



BRUNA RAPHAELLA DA SILVA

**GERMINAÇÃO *in vitro* EM DIFERENTES TEMPERATURAS
DE SEMENTES ARMAZENADAS DE *Coffea arabica* cv. Catuaí
Amarelo**

LAVRAS-MG

2019

BRUNA RAPHAELLA DA SILVA

**GERMINAÇÃO *in vitro* EM DIFERENTES TEMPERATURAS DE SEMENTES
ARMAZENADAS DE *Coffea arabica* cv. Catuaí Amarelo IAC-62**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Ciências Biológicas, para a obtenção do título de licenciado

Prof. Renato Paiva, PhD

Orientador

Prof. Dr^a. Michele Valquíria dos Reis

Coorientadora

LAVRAS-MG

2019

BRUNA RAPHAELLA DA SILVA

**GERMINAÇÃO *in vitro* EM DIFERENTES TEMPERATURAS DE SEMENTES
ARMAZENADAS DE *Coffea arabica* cv. Catuaí Amarelo IAC-62**

***In vitro* GERMINATION IN DIFFERENT TEMPERATURE SEED STORAGE OF
Coffea arabica cv. Catuaí Amarelo IAC-62**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Ciências Biológicas, para a obtenção do título de licenciado

_____ em 02 de julho de 2019

Renato Paiva, PhD

Dr^a. Michele Valquíria dos Reis

Dr. Diogo Pedrosa Corrêa da Silva

Prof. Renato Paiva, PhD

Orientador

LAVRAS-MG

2019

A mim, pela minha coragem e por ter sobrevivido por 4 anos e meio.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A UFLA pela oportunidade.

Ao Departamento de Biologia, e ao Setor de Fisiologia Vegetal por todo o conhecimento que adquiri e por ter me concedido a oportunidade de uma formação profissional.

Ào Consórcio Pesquisa Café e Embrapa café pela bolsa concedida.

À CNPq, Capes e Fapemig, por todo apoio as pesquisas realizadas.

A minha Mãe e ao meu Pai por todo o apoio ao longo de todos esses anos, se hoje eu tenho a oportunidade de estar aqui foi graças a eles. Obrigada por todo o esforço e por acreditarem em mim. E agradeço a minha irmã pelo carinho e risadas, a minha pequena Goiabinha, meu pedacinho de orgulho. Sem vocês eu nada seria.

Ao meu Orientador, Renato Paiva, pela orientação e por ter me permitido fazer parte da sua incrível equipe que é o LCTP.

A minha coorientadora Michele Valquíria, por toda atenção, carinho, ajuda e ensinamentos.

A minha família lavrense, constituída por: Afonso Ricardo, Bea (ta), Carolet's, Breno, Déboras, Di Poderosa, Digníssimo Renato, Geovannete, Isra, Jóber, Josi, Jud, Júnia, Let's, Lucas, Mateus, Naomi, Professora Michele, Rafaela e Raquete. Esse povo esquisito, por serem o meu lar, onde eu me sinto acolhida, a cada dia que se passa o meu amor por vocês só aumenta.

A Brulana, minhas amigas itaguarenses/lavrenses, minhas amigas de luta, desconstrução, do agito do circuito, da feirinha, dos eventos gospel e danças do Daniel Saboya nos almoços de Domingo. Com vocês eu aprendo cada dia mais. Crescemos juntas, SEMPRE;

Aos meus Sistematas mais loucos, Black, Duda, Gabriel, Jé-k, Mari e Will. Meu riso é sempre tão leve com vocês. E como eu aprendi com vocês viu. Amo vocês.

A Xanda, minha amiga, com quem compartilhei a maior parte da minha vida durante a graduação, onde rimos, choramos muito, mas acima /de tudo, fomos um porto seguro uma para outra no meio da tempestade que nos cercava.

A minha melhor amiga, Fran, vulgo Francisca, te amo mil milhões, obrigada por não desistir de mim (mesmo com a distância) e por me apoiar sempre.

A todos os meus amigos da graduação, com ênfase nos meus chuchus, Bea, Gaby, Lucas, Jandira, Susane, Heverton, Raquel e Hokage. Obrigada por todas as risadas e choros antes das provas. Minha graduação foi muito mais divertida com vocês.

E em memória a Lilia, obrigada por ser uma mãe para mim e para minha mãe também, seja onde você estiver, espero que possa me ver, você sempre torceu para minha formatura e aqui estou eu no processo.

E em memória a Naomi, a iniciação mais estilosa desse LCTP, a minha primeira IC, dedica ao extremo, uma grande amiga, você faz muita falta.

Memórias póstumas de Brás Cubas

Filosofia dos epitáfios

Gosto dos epitáfios; eles são, entre a gente civilizada, uma expressão daquele pio e secreto egoísmo que induz o homem a arrancar à morte um farrapo ao menos da sombra que passou.

(Machado de Assis, 1881).

RESUMO

Coffea arabica L. é uma espécie pertencente à família Rubiaceae, conhecido como café, sendo uma espécie exótica advinda do continente africano, sendo hoje uma espécie melhorada geneticamente e muito difundida no nosso território. No Brasil, *C. arabica* é uma das maiores culturas, sendo responsável por 72% da produção dentre as outras espécies de café de todo país, tendo em área de plantio 1,7 milhões de hectares. Entretanto as sementes de café apresentam comportamento intermediário, são sensíveis a dessecação e apresentam um endosperma com paredes rígidas e é sensível ao armazenamento, devido a perda da sua viabilidade. Sendo que após dois meses de armazenamento em ambiente natural, as sementes de café apresentam uma baixa germinação. Diante do contexto, o objetivo foi avaliar a viabilidade e a germinação de sementes armazenadas de *C. arabica* cv. Catuaí Amarelo IAC 62 em diferentes temperaturas. Primeiramente as sementes foram armazenadas por um período de um ano em saco de papel sendo mantidos em geladeira a 4 °C. Após esse período, o lote de sementes foi dividido em diferentes tratamentos, em um esquema fatorial 3 x 3 que buscou avaliar 3 tipos de explantes (embriões, sementes inteiras e sementes seccionadas) em 3 diferentes temperaturas (25°C; 30°C; 25°C/35 °C alternadamente). O material vegetal foi inoculado em meio de cultivo e mantido ambiente com temperatura controlada. Os parâmetros avaliados foram a porcentagem de germinação, o índice de velocidade de germinação, análises de crescimento das plântulas (tamanho da parte aérea e da raiz e o número de folhas) e quantificação de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica. Para a germinação e velocidade de germinação somente o explante se mostrou significativo, sendo os embriões que obtiveram os melhores resultados. Quanto ao crescimento, somente os tratamentos, embriões cultivados a 25 °C, e a 30 °C; e sementes seccionadas, cultivados a 30 °C formaram plântulas. Para a análise de tamanho de parte aérea, as plantas advindas do tratamento blocos cultivados a 30 °C tiveram um maior desenvolvimento. E para as demais análises de crescimento, análises bioquímicas e aclimatização os tratamentos não diferiram entre si significativamente.

Palavras-chave: Cafeicultura. Armazenamento. Termoperiodismo.

