

** significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.

Tabela 8. Frequência (%) de uma semente originar plântula normal ou anormal ou ser semente morta, comparando os resultados obtidos no teste de coloração de exsudatos com a germinação individual das sementes, quando essas se encontravam com teores de água de 12%.

	Intensidade de coloração											
	Ausente			Leve			Média			Forte		
	Plântula / Semente			Plântula / Semente			Plântula / Semente			Plântula / Semente		
Lote	**Normal**	**Anormal**	**Morta**	**Normal**	**Anormal**	**Morta**	**Normal**	**Anormal**	**Morta**	**Normal**	**Anormal**	**Morta**
1	53	24	24	17	26	57						
2	57	29	14	20	20	60		50	50			100
3	63	31	6	53	32	16	20	40	40			
4	61	14	25	60	10	30			100			
5	63	37		62	31	8						
Frequência (%)	59	27	14	42	24	34	7	30	63			100

Sementes que não originaram intensidade de coloração visível apresentaram, em média, 59% de frequência de originarem plântulas normais, 27% de originarem plântulas anormais e 14% de frequência de ser uma semente morta. Para sementes que originaram

intensidades de coloração leve, a frequência de estas originarem plântulas normais foi de 42%, sendo 24% e 34%, respectivamente, as probabilidades das mesmas originarem plântulas anormais e sementes mortas. Para sementes que originaram intensidades de coloração média, essas apresentaram 7% de frequência de originar uma plântula normal, 30% de originar uma plântula anormal e 63% de ser uma semente morta. Já sementes que originaram intensidades de coloração forte, essas apresentaram 100% de frequência de serem mortas. Assim, a alta intensidade de coloração marrom nos exsudatos é forte indicativo da baixa qualidade fisiológica das sementes, indicando desorganização do sistema de membranas e, consequentemente, estádio avançado de deterioração. Por outro lado, a ausência de coloração marrom no exsudato não significa que essa semente irá dar origem a uma plântula normal, pois a anormalidade das plântulas não está relacionada apenas à deterioração das sementes, mas também a outros subprocessos da deterioração.

Como é possível observar na Tabela 8, sementes que apresentem ausência de coloração após um período de 120 horas de embebição, apresentaram 14% de frequência de serem sementes mortas, embora a maior probabilidade seja de que as mesmas originem plântulas normais.

Baseado nos resultados obtidos pode-se afirmar que à medida que se aumenta a intensidade de coloração do exsudato originado por uma semente, diminui significativamente a probabilidade dessa semente originar uma plântula normal e, conseqüentemente, aumenta a probabilidade desta originar uma plântula anormal ou ser uma semente morta.

5. CONCLUSÃO

- O teste de coloração do exsudato é promissor para avaliação rápida da viabilidade das sementes de café, especialmente quando conduzido com sementes com 12% de água, após períodos de embebição de 72, 96 e 120 horas. Também podem ser utilizadas sementes com 30% de água após embebição por 72 e 120 horas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL-BAKI, A.A. & ANDERSON, J.D. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. **Crop Science**, 13(6): 630-3, 1973.

ABDUL-BAKI, A.A. & BAKER, J.E. Are changes in cellular organelles or membranes related to vigor loss in seeds? **Seed Science and Technology**, v.1, n.1, p. 89-125, 1973.

BELING, R.R; REETZ, E.R; LINDEMANN, C.; SILVEIRA, D.; SANTOS, C. **ANUÁRIO BRASILEIRO DO CAFÉ**. Ed. Gazeta, 2009. 128p.

ANTEPARA, H.V.E. **Caracterização e avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja através do tetrazólio.** Pelotas: UFPel, 1979. 81p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Pelotas, 1979.

ARAÚJO, R.F.; ALVARENGA, E.M.; LIMA, W.A.A.; DIAS, D.C.F.S.; ARAÚJO, E.F. O uso do teste de tetrazólio para avaliar a viabilidade de sementes de café (Coffea arabica L.). Informativo ABRATES, v. 7, n. 1/2, p.109. 1997.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS - AOSA. **Seed vigor testing handbook.** East lasing: 1983. 88p

BENDAÑA, F.E. Fisiologia de las semillas de café. **Turrialba**, v.4, n.5, p.99-106, 1962.