ABSTRACT

Coffea arabica L. is a species belonging to the Rubiaceae family, known as coffee, being an exotic species from the African continent, genetically improved and very widespread in Brazil. *Coffea arabica* is one of the largest crops, accounting for 72% of the production of all other coffee species, with a round of 1.7 million hectares area. The coffee seeds present an intermediate behavior, sensibility to desiccation and an endosperm with rigid walls. In view of the context, the aim was to evaluate the viability and germination of aged seeds of *C. arabica* cv. Catuaí Amarelo IAC-62 at different temperatures. The experiment was developed at the Laboratory of Plant Tissue Culture of the Plant Physiology Sector of the Federal University of Lavras. The seeds lot was divided in different treatments, in which was tested 3 types of explants (embryos, whole seeds and sectioned seeds) at 3 different temperatures (25 °C, 30 °C and 25 °C/35 °C alternately). The plant material was inoculated in culture medium and maintained under controlled temperature. The parameters evaluated were germination speed index, seedling growth analysis (area and root size and number of leaves) and quantification of hydrogen peroxide and lipid peroxidation were evaluated. For percentage of germination and germination speed only the explant was significant, and the embryos presented higher results. As for seedlings growth, only embryos at temperature of 25 °C and 30 °C, and blocks at 30 °C presented growth. For the analysis of aerial part size, the plants coming from the treatment blocks at 30 °C had a greater development. And for the other analysis of growth, biochemical analysis and acclimatization the treatments did not differ significantly between them.

Keywords: Coffee growing. Storage. Thermoperiodism.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	9
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	10
2.1	Rubiaceae: <i>Coffea arabica</i>	10
2.2	Germinação.....	11
3.	OBJETIVO	14
3.1	Objetivo geral.....	14
3.2	Objetivos específicos.....	14
4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	15
4.1	Desinfestação e embebição das sementes.....	15
4.2	Teor de umidade.....	15
4.3	Germinação <i>in vitro</i>	16
4.4	Peróxido de Hidrogênio e peroxidação lipídica.....	16
4.6	Aclimatização.....	17
4.7	Análises estatísticas.....	17
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
5.1	Germinação <i>in vitro</i>	17
5.2	Crescimento e aclimatização.....	22
6.	CONCLUSÃO.....	26
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	26
	REFERÊNCIAS.....	27

1 INTRODUÇÃO

O cafeeiro é uma das maiores culturas produzidas e exportadas pelo Brasil. A espécie *C. arabica* é responsável por 72% da produção de café de todo o país somando uma área de plantio de 1,7 milhões de hectares, tendo em Minas Gerais a sua maior área de plantio (CONAB, 2019). No ano de 2018, mais de 29 milhões de sacas foram exportadas (CECAFÉ, 2018). Devido a sua grande importância econômica vários estudos visam avaliar o seu armazenamento ao longo do tempo, já que a maior parte da propagação das espécies ocorre via sementes.

O método mais comum e utilizado de armazenamento é o banco de sementes, por normalmente ser um método mais econômico e viável. Porém, para armazenar as sementes é necessário um conhecimento prévio acerca da sua fisiologia. Nas sementes de café várias limitações são encontradas para o seu armazenamento, já que as sementes são intermediárias e sensíveis a perda de água. O endosperma dessas sementes perder a viabilidade com o armazenamento a longo prazo, o que leva uma baixa germinação dessas sementes quando envelhecidas naturalmente. Em ambiente natural as sementes de Catuaí Amarelo podem ser armazenadas até 2 meses, após esse tempo a sua germinação decai.

Além dos problemas quanto ao armazenamento as sementes do cafeeiro encontram diversos problemas na sua germinação. Estas possuem inibidores naturais de germinação, dificuldades na absorção de água e O₂, balanço hormonal, dureza e degradação do endosperma.

Por apresentar um endosperma rígido e dificuldades na absorção de gases e água, a temperatura pode vir como um meio para contornar este problema. A temperatura pode vir a ser importante no processo germinativo, já que desencadeia a aceleração do metabolismo, diminui a rigidez das sementes, facilitando a entrada de água e oxigênio e ajudando na protrusão radicular. Portanto trabalhos que busquem alternativas para a germinação e melhor análise sobre o armazenamento de sementes de cafeeiro se fazem necessários.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Rubiaceae: *Coffea arabica*

Coffea arabica L., é uma espécie exótica, advinda da Etiópia, no continente africano (DAVIS, 2006) tendo como características um hábito arbustivo, apresentando flores perfeitas e de coloração branca dispostas em inflorescências axilares do tipo glomérulo, tendo um gineceu normalmente bicarpelar. Já seus frutos apresentam um mesocarpo carnoso e as sementes são plano-convexas recobertas por uma película prateada (KRUG, 1949). As sementes do cafeeiro possuem diversos alcalóides, tais como cafeína, theobromina, theofilina e paraxantina, além dos ácidos clorogênico, ferúlico, cumárico, cafêico e vanílico (CHOU & WALLER, 1980; WALLER et al., 1986). E quanto ao seu ciclo fenológico, necessita de dois anos para completá-lo, tendo então anos de baixa e alta produção (CAMARGO, 1985).

Esta espécie é pertencente à família Rubiaceae, que concentra cerca de 600 gêneros, sendo a 4ª maior família dentre as angiospermas, possuindo um perfil químico diverso de metabólitos secundários, o que acaba lhe conferindo uma grande importância econômica e medicinal (VALLI, 2016). As espécies pertencentes a essa família apresentam folhas simples, filotaxia oposta, raramente verticiladas, apresentando estípulas interpeciolares, flores pentâmeras ou tetrâmeras, cálice comumente gamossépalo, corola gamopétala, androceu isostêmone, possuindo um gineceu de ovário ínfero (SOUZA, 2012).

As espécies de cafeeiro são importantes economicamente para o Brasil, sendo uma das principais culturas produzidas e exportadas pelo país (FAO, 2015). A espécie *C. arabica* é responsável por 72% da produção de café de todo o país. A área de plantio de arábica no país é de 1,7 milhões de hectares, sendo em Minas Gerais a maior concentração das lavouras, tendo 1,22 milhões de hectares plantados. Na safra deste ano, estima-se que a produtividade seja 25,16 scs/ha (CONAB, 2019). No ano de 2018 foram exportadas 29.038.428 sacas de Arábica. Dentre os maiores consumidores de café exportado do Brasil, em primeiro lugar, encontra-se os EUA com 6,2 milhões de sacas exportadas e seguido pela Alemanha com 5,6 milhões no ano de 2018 (CECAFÉ, 2018).

Dentre os genótipos de *Coffea arabica* a variedade Catuaí é uma das mais difundidas no país. Este cultivar é resultante do cruzamento artificial de cafeeiros selecionados de ‘Caturra Amarelo’ e ‘Mundo Novo’. A planta é bastante produtiva, normalmente cultivada a livre crescimento e tem sido amplamente utilizada devido a sua qualidade de bebida (SOUZA et al., 2003).

Figura 1 - *Coffea arabica* cv. Catuaí Amarelo IAC 62



Fonte: CLUBECAFÉ (2015).

2.2 Germinação

A germinação é o processo fisiológico que se dá pelo retorno da atividade metabólica eixo embrionário, iniciando-se pela entrada de água na semente, permitindo a este eixo se desenvolva até que ocorra a protrusão radicular, o que marca o término desse processo (TAIZ, 2017). Os fatores intrínsecos da semente mais relacionados com a dormência como maturação do embrião, dureza do tegumento e a presença de substâncias inibidoras do processo germinativo (POPGNIS, 1985).

Apesar das sementes de café não apresentarem dormência, existem outros fatores intrínsecos a semente que dificultam a sua germinação. Estas são compostas por um endosperma com paredes celulares rígidas, sendo necessário a degradação delas para que ocorra a germinação (SILVA, 2004). Especula-se que esse fator possa ser um dos motivos da germinação das sementes ser lenta e esparsa. Embora não se tenha certeza sobre a causa dessa germinação tardia, vários estudos apresentam justificativas, como a baixa absorção de água e O_2 (BENDAÑA, 1962; VÁLIO 1976), o balanço hormonal (SILVA et al., 2004; VÁLIO, 1976) e a presença de inibidores naturais, como a cafeína (ROSA et al., 2006).

Além dos fatores intrínsecos existem outros fatores que afetam a germinação de sementes, como os fatores ambientais. A água, juntamente com a luz e a temperatura são os fatores ambientais que influenciam a germinação, já que são os principais componentes necessários a este processo fisiológico (POPGNIS, 1985).

Existem diversos trabalhos que demonstram as respostas da germinação sob a influência da luz. Sendo que este fator pode promover ou inibir a germinação e em alguns casos a germinação pode ocorrer indiferentemente ao sinal luminoso (NASSIF et al., 1998). Silva et al. (2005) e Válio (1976) observaram que as sementes do cafeeiro germinam mais rápido na ausência de luz. Entretanto outros estudos demonstram que o fator luz pode variar a sua influência dependendo da cultivar e do tempo de armazenamento (RESENDE et al., 2009).

De todos os fatores externos, a água é de extrema importância para este processo, já que a entrada de água marca o início do processo germinativo e promove a reativação enzimática e conseqüentemente a quebra das reservas da semente, reativando seu metabolismo (MARCOS FILHO, 2015).

Tanto a perda de água quanto o armazenamento de sementes com alto teor de água podem refletir na perda da viabilidade das sementes. Nas sementes recalcitrantes, onde há um alto teor de água, não é possível o seu armazenamento já que a sua viabilidade é perdida facilmente. As sementes ortodoxas podem ser armazenadas por um longo período, quando mantidas em ambientes de baixa umidade e temperaturas frias (ROBERTS, 1973). Já as sementes intermediárias, como as de café, podem ser armazenadas por um período médio, em temperaturas baixas, tendo em vista que, quanto menor a temperatura, maior a sua longevidade (ELLIS, 1990). Para as sementes de Catuaí Amarelo, em ambiente natural, podem ser armazenadas por um período máximo de 2 meses (FANTAZZINI, 2018).

A longevidade das sementes varia de acordo com o genótipo, mas dependem também de fatores internos das sementes como o teor de água e maturidade fisiológica, e as condições do ambiente na qual foi armazenada (FERREIRA & BORGHETTI, 2004). As sementes do cafeeiro não são longevas justamente por serem muito sensíveis a dessecação (SANTANA-BUZZY, 2007). Segundo Ellis et al. (1990, 1991 a, b), sementes de café, quando desidratadas entre 8% e 10% grau de umidade e armazenadas sob temperaturas próximas e abaixo de zero, apresentaram perda do poder germinativo durante armazenagem, mesmo sendo classificadas como “intermediárias” quanto ao comportamento. Em pesquisas sobre o endosperma do cafeeiro, tem sido confirmado que em sementes de café os endospermas possuem maior sensibilidade à deterioração e a estresses do que os embriões, sendo que estes podem germinar e gerar plântulas normais, mesmo quando isolados de sementes deterioradas (COELHO et al., 2015; DUSSERT et al., 2006 e FIGUEIREDO, 2016).

Já a temperatura é muito importante para a ativação metabólica nas sementes, já que podem promover a aceleração do processo germinativo, aumento da absorção de água e a

quantidade de sementes germinadas (GONÇALVES, 2015). A germinação ocorre dentro de um intervalo de temperatura, valores acima ou abaixo desses limites inibem a germinação e em uma temperatura ótima, ocorre o máximo de germinação. Mas no geral, cada espécie possui a sua temperatura ótima de germinação (CARVALHO & NAGAKAWA, 2012). Podendo ocorrer espécies que germinam preferencialmente em temperaturas constantes, outras em alternância, como reflexo dos sistemas florestais e por fim, em faixas de temperatura (NOGUEIRA, 2014). E com isso consegue-se saber a distribuição geográfica das espécies (LABORIAU, 1983). Segundo Borges & Rena (1993) a faixa de 20°C a 30° C é a mais adequada para a germinação de espécies tropicais e subtropicais.

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

Investigar a influência da temperatura e do endosperma na germinação de sementes *in vitro* envelhecidas de *Coffea arabica* cv. Catuaí Amarelo IAC-62.

3.2 Objetivos específicos

- Analisar a viabilidade das sementes após um ano armazenadas em geladeira a 5 °C;
- Avaliar a produção de plântulas normais e sobrevivência das plântulas provenientes dos diferentes tratamentos de temperatura (25 °C, 30 °C, 25 °C/30 °C) por explantes (embrião, sementes seccionadas e sementes inteiras).
- Analisar como o fracionamento de sementes influenciou na germinação e produção de mudas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas (LCTP), do setor de Fisiologia Vegetal do Departamento de Biologia (DBI) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG.

As sementes de *Coffea arabica* L. cv. Catuaí Amarelo (IAC 62) utilizadas neste trabalho foram doadas pelo Laboratório de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras. E após recebidas foram armazenadas em geladeira a 4 °C durante um ano.

4.1 Teor de água

As sementes de cafeeiro foram separadas em 3 repetições de 30 sementes pesadas primeiramente para o peso da massa fresca, após a pesagem, as sementes foram colocadas em sacos de papel e colocadas em estufa a 105 ± 3 °C por 24 horas. Após esse período as sementes foram novamente pesadas para se saber o peso da sua massa seca. A porcentagem de umidade foi calculada a partir da seguinte fórmula (BRASIL,2009):

$$\% \text{ de Umidade (U)} = 100 (P-p)/P$$

P = massa fresca

p = massa seca

4.2 Desinfestação e embebição das sementes

As sementes foram desinfestadas segundo a metodologia descrita por Dela Cruz et al (1992) apud (ALEMÁN, et al, 2014, p.96) citada e otimizada por Freitas, et al. (2016 a).

Para desinfestação, o endocarpo foi retirado das sementes e estas foram imersas em solução de formaldeído a 1,5% por um período de 30 minutos. Utilizou-se 2 ml de formaldeído por semente. Posteriormente as sementes foram retiradas da solução e lavadas três vezes em água destilada autoclavada. Em seguida foram imersas em uma solução de ácido bórico a 0,5%, sendo utilizadas 2 ml de solução por semente, e submetidas a agitação constante de 150 rpm a 25°C durante 3 dias. Após esse período as sementes foram levadas a câmara de fluxo laminar, onde passaram por 3 enxágues em água destilada autoclavada (FREITAS, et al.2016 a).

4.3 Germinação *in vitro*

Após a desinfestação e embebição, as sementes do IAC 62 foram divididas em diferentes tratamentos, em um esquema fatorial 3 x 3 que buscou avaliar 3 tipos de explantes (embrião, sementes seccionadas e sementes inteiras) em 3 diferentes temperaturas (25°C; 30°C; 25°C e 35° C combinadas, sendo 35 °C no período referente ao dia e 25 °C no período referido a noite).

Em câmara de fluxo laminar, foram separados diferentes explantes: controle, cujas sementes permaneceram inteiras; sementes tiveram seus embriões excisados e sementes que foram cortadas em sua parte mediana e lateral, sendo mantido a parte da semente seccionada que ainda continha o embrião (Figura 2), tendo o tamanho de 0,5 cm², sendo chamados de blocos.

Figura 2 – Imagens dos embriões, sementes seccionadas e sementes inteiras de *C. arabica*.



A- Embriões de *Coffea arabica*. Fonte: Freitas (2016). B- Sementes seccionadas. Fonte: Da autora (2019). C- Sementes de Catuaí Amarelo. Fonte: CLUBECAFE (2018). As setas vermelhas apontam para a região da micrópila.

Os explantes foram inoculados em meio de cultivo MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) com 30/gL⁻¹ de sacarose e gelificado com 2,5/gL⁻¹ de phytigel, com o pH ajustado para 5,8 e autoclavado a 121 °C por 20 minutos. Os tratamentos foram dispostos em diferentes salas de crescimento com as temperaturas de 25°C, 30°C, 25°C /35° C combinadas em luz fluorescente. Os tratamentos foram avaliados diariamente quanto a sua germinação durante o período de 1 mês e após 4 meses foram novamente avaliados quanto ao seu crescimento (comprimento da parte aérea e comprimento da raiz em centímetros, formação de calos e porcentagem de plântulas normais e número de folhas).