BEWLEY, J. D. Membrane changes in seeds as related to germination and the perturbations resulting from deterioration in storage. In: Mc DONALD JR., M.B.; NELSON, C. J. (Ed.). **Physiology of seed deterioration**. CSSA, 1986. p. 27-45.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination.** New York: London Plenum Press, 1994. 367p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes.** Brasília, DF: 1992. 365p.

CARVALHO, M.V. **Determinação do fator de correção para condutividade elétrica em função do teor de água de sementes de soja [*Glycine max* (L.) Merrill].** Jaboticabal: Unesp, 1994. 36 p.

CARVALHO, M.M.; ALVARANGA, G. **Cultura do cafeeiro: parte II.** Lavras: ESSAL, 1993. 50p.

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

COSTA, P.S.C.; CARVALHO, M.L.M. Teste de condutividade elétrica individual na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de café (*Coffea arabica* L.). **Ciência e agrotecnologia**, v.30, n.1, p.92-96, 2006.

DEDECA, D.M. Anatomia e desenvolvimento ontogenético de *Coffea arabica* L. var. Typica Cramer. **Bragantia,** v.16, p. 315-355, 1957.

DELOUCHE, J.C. **Pesquisa em sementes no Brasil.** Brasília, DF: Ministério da Agricultura, 1975. 69 p.

DELOUCHE, J.C. Seed deterioration. Seed World, v.92, n.4, p14-15, 1963.

DELOUCHE, J.C. Standardization of vigor tests. **Seed Science and Technology**, v.1, n.2, p.75-85, 1976.

DELOUCHE, J.C.; BASKIN, N.C. Accelerated aging techniques for predicting the relativity storability of seed lots. **Seed Science and Technology,** v.1, p.427-452, 1973.

DESWAL, D.P.; SHEORAN, I.S. A simple method for seed leakage measurement: applicable to single seeds of any size. **Seed Science and Technology**, v.21, n.1, p.179-185, 1993.

DIAS, L.A.S.; BARROS, W.S. **Biometria Experimental**. 1. ed. Viçosa, MG: Suprema Gráfica e Editora Ltda, 2009. v. o. 408 p.

DIAS, M.C.L.L.; SILVA, W.R. Determinação da viabilidade de sementes de café através do teste de tetrazólio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.21, n.11, p.1139-1145, 1986.

DIAS, M.C.L.L.; SILVA, W.R. **Teste de tetrazólio em sementes de café**. Londrina: IAPAR, 1998. 16p. (IAPAR. Boletim Técnico, 59)

FIGUEIREDO, T.G. **Adaptação do teste rápido (pH do exsudato – fenolftaleína), para estimar a viabilidade de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. Lavras: UFLA, 200. 57p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia). Universidade Federal de Lavras, 2000.

FRANCO, C.M. **Apontamentos de fisiologia do cafeeiro.** Campinas, SP: Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo, CATI, 1970. 55p.

GOULART, P.F.P.; ALVES, J.D.; CASTRO, E.M.; FRIES, D.D.; MAGALHÃES, M.M.; MELO, H.C.; Aspectos histoquímicos e morfológicos de grãos de café de diferentes qualidades. **Ciência Rural**, v.37, n.3, p.662-666, mai-jun 2007.

GUIMARÃES, R.J. **Formação de mudads 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). Universidade Federal de Lavras, 1995.

HILST, P.C. ; TOKUISA, D. ; DIAS, D.C.F.S. ; MANTOVANI-ALVARENGA, E. Condutividade elétrica e liberação de exsudatos para a avaliação da qualidade de sementes de café (Coffea arabica L.). In: XIII Congresso Brasileiro de Sementes, 2003, Gramado - RS. Informativo ABRATES. Londrina - PR : ABRATES, v. 13. p. 262-262. 2003a.

HILST, P.C. ; TOKUISA, D. ; MANTOVANI-ALVARENGA, E. ; DIAS, D.C.F.S. . O teste de envelhecimento acelerado para avaliação do vigor de sementes de café (Coffea arabica L.). In: XIII Congresso Brasileiro de Sementes, 2003, Gramado - RS. Informativo ABRATES. Londrina - PR: ABRATES, v. 13. p. 262-262. 2003b.