4.4 Peróxido de Hidrogênio e peroxidação lipídica

Para determinação do H₂O₂, 200 mg da parte aérea das plântulas de café, foram macerados em nitrogênio líquido (NL), acrescido de 20% de polivinilpolipirrolidona (PVPP)

(m/v) e homogeneizados em ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (m/v) e centrifugados a 12.000 g por 15 minutos, à 4 °C. O H₂O₂ foi determinado medindo-se a absorvância a 390 nm em um meio de reação, contendo tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0), 500 µL do extrato e 1,0 mL de iodeto de potássio (VELIKOVA; YORDANOV; EDREVA, 2000).

A peroxidação lipídica foi determinada por meio da quantificação de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA), conforme descrito por Buege e Aust (1978), sendo utilizados 200 mg da parte aérea das plântulas de café, que foram maceradas em NL, acrescido de 20% de PVPP (m/v) e homogeneizados em TCA 0,1% (m/v). A amostra foi centrifugada a 10.000 g por 10 minutos, à 4 °C. Aliquotas (250 µL), do sobrenadante foi retirada do precipitado, sendo adicionado a ele, posteriormente, o meio de reação [0,5% (m/v) de TBA e 10% (m/v) de TCA], incubando-se, em seguida, à 95°C, por 30 minutos. A reação foi paralisada por resfriamento rápido em gelo e as leituras foram feitas em espectrofotômetro, a 535 nm e 600 nm.

4.5 Aclimatização

Plântulas geradas dos diferentes tratamentos cultivadas *in vitro* por 4 meses, foram aclimatizadas. Sendo transferidas do meio de cultivo para tubetes contendo substrato comercial (Tropstrato hp[®]) sendo recobertos por plástico transparente por um mês. Estas plântulas foram mantidas em sala de crescimento com fotoperíodo de 12h de luz, irradiância de fótons 60 µmol m⁻² s⁻¹ e temperatura de 25 ± 2°C. Após 60 dias as plântulas foram avaliadas quanto a sua sobrevivência.

4.6 Análises estatísticas

Todos os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado (DIC), sendo utilizados 35 repetições por tratamento. Todos os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o software estatístico SISVAR e as médias foram analisadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade (FERREIRA, 2014).

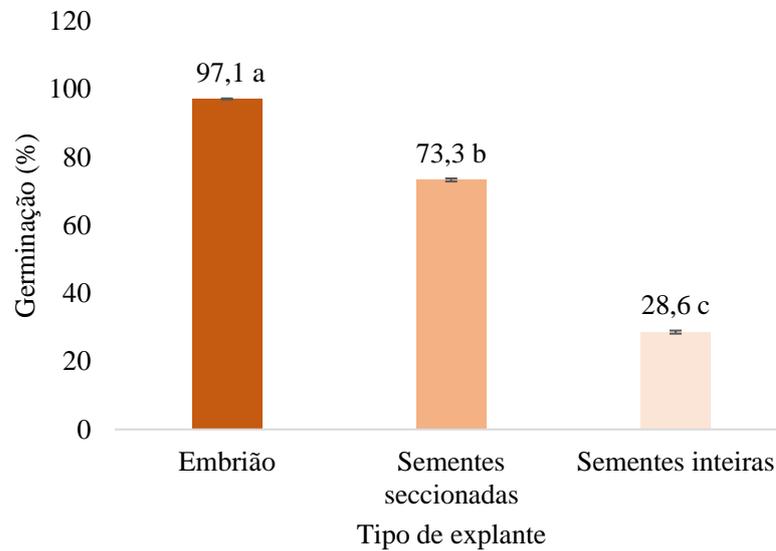
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Germinação

Para os resultados de porcentagem de germinação somente o tipo de explante, separadamente, foi significativo, não havendo efeitos significativos para a interação entre explante e temperatura e para o regime térmico isoladamente (Figura 3). Com relação a germinação foi possível observar que houve um percentual maior de germinação no tratamento

advindo do embrião. Notando-se que mesmo com o armazenamento após um ano os embriões ainda se encontravam viáveis.

Figura 3 - Porcentagem de germinação para os diferentes explantes *C. arabica* cv. IAC-62.



Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott, a 5% de significância. Fonte: Da autora (2019).

Quanto ao índice de velocidade de germinação (IVG), uma maior velocidade foi verificada na germinação dos embriões, independente do regime térmico (Tabela 1).

Tabela 1 - Índice de velocidade de germinação para os diferentes explantes *C. arabica* cv. IAC-62.

cv. IAC 62.

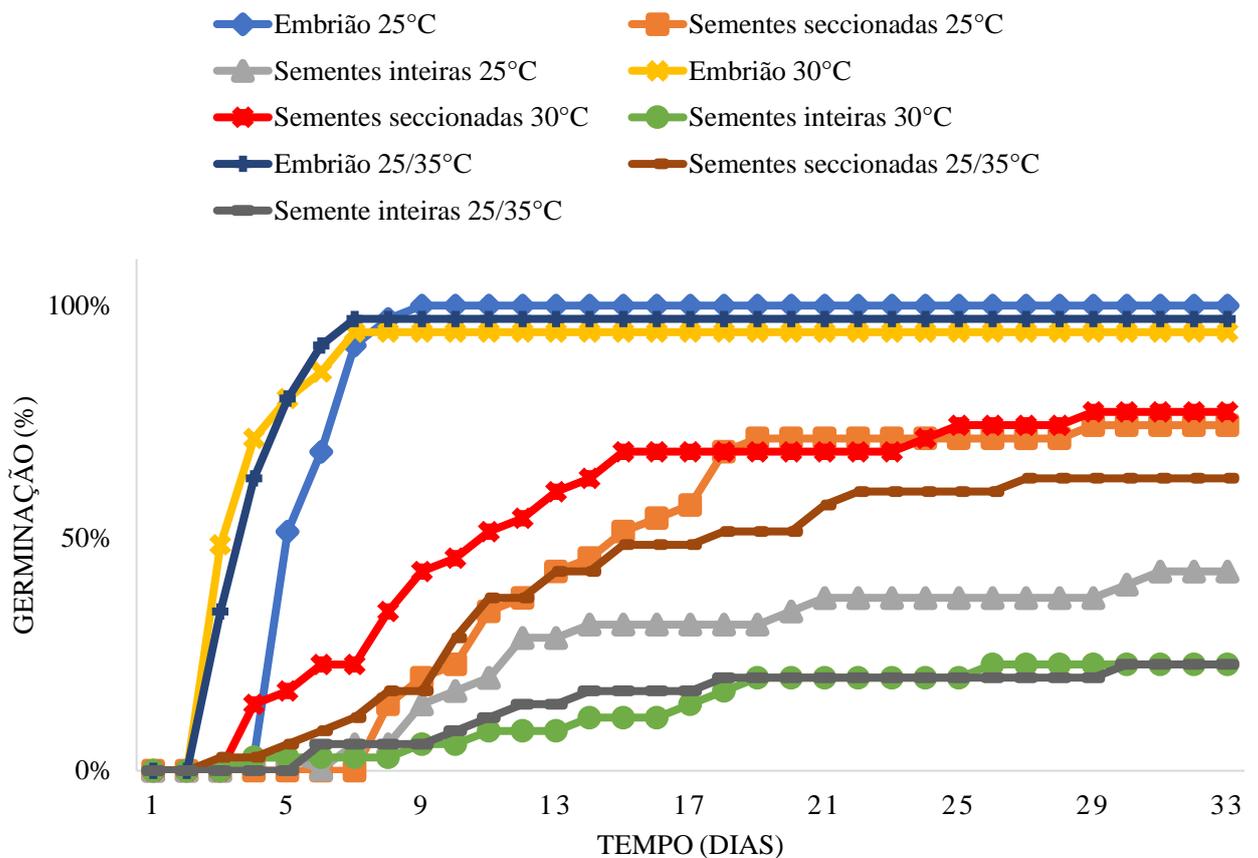
Explante	IVG
Embrião	11,05 a
Sementes seccionadas	4,54 b
Sementes inteiras	1,67 c

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott, a 5% de significância. Fonte: Da autora (2019).