HUXLEY, P.A. Coffee germination test recommendations and defective types. **Proceedings of the International Seed Testing Association**, v.30, p.705-715, 1965.

ILLY, E.; BRUMEN, G.; MASTROPASQUA, L.; MAUGHAN, W. Study on the characteristics and the industrial sorting of defective beans in green coffee lots. In: COLÓQUIO CIENTÍFICO INTERNACIONAL SOBRE O CAFÉ, 10. Salvador. **Anais**. Salvador, 1982. p.99-126.

KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D., Teste de deterioração controlada. In: KRZYZANOWSKI, F.C., VIEIRA, R.D., FRANÇA NETO, J.B. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, 1999. Cap.6.

LIMA, D.M.; CARVALHO, M.L.M.; RODRIGUES, A.B.; SOUZA, L.A. Teste de condutividade elétrica de massa na avaliação da qualidade de sementes de café submetidas a diferentes métodos de secagem. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil e Workshop Internacional de Café & Saúde, (3, 2003, Porto Seguro). **Anais**. Brasília, DF: Embrapa Café, 2003. (447p.), p.184-185.

LOPEZ, M.H. Tetrazólio como indicador de viabilidad em semillas de café. **Resumenes de Café**, v.14, n.24, p.15-16, 1988.

MALTA, M.R.; PEREIRA, R.G.F.A.; CHAGAS, S.J.R. Condutividade elétrica e lixiviação de potássio do exsudato de grãos de café: alguns fatores que podem influenciar essas avaliações. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 5, p. 1015-1020, set./out., 2005.

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

MARCOS FILHO, J.; CÍCERO, S.M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade de sementes.** Piracicaba: FEALQ, 1987. 230p.

MATTHEWS, S.; POWELL, A.A. Eletrical conductivity test. In: PERRY, D.A. (ed) **Handbook of vigour test methods.** Zurich; ISTA. p.37-42, 1981.

MONDONEDO, J.R. Quick test with tetrazolium chloride on coffe seed viability. **Journal of Agriculture of University of Puerto Rico**, v.54, n.2, p.370-376, 1970.

PANOBIANCO, M.; VIEIRA, R.D. Electrical conductivity of soybean soaked seeds. I. Effect of genotype. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 31, n. 9, p. 621-627, set. 1996.

PEREIRA, C.E.; PINHO, E.V.R.V.; OLIVEIRA, D.F.; KIKUTI, A.L.P. Determinação de inibidores da germinação no endosperma de sementes de café (*Coffea arabica* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.24, n.1, p.306-311, 2002.

POPINIGIS, F. 1977. **Fisiologia de sementes** Brasília, MA/AGIPLAN, 289p.

POWELL, A.A. Cell membranes and seed leachate conductivity in relation to the quality of seed for sowing. **Journal of Seed Technology**, v.10, n.2, p.81-100, 1986.

PRETE, C.E.C. **Condutividade elétrica do exsudato de grãos de café (*Coffea arabica* L.) e sua relação com a qualidade da bebida**. 1992. 125p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1992.

PRETE, C.E.C.; SERA, T.; CRUDI, C.E.; FONSECA, I.C.B. Condutividade elétrica de exsudatos de grãos de café colhidos em diferentes estádios de maturação. In: INTERNATIONAL SEMINAR ON BIOTECHNOLOGY IN THE COFFEE AGROINDUSTRY, 3., 1999, Londrina. **Anais.** Londrina: IAPAR/IRD, 2000. p. 475 – 477.

REIS, L.S. **Lercafé: novo teste para estimar a germinação de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.).** 2004. 57p. Tese. (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

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: Associação Brasileira para a Pesquisa da Potassa e do Fosfato, p. 13-85, 1986.

RODRIGUES, F.C.M.P. **Manual de análise de sementes de florestais.** Campinas: Fundação CARGIL, 1988. 100p.

SALES, J.F.; ALVARENGA, A.A.; OLIVEIRA, J.A.; NOGUEIRA, F.D.; REZENDE, L.C.; SILVA, F.G. Germinação de sementes de café (Coffea arabica L.) submetidas a diferentes concentrações e tempos de embebição em celulase. **Ciênc. agrotec**., v.27, n.3, p.557-564, maio/jun., 2003.