Quando observados os principais dias de germinação dos explantes ao longo do tempo, é possível visualizar que os embriões germinaram mais rapidamente. Os embriões cultivados

nas temperaturas de 30 °C e temperaturas de 25/35 °C germinaram no 7º dia e os embriões submetidos a 25 °C germinaram no 9º dia de avaliação. Comparando os explantes entre si, foi possível perceber, que os embriões foram os únicos que tiveram um pico de germinação, e alcançaram também o maior número de germinações, enquanto as sementes seccionadas e inteiras tiveram a germinação mais distribuída ao longo do tempo (Figura 4).

Figura 4 – Porcentagem de germinação dos diferentes explantes/temperatura de *C. arabica* cv. IAC-62 ao longo do tempo.



Fonte: Da autora (2019).

As sementes seccionadas apresentaram uma porcentagem e velocidade de germinação maior que a das sementes inteiras, o que corrobora a hipótese de que o endosperma influencia na germinação, já que a retirada de parte deste endosperma já promoveu um aumento na porcentagem de germinações, ou seja, mesmo com o tempo de armazenamento as sementes ainda se apresentam viáveis. A retirada de parte do endosperma nas sementes seccionadas pode ter facilitado a entrada de água e diminuído a presença em quantidade de substâncias inibidoras naturais que as sementes apresentam.

Dentre as substâncias inibidoras, está a cafeína, o que pode estar aliada a baixa germinação do café diante do presente trabalho, já que as sementes inteiras tiveram uma germinação inferior à dos blocos (Figura 3). Pereira (2001) estudando o efeito da cafeína na germinação, constatou a presença do espermoderma (película prateada que recobre o endosperma) do café poderia contribuir para germinação lenta do café devidos os efeitos alelopáticos do alcaloide. Resultados semelhantes foram obtidos por Rosa (2006) na utilização de cafeína exógena para germinação *in vitro* de embriões de *Coffea arabica* e *Coffea canephora*.

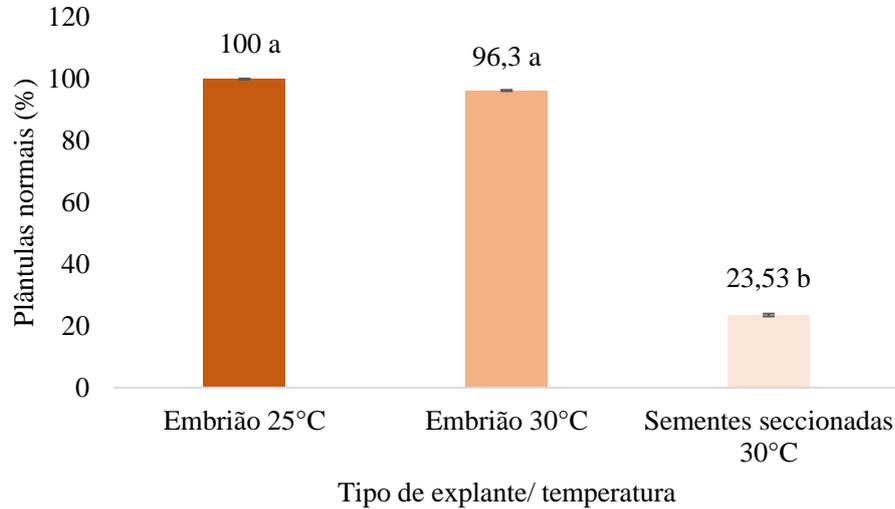
Além da presença de alcaloides, outro fator que afeta o processo germinativo do cafeeiro é a sensibilidade ao armazenamento e dessecação das sementes. O nível crítico de umidade, considerado letal para sementes de café, situa-se entre 4 e 5% (ELLIS et al., 1990, 1991; HONG & ELLIS, 1992; GENTIL 2001). O teor de água encontrado nas sementes utilizadas no experimento foi de 17,37%. Vieira et al. (2007) observaram que as sementes do Catuaí Amarelo ao longo de um armazenamento de 9 meses diminuíram a germinação e o índice de velocidade de germinação. Quando armazenadas naturalmente sem controle de umidade e temperatura apresentavam germinação de 24% até os 4 meses, depois de 6 meses já não havia mais germinação (FANTAZZINI, 2018).

Para quanto a formação de plântulas, observou-se que ocorreu a formação de plântulas em somente três tratamentos, sendo estes, o embrião cultivado a 25 e a 30 °C e as sementes seccionadas a 30 °C, já que nos demais tratamentos, após 4 meses de cultivo *in vitro* as plântulas e sementes vieram a oxidar e não sobreviveram. Então os tratamentos considerados para as análises de crescimento e de bioquímica foram os três citados.

Para o número de plântulas normais e anormais foi observado que as plântulas advindas dos embriões apresentaram um número maior de plântulas normais, independentemente da temperatura, quando comparadas com aquelas germinadas a partir dos blocos na temperatura de 30 °C. No experimento realizado por Coelho (2015), em sementes de Catuaí Amarelo cv. IAC 62, quando testado sementes armazenadas por 4 meses em câmara fria com 5% de umidade, foi perceptível que a perda de água causou danos ao endosperma, já que o número de plântulas normais e a porcentagem de germinação foi baixa, porém no teste de tetrazólio do mesmo lote de sementes os embriões se apresentavam totalmente viáveis. Já as sementes armazenadas com teores de água acima de 10% e menores que 40% apresentaram uma alta germinação e número de plântulas normais. O que também foi observado no tratamento das

sementes cultivadas a 25 °C, 30 °C e 25 °C/35 °C (Figuras 3, 4 e Tabela 1) quando comparadas aos embriões.

Figura 5 – Porcentagem de plântulas normais provenientes das diferentes combinações explantes/temperatura de *C. arabica* cv. IAC-62.

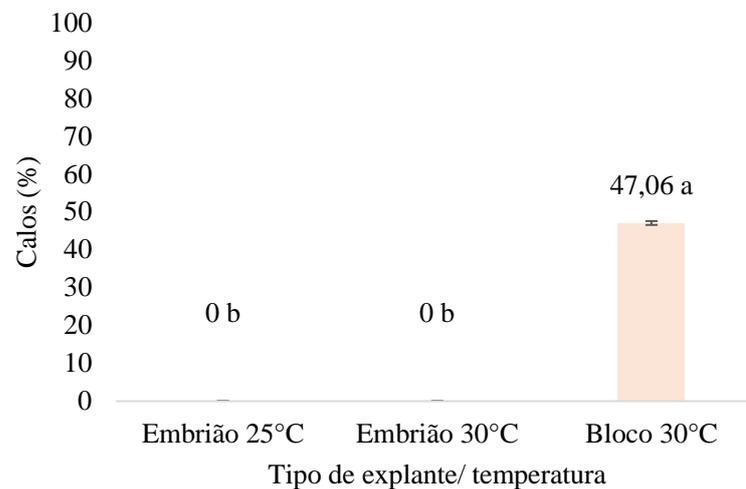


Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott, a 5% de significância. Fonte: Da autora (2019).

Para os parâmetros de percentual de plântulas normais e IVG as sementes fracionadas de *Eugenia involucrata* obtiveram valores inferiores quando comparadas com as sementes inteiras da mesma (GOMES, 2016). Esse padrão também foi observado para sementes seccionadas de *Eugenia pyriformis* (COSTA et. al, 2017). Porém, no presente trabalho, as sementes inteiras apresentaram um IVG menor que as sementes seccionadas e não formaram plântulas. Semelhante ao estudo em sementes de *Ararucaria angustifolia* em que com o fracionamento de sementes, o processo germinativo foi acelerado quando comparado aos resultados de sementes inteiras (SOUSA & CARDOSO, 2003).

A porcentagem de plântulas normais é correlato com os dados da porcentagem de calos. Devido ao fato que as plântulas que apresentaram formação de calos foram consideradas anormais. O único tratamento em que se ocorreu formação de calos foi no tratamento com as sementes seccionadas cultivadas a 30 °C (Figura 6).

Figura 6 - Porcentagem de calos formados em diferentes combinações de explante/temperatura *C. arabica* cv. IAC-62.



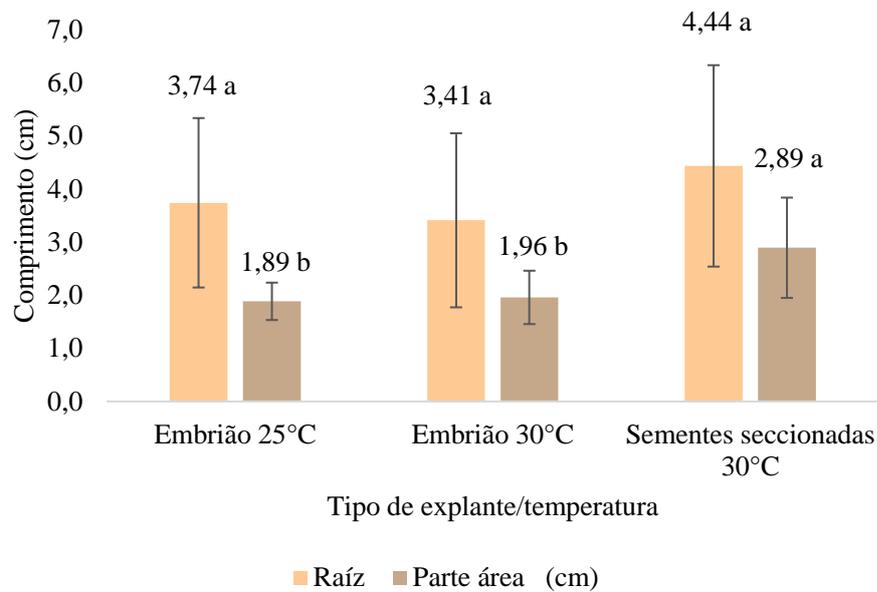
Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott, a 5% de significância. Fonte: Da autora (2019).

Possivelmente a formação de calos se deu pelo balanço hormonal provocado pelo cultivo *in vitro* ou partir do dano causado pelo seccionamento do endosperma. Entretanto não se sabe ao certo a partir de quais células os calos foram formados, se foram a partir de células dos embriões ou de células do endosperma.

5.2 Crescimento e aclimatização

Para os resultados de comprimento de raiz, não houve diferença significativa entre os tratamentos, já para os dados de parte aérea foi possível observar que a parte aérea das plântulas advindas dos blocos na temperatura de 30 °C obtiveram um maior crescimento (Figura 7).

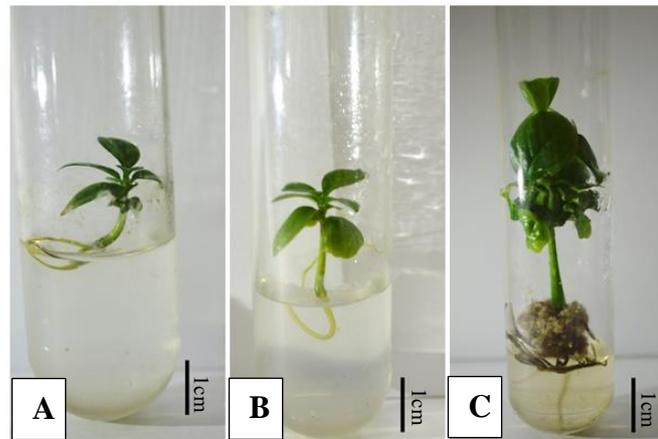
Figura 7- Tamanho da parte aérea e da raiz das plântulas provenientes das diferentes combinações de explante/temperatura de *C. arabica* cv. IAC-62.



Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott, a 5% de significância. Fonte: Da autora (2019).

A formação de plântulas das sementes seccionadas somente na temperatura de 30 °C pode ser indicativo de que a temperatura foi importante no processo. E como a temperatura tem papel importante na reativação das reações metabólicas, fundamentais aos processos de mobilização de reservas do processo germinativo (BEWLEY & BLACK, 1994). O que também explicaria o maior desenvolvimento da parte aérea dessas plântulas, devido à presença de parte do endosperma, podendo ter sido fonte de energia e esqueletos de carbono para a plântula (Figura 8). Já que na porcentagem de germinação e IVG a temperatura não foi significativa, mas na formação de plântulas sim, tendo em vista que os outros dois tratamentos térmicos dos blocos, não ocorreu formação de plântulas. E se considerarmos que no regime térmico 25°C-35 °C, não houve formação de plântulas para nenhum dos explantes, pode-se inferir que a temperatura foi fatal. Enquanto no regime térmico de 25 °C só houve a formação de plântulas do explante embrião. Quando estudado a germinação de sementes armazenadas de café cultivar IAPAR 59, a maior porcentagem de germinação e número de plântulas normais foi encontrado quando tratadas em testes pré-germinativos a temperatura de 25 °C (SGUAREZI, 2001).

Figura 8 – Imagens das plântulas de *C. arabica* cv. IAC-62 após 3 meses de cultivo *in vitro*.



A- Plântulas de café advindas de embriões da temperatura de 25 °C; B- Plântulas de café provenientes de embriões cultivados a 30 °C; C- Plântulas de café advindas de sementes seccionadas da temperatura de 30 °C. Fonte: Da autora (2019).

Outra possível hipótese para o maior crescimento da parte aérea, foi para evitar a autotoxidez causada pela presença de cafeína, no endosperma do café, já que o alcaloide afeta a germinação. Friedman & Waller (1983) em estudos com *C. arabica*, observaram que as sementes do cafeeiro evitam a autotoxidez a partir da separação espacial da radícula e do endosperma. Sendo que primeiramente há um alongamento das células do hipocótilo para fora do endosperma para posteriormente começar a ocorrer as divisões celulares da radícula.

Apesar das diferenças significativas entre o tamanho da parte aérea, para o número de folhas, os diferentes tratamentos não apresentaram diferenças significativas entre si.

Tabela 2 – Quantidade média de folhas plântulas provenientes das diferentes combinações de explante/temperatura de *C. arabica* cv. IAC-62.

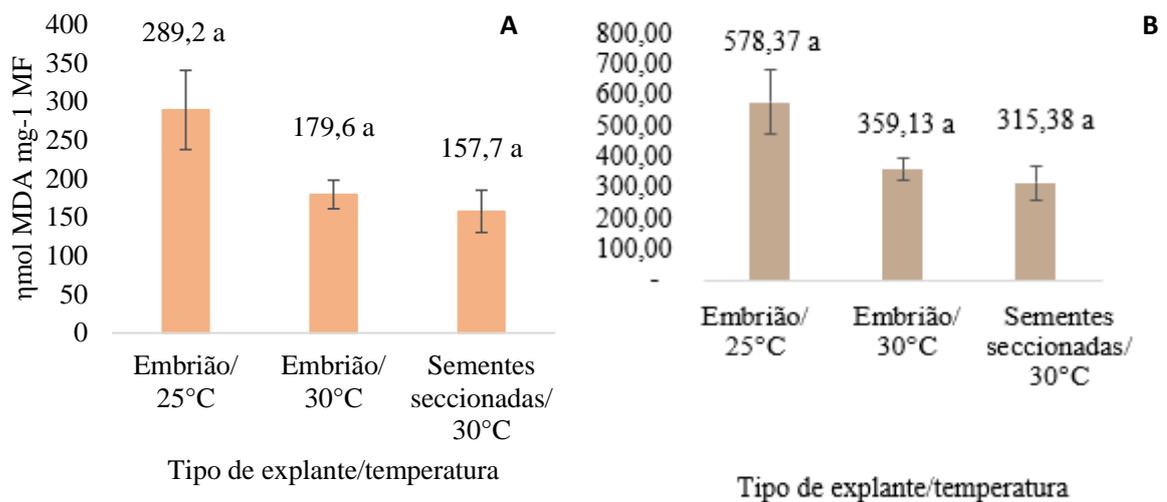
Explante	Número de Folhas
Embrião 25°C	7,00 a
Embrião 30°C	6,07 a
Sementes seccionadas 30°C	5,94 a

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott, a 5% de significância. Fonte: Da autora (2019).

Quando analisados os valores de quantificação de peróxido de hidrogênio e a peroxidação lipídica, os resultados observados não apresentaram diferença significativa entre

si (Figura 7). Demonstrando que a temperatura e o tipo de explante possivelmente não tiveram efeitos negativos no crescimento da parte aérea observada nas plântulas advindas dos diferentes tratamentos, tendo em vista que a oxidação dos tecidos vegetais causa danos às membranas celulares e a geração de subprodutos tóxicos o que afeta o crescimento vegetal (SCHWEMBER & BRADFORD, 2010).

Figura 9 – Valores da quantificação de peroxidação lipídica (A) e peróxido de hidrogênio (B) na parte aérea.



A- Valores médios de Peróxido de Hidrogênio. B- Valores médios de Peróxidação lipídica. Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott, a 5% de significância. Fonte: Da autora (2019).

Quanto a sobrevivência de plântulas, foi possível observar que não houve diferença estatística entre os tratamentos explante/temperatura. O que demonstra que se é possível produzir mudas a partir de sementes envelhecidas de café armazenadas por 1 ano em geladeira a 5 °C. Mesmo as plântulas provenientes das sementes seccionadas a 30 °C, sendo em sua maior parte anormais, apresentando calos, elas tiveram a mesma sobrevivência que as dos dois tratamentos advindos dos embriões (Tabela 3 e Figura 10).

Tabela 3 – Valores médios das avaliações de aclimatização após o período de 60 dias.

Explante/temperatura	Sobrevivência (%)
Embrião 25°C	62,5 a
Embrião 30°C	75 a
Sementes seccionadas 30°C	87,5 a

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott, a 5% de significância. Fonte: Da autora (2019).

Figura 10 – Plântulas de *C. arabica* cv. IAC-62 após 4 meses de aclimatização.

A- Plântulas de café advindas de embriões da temperatura de 25 °C; B- Plântulas de café advindas de embriões da temperatura de 30 °C; C- Plântulas de café advindas de sementes seccionadas da temperatura de 30 °C. Fonte: Da autora (2019).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para a germinação *in vitro* de *C. arabica* cv. Catuaí Amarelo IAC 62 recomenda-se a utilização de embriões como explante, e estes devem ser cultivados a temperatura de 25 °C ou 30 °C para melhor formação de plântulas, tendo em vista que o endosperma interferiu na germinação de *C. arabica* cv. Catuaí Amarelo IAC 62, e que a temperatura alternada não interferiu na germinação e no crescimento dessa cultivar. E sugere-se futuros estudos com as sementes seccionadas para a sua otimização, vistos que são explantes com uma maior facilidade de serem trabalhados e para otimização do crescimento de plântulas provenientes dos embriões.

Como ainda pouco se sabe como o endosperma interfere na germinação de sementes do cafeeiro, são necessários mais estudos futuros.

7 CONCLUSÃO

A germinação e a produção de plantas a partir de sementes armazenadas do *C. arabica* cv. Catuaí Amarelo IAC 62 são possíveis a partir dos embriões nos regimes térmicos de 25 °C e 30 °C.

REFERÊNCIAS

- ALEMÁN, E. I. et al. **Effects of EMFs on some biological parameters in coffee plants (*Coffea arabica* L.) obtained by *in vitro* propagation.** Polish Journal of Environmental Studies, Olsztyn, v. 23, n. 1, p. 95–101, Jan. 2014.
- BENDAÑA, F. E. **Fisiología de las semillas de café: problemas relativos al almacenamiento, café.** Turrialba, San José, v. 4, p. 99-106, Oct./Dec 1962.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Physiology and biochemistry of seed in relation to germination.** Berlin: Springer Verlag, v. 1, 306p. 1978.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination.** New York: Plenum Press, 445p. 1994.
- BEWLEY, J. Derek. **Seed germination and dormancy.** The plant cell, v. 9, n. 7, p. 1055, 1997.
- BORGES, E. E. L.; RENA, A. B. **Germinação de sementes.** In: AGUIAR, I.B.; PINÃ RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLA, M. B. (Coord..). **Sementes florestais tropicais.** Brasília: ABRATES, pag. 83, 1993.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.** Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009.
- BUEGE, J. A.; AUST, S. D. **Microsomal lipid peroxidation.** Methods in Enzymology, San Diego, v. 52, n. 1, p. 302-310, 1978.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção.** 4. ed. Jaboticabal: FUNEP, 590 p. 2012.
- CAMARGO, Ângelo Paes de. **Florescimento e frutificação de café arábica nas diferentes regiões (cafeeiras) do Brasil.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 20, n. 7, p. 831-839, 1985.
- CECAFÉ. **Relatório mensal.** Visitado em: 17 de junho de 2019. Disponível em: (http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/informe_estatistico/CECAFE_Relatorio_Mensal_Dezembro_2018.pdf). Dezembro de 2018.
- CHOU, C.H.; WALLER, G.R. **Possible allelopathic constituents of *Coffea arabica* L.** Journal of Chemical Ecology, Dordrecht, v.6, p.643-639, 1980.
- COELHO, Stefania Vilas Boas et al. **Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de café secas em sílica gel e soluções salinas saturadas.** Embrapa Café-Artigo em periódico indexado, 2015.

- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento: **Primeiro levantamento safra 2019**. Visitado em: 02 de junho de 2019. Disponível em: (https://www.conab.gov.br/component/k2/item/download/26039_77aa2ff1e59dbd6fc1af4245925af33d). 2019.
- COSTA, Karina et al. **Germinação de sementes inteiras e fracionadas de quinze matrizes de Eugenia pyriformis (uvaia)**. Revista Agrogeoambiental, v. 9, n. 3, 2017.
- CLUBECAFÉ- **Catuai Amarelo**. Visitado em: 22 de junho de 2019. Disponível em: (<https://www.clubedocafe.fazendasdutra.com.br/product/catuai-amarelo/>). 2018.
- CLUBECAFÉ- **Catuai Amarelo**. Visitado em: 18 de junho de 2019. Disponível em: (<http://blog.clubecafe.net.br/as-caracteristicas-do-bourbon-amarelo/>). 23 de Novembro de 2015.
- DAVIS, A. P. et al. **An annotated taxonomic conspectus of the genus Coffea (Rubiaceae)**. Botanical Journal of the Linnean Society, London, v. 152, n. 4, p. 465–512, Dez. 2006.
- DUSSERT, S. et al. **Oxidative stress, phospholipid loss and lipid hydrolysis during drying and storage of intermediate seeds**. Physiologia Plantarum, Poznan, v. 127, p. 192-204, June 2006.
- ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. **An intermediate category of seed storage behavior? I. Coffee**. Journal of Experimental Botany, Oxford, v. 41, n. 230, p. 1167-117, Sept. 1990.
- ELLIS, R. H.; HONG, T. D.; ROBERTS, E. H. **Effect of temperature and moisture content on the germination of papaya seeds**. Seed Science Research, Califórnia, v. 1, p. 69-72, 1991a.
- ELLIS, R. H. et al. **Seed storage behaviour in Elaeis guineensis**. Seed Science Research, Califórnia, v. 1, p. 99-104, 1991b.
- FANTAZZINI, Tatiana Botelho et al. **Association between the artificial aging test and the natural storage of coffee seeds**. Journal of Seed Science, v. 40, n. 2, p. 164-172, 2018.
- FAO, **Statistical Pocketbook 2015 - Coffee**. Disponível em: < <http://www.fao.org/3/a-i4985e.pdf> Acesso em: 21 de jun de 2019.
- FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 323 p. 2004.
- FERREIRA, Daniel Furtado. **Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons**. Ciênc. agrotec. [online]. Vol.38, n.2, 2014.
- FIGUEIREDO, Madeleine Alves de. **Secagem e resfriamento de sementes de Coffea arabica L. visando à criopreservação**. 2016.

- FREITAS, Rodrigo Therezan de et al. **Cryopreservation of Coffea arabica L. Zygotic Embryos by Vitrification**. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, v. 44, n. 2, p. 445-451, 2016 a.
- FREITAS, Rodrigo Therezan de. **Criopreservação de embriões zigóticos de Coffea arabica por vitrificação**. Dissertação de mestrado. 2016 b.
- FRIEDMAN, J.; WALLER, G.R. **Caffeine hazards and their prevention in germinating seeds of coffee (Coffea arabica L.)**. Journal of Chemical Ecology, Dordrecht, v.9, p.1099-1106, 1983.
- GENTIL, D.F. de O. **Conservação de sementes do cafeeiro: resultados discordantes ou complementares?** Bragantia, v.60, p.333-338, 2001.
- GOMES, Juliano Pereira et al. **Fracionamento e germinação de sementes de Eugenia involucrata**. Revista de Ciências Agroveterinárias, v. 15, n. 2, p. 118-123, 2016.
- GONÇALVES, Edilma Pereira et al. **UMEDECIMENTO DO SUBSTRATO E TEMPERATURA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE Parkia platycephala BENTH**. Ciência Florestal, v. 25, n. 3, p. 563-569, 2015.
- HONG, T.D.; ELLIS, R.H. **Optimum air-dry seed storage environments for arabica coffee**. Seed Science and Technology, v.20, p.547-560, 1992
- KRUG, C. A.; MENDES, J. E. T.; CARVALHO, A. **Taxonomia de Coffea arabica L.: II- Coffea arabica L. Var. Caturra e sua forma Xanthocarpa**. Bragantia, v. 9, n. 9-12, p. 157-163, 1949.
- LABOURIAU, Luis Gouvêa. **A germinação das sementes**. 1983.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2. ed.Londrina: ABRATES, 660p. 2015.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. **A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures**. Physiologia Plantarum, Copenhagen, v. 15, n. 3, p. 473-497, 1962.
- NASSIF, S. M. L.; VIEIRA, I. G.; FERNADES, G. D. **Germinação de semente – fatores externos (ambientais) que influenciam a germinação**. Informativo Sementes - IPEF. 1998.
- NOGUEIRA, Francisco Carlos Barboza et al. **Efeito da temperatura e luz na germinação de sementes de Dalbergia cearensis Ducke**. Ciência Florestal, v. 24, n. 4, p. 997-1007, 2014.
- PEREIRA, Carlos Eduardo et al. **Determinação de inibidores da germinação no espermóderma de sementes de café**. 2001.
- POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: ABRATES, 298 p. 1985.
- RESENDE, Maria de Lourdes et al. **Influência da luz e giberelina na velocidade de germinação das sementes de cafeeiro (Coffea arabica L.)**. 2009.

- ROBERTS, E. H. **Predicting the storage life of seeds** *Seed Science & Technology*, London, v. 1, n. 1, p. 499-514, Jan. 1973.
- ROSA, S. D. V. F. et al. **Inibição do desenvolvimento in vitro de embriões de Coffea por cafeína exógena**. *Revista Brasileira de Sementes*, Pelotas, v. 28, n. 3, p. 177-184, dez. 2006.
- SANTANA-BUZZY, N. et al. **Advances in coffee tissue culture and its practical applications**. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, Columbia, v. 43, n. 6, p. 507-520, Aug. 2007.
- SCHWEMBER, A. R.; BRADFORD, K. J. **Quantitative trait loci associated with longevity of lettuce seeds under conventional and controlled deterioration storage conditions**. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v. 61, p. 4423-4436, Aug. 2010.
- SGUAREZI, CLEONICE NATÁLIA et al. **Avaliação de tratamentos pré-germinativos para melhorar o desempenho de sementes de café (Coffea arabica L.)**. II. Processo de umidificação. *Revista Brasileira de Sementes*, v. 23, n. 2, p. 162-170, 2001.
- SILVA, E. A. A. et al. **Abscisic acid controls embryo growth potential and endosperm cap weakening during coffee (Coffea arabica L. cv. Rubi) seed germination**. *Planta*, New York, v. 220, p. 251-261, Dec. 2004.
- SILVA, E. A. A. da; TOROOP, P. E.; NIJSSE, J.; BEWLEY, J. D.; HILHORST, H. W. M. C. **Exogenous gibberellins inhibit coffee (Coffea arabica cv. Rubi) seed germination and cause cell death in the embryo**. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v. 56, n. 413, p. 1029-1038, 2005.
- SOUZA, M. M.; CARDOSO, E. J. B. N. **Practical method for germination of Araucaria angustifolia (Bert.) O. Ktze, seeds**. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 60, n. 2, p. 389-391, abr./jun. 2003.
- SOUZA, F.F.; SANTOS, J.C.F.; COSTA, J.N.M.; SANTOS, M.M. **Características das principais variedades de café cultivadas em Rondônia**. Porto Velho, 23p. 2003.
- SOUZA, Vinicius Castro; LORENZI, Harri. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. 3 ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2012.
- TAIZ, Lincoln et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6 ed. Artmed Editora, 2017.
- VALLI, Marília; YOUNG, Maria Claudia M.; BOLZANI, Vanderlan S. **A Beleza Invisível da Biodiversidade: O Táxon Rubiaceae**. *Revista Virtual de Química*, v. 8, n. 1, p. 296-310, 2016.
- VALIO, I. F. M. **Germination of coffee seeds (Coffea arabica L. cv. Mundo Novo)**. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v. 2, n. 100, p. 983-991, Sep. 1976.

VELIKOVA, V. et al. **Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines.** Plant Science, Shannon, v. 151, n. 1, p. 59-66, 2000.

VIANA, A. et al. **Qualidade fisiológica de sementes de aroeira em função da maturação dos frutos sob diferentes temperaturas de germinação.** 2018.

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

WALLER, G.R.; KUMARI, D.; FRIEDMAN, J.; FRIEDMAN, N.; CHOU, C.H. **Caffeine Autotoxicity in Coffea Arabica L.** In: PUTNAN, A.; TANG, C.S. (Ed.). The Science of Allelopathy. New York: John Wiley, p.243-263. 1986.