SERA, G.H.; MIGLIORANZA, E. Avaliação visual do poder germinativo de sementes de café por exsudatos. In: Simpósio de Pesquisas dos Cafés do Brasil. 2000. Poços de Caldas-MG. Brasilia-DF, 2000. v.1. p.123-125.

SERA, G.H.; MIGLIORANZA, E. Avaliação visual do potencial germinativo de sementes de café pelo formato e coloração do embrião. **Semina: Ciências Agrárias**, v.24, n.2, p.307-310, jul./dez. 2003.

SERA, G.H.; MIGLIORANZA, E.; SERA, T. Avaliação da viabilidade de sementes de café por exsudatos. **Semina: Ciências Agrárias**, v.27, n.1, p.21-26, jan./mar. 2006

SGUAREZI, C.N.; BRACCINI, A.L.; SCAPIM, C.A.; BRACCINI, M.C.L.; DALPASQUALE, V.A. Avaliação de tratamentos pré-germinativos para melhorar o desempenho de sementes de café (*Coffea arabica* L.). II Processo de umidificação. **Revista Brasileira de Sementes**, v.23, n.2, p.162-170, 2001.

SIMON, E.W. Phospholipids and plant membrane permeability. **The New Phytologist**, v.73, n.2, p.377-420, 1974.

SIMON, E.W. & RAJA-HARUN, R.M. Leakage during seed imbibition. **Journal of Experimental Botany**, v.23, n.77, p.1076-85, 1972.

SOTO, F.; ECHEVARRIA, I.; RODRIGUEZ, P. Estudio sobre la conservacion de semillas de cafetos (*Coffea arabica* L. variedad Caturra). **Cultivos Tropicales**, 1995. p.33-36.

VASQUEZ, A.R.; MORRILLO, A.R. Uso del tetrazolium en la determinación del poder germinativo de la semilla de café. **Agronomía Tropical**, v.14, n.1, p.25-32, 1964.

VIEIRA, R.D. Teste de condutividade elétrica. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (Eds.) **Teste de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p.103-132.

VIEIRA, M.G.G.C.; GUIMARÃES, R.M.; PINHO, E.V.R.V.; GUIMARÃES, R.J.; OLIVEIRA, J.A. **Testes rápidos para determinação da viabilidade e da incidência de danos mecânicos em sementes de cafeeiro.** Lavras: Ufla, 1998. 34p. (Boletim Agropecuário, 26).

VIEIRA, R.D. ; PANOBIANCO, M. ; LEMOS, L.B. ; FORNASIERI FILHO, D. Efeito de genótipos de feijão e de soja sobre os resultados da condutividade elétrica de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 18, n. 2, p. 220-224, 1996.

VIEIRA, R.D., KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. ABDUL-BAKI, A.A. & ANDERSON, J.D. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. **Crop Sci.**, Madison, 13(6): 630-3, 1973.

C., VIEIRA, R.D., FRANÇA NETO, J.B. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, 1999. Cap.4.

VOSSEN, H.A.M. **Methods of preserving the viability of coffee seed in storage.** Seed Science and Technology, v.7, n.1, p.65-74, 1979.

WENT, F.W. **The experimental control of plant growth.** New York: The Ronald, 1957. p.164-168 (Chronica Botaica. International Biological and Agricultural Series, 17).

ZONTA, J.B.; ARAÚJO, E.F.; ARAÚJO, R.F.; REIS, M.S. **Uso do teste Lercafé para a caracterização de danos em sementes de cafeeiro.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.43, n.11, p.1601-1607, nov. 2008.

ZONTA, J.B.; ARAÚJO, E.F.; ARAÚJO, R.F.; REIS, M.S.; DA SILVA LIMA, J. **LERCAFÉ test for the assessment of coffee seed quality during storage.** Seed Science and Technology, v.37, n.1, p.140-146(7), april 2009a.

ZONTA, J.B.; SOUZA, L.T.; DIAS, D.C.F.S.; MANTOVANI-ALVARENGA, E. **Comparação de metodologias do teste de tetrazólio para sementes de cafeeiro.** IDESIA, v.27, n.2, p.17-23, mayo-agosto, 2009b.

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo