



LAURA NARDELLI CASTANHEIRA LACERDA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE
CAFÉ ARMAZENADAS EM NITROGÊNIO LÍQUIDO**

LAVRAS – MG

2022

LAURA NARDELLI CASTANHEIRA LACERDA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE
CAFÉ ARMAZENADAS EM NITROGÊNIO LÍQUIDO**

Monografia apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Agronomia, para a obtenção do título de Bacharel.

Pesq. Dra. Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa
Orientadora

Ms. Nathália Aparecida Bragança Fávarris
Coorientadora

LAVRAS – MG

2022

Ao eterno Vovô Théo (In memoriam) e à minha fortaleza, Vovó Elza!
Aos meus pais, por serem fonte imensurável de amor, exemplo, fé e doação a mim.

Ao Victor, meu irmão e melhor amigo, pela cumplicidade singular.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, meu mestre e senhor, por cada caminho esboçado para o meu trilhar, por designar cada ciclo em seu devido tempo, por me guardar a todo momento sendo refúgio e amor.

Aos meus pais, Thânia e Evandro, aqueles que lapidaram a pessoa que me tornei, o meu muito obrigada! Ambos são meu porto-seguro, fonte inesgotável de segurança, acolhimento, exemplo e afeto. Como é leve e prazeroso partilhar a vida e desafios junto a vocês. Tenham a certeza que são a razão do meu existir, do meu sonhar, de cada passo dado e vitória alcançada.

Ao Victor, meu MAIOR amor. Obrigada por nosso laço que transcende o sanguíneo. Sem você, nada faz sentido. Minha busca por evolução tem como razão procurar ser mais, para auxiliá-lo e ser exemplo no que for possível. Meu melhor amigo, fiel companheiro, futuro parceiro de profissão. Seguiremos sempre juntos, sendo um pelo outro.

Agradeço ao Vovô Théo (*In memoriam*), meu intercessor e estrela guia. Meu presente é construído em cima de seus valores e de seus maiores amores: a família e o campo. À Vovó Elza, mulher guerreira e de Fé inigualável, o meu muito obrigada; certamente estar onde cheguei é fruto de suas orações, de sua benção e de seu carinho. Ao meu avô Lacerda e minha avó Magda (*In memoriam*) por estarem me guardando junto a Deus, como agradeço! Ambos possuem papel fundamental em meu caminho!

A toda minha família materna e paterna, saibam que cada um contribuiu de forma intensa para minhas realizações, sendo exemplo em variados âmbitos, acolhimento em diversos momentos e por incentivarem e aplaudirem cada conquista obtida. Vocês são meus bem mais preciosos!

À Ana Livia e Karina agradeço de forma especial. É imensurável o quão grata sou a Deus por tê-las colocado em minha trajetória ao longo da graduação. Tal vínculo se perdurará, porque carregado comigo uma imensidade de cada (seja de ensinamentos, desafios, momentos vivenciados ou sorriso partilhados). Nesse contexto, agradeço à “Galera da Aprovação” por serem sinônimo de amizade, de leveza aos meus dias e de uma parceria sem igual! Aos fiéis e antigos amigos de Lavras, obrigada por fazerem parte de cada ciclo em meu caminho, mais um se encerra tendo vocês ao meu lado, vibrando por mim.

Agradeço à Sttela, minha orientadora, por me abrir as portas da pesquisa. Ademais, por ser exemplo de dedicação, suporte, profissionalismo e amizade. Como aprendi com sua pessoa! No mesmo segmento, agradeço toda a equipe de orientados à qual tive o privilégio de

compartilharem, para comigo, seus conhecimentos. Sobretudo, sou extremamente grata à querida Nath, aquela que nunca mediu esforços para me auxiliar, tinha prazer ao ensinar, sabiamente aconselhava e carinhosamente torcia por mim!

Aos docentes presentes em meu caminho, ao Setor de Sementes, ao NESem, à Terra Júnior – Consultoria Agropecuária e às empresas Tereos e Stoller, o meu agradecimento. Todos esses segmentos foram diretamente responsáveis pela minha formação profissional e, sobretudo, pessoal.

Por fim agradeço à Universidade Federal de Lavras, aquela que guiou o meu propósito, apresentou minha melhor versão a mim mesma e me deu diversos insumos para sonhar cada vez mais alto. Cada aprendizado, amizade realizada e momentos proporcionados, fazem parte de um ciclo que se finaliza, porém se eterniza, visto que norteia a minha vida e meu caminhar!

RESUMO

A tecnologia de armazenamento a partir da criopreservação das sementes está sendo amplamente pesquisada para as espécies intermediárias e recalcitrantes. Um protocolo de criopreservação de *Coffea arabica* L. foi recentemente desenvolvido e otimizado, apresentando uma alternativa viável para a conservação, disponibilizando sementes com a qualidade inicial preservada por tempo indeterminado. O entendimento do processo da criopreservação aliado à compreensão dos mecanismos biológicos envolvidos na tolerância a dessecação e ao congelamento das sementes permite o sucesso da técnica. Logo, a criopreservação é uma alternativa viável para a conservação de várias espécies possibilitando o armazenamento por períodos prolongados. Nesse contexto, o objetivo do estudo foi avaliar os efeitos da criopreservação em sementes de *Coffea arabica* L. sobre a qualidade fisiológica, por diferentes períodos, até um ano. Para isso, foram utilizadas sementes de *Coffea arabica* L., cultivar ‘Catuaí Amarelo’ IAC 62, da safra 2019/2020, secadas em sílica gel até o teor de água de 17% bu. Após a secagem, as sementes foram armazenadas por um ano em nitrogênio líquido e retiradas do criotânque a cada mês, completando 12 épocas de armazenamento. Foram realizadas análises fisiológicas para avaliar a qualidade das sementes após a criopreservação. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, sendo 12 tratamentos, em quatro repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, em nível de 5% de probabilidade, com auxílio do software R. As sementes de *Coffea arabica* L. podem ser armazenadas em nitrogênio líquido por um ano, e apesar de manterem o padrão mínimo para a comercialização durante esse período, ocorrem diferenças estatísticas entre as épocas de armazenamento.

Palavras-chave: *Coffea arabica* L.; Criopreservação; Qualidade fisiológica.

ABSTRACT

Storage technology based on seed cryopreservation is being extensively researched for intermediate and recalcitrant species. A protocol for cryopreservation of *Coffea arabica* L. was recently developed and optimized, presenting a viable alternative for conservation, providing seeds with the initial quality preserved indefinitely. The understanding of the cryopreservation process combined with the understanding of the biological mechanisms involved in the tolerance to desiccation and freezing of seeds allows the success of the technique. Therefore, cryopreservation is a viable alternative for the conservation of several species, allowing storage for prolonged periods. In this context, the objective of the study was to evaluate the effects of cryopreservation in *Coffea arabica* L. seeds on physiological quality, for different periods, up to one year. For this, seeds of *Coffea arabica* L., cultivar 'Catuaí Amarelo' IAC 62, from the 2019/2020 crop, were used, dried in silica gel until the water content of 17% bu. After drying, the seeds were stored for one year in liquid nitrogen and removed from the cryotank every month, completing 12 storage periods. Physiological analyzes were performed to evaluate the quality of seeds after cryopreservation. A completely randomized design was used, with 12 treatments, in four replications. The results were submitted to analysis of variance, and the means were compared by the Scott-Knott test, at a 5% probability level, with the aid of the R software. *Coffea arabica* L. seeds can be stored in liquid nitrogen for one year, and despite maintaining the minimum standard for commercialization during this period, there are statistical differences between storage times.

Keywords: *Coffea arabica* L; Cryopreservation; Physiological quality.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	2
2.1 Sementes de Café Arabica	2
2.2 Armazenamento de Sementes	2
2.3 Criopreservação.....	3
3. MATERIAL E MÉTODOS	4
3.1 Obtenção e processamento do material vegetal	4
3.2 Local e condução do experimento	4
3.3 Secagem das sementes.....	5
3.4 Crioarmazenamento das sementes	5
3.5 Re-aquecimento das sementes.....	5
3.6 Análises fisiológicas das sementes de café.....	5
3.6.1 Determinação do teor de água	6
3.6.2 Teste de germinação	6
3.6.3 Peso seco de plântulas	6
3.6.4 Teste de tetrazólio.....	6
3.6.5 Determinação da condutividade elétrica.....	7
3.7 Delineamento experimental e análise estatística.....	7
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	7
5. CONCLUSÃO	12
6. REFERÊNCIAS	12
ANEXO	16

1. INTRODUÇÃO

A relevância socioeconômica da cafeicultura brasileira é perceptível desde a implantação de suas primeiras lavouras, consolidando o país, há anos, como o maior produtor e exportador do fruto (ICO, 20202; ABIC, 2022). Estima-se para o ano de 2022 uma produção nacional de 55,7 milhões de sacas beneficiadas, correspondendo o Brasil a um terço de todo o café produzido no mundo (CONAB, 2022). A notável produção e exportação brasileira frente aos demais países baseia-se, sobretudo, na elevada qualidade dos frutos e da bebida nacional.

Visando propagar a espécie e potencializar a exploração comercial da cultura cafeeira, faz-se necessária a utilização de sementes para obtenção de mudas. De acordo com Ellis et al. (1990), as sementes de *Coffea arabica* L. são classificadas como intermediárias por apresentarem pouca tolerância à baixas temperaturas, porém certa tolerância à dessecação, manifestando comportamento intermediário entre as ortodoxas e recalcitrantes.

Sabe-se que tal classificação dificulta o armazenamento das sementes por longos períodos, resultando em baixa viabilidade, diminuição do potencial germinativo (ABREU et al., 2014) e do vigor das mesmas (COELHO et al., 2015). A baixa longevidade das sementes de café é uma característica intrínseca à espécie, sendo que alternativas para aumentar a viabilidade podem ser realizadas, a exemplo de manipulações nas condições do ambiente de armazenamento (POPINIGIS, 1977).

Como alternativa à conservação de sementes recalcitrantes e intermediárias, a criopreservação têm-se apresentado como uma tecnologia viável (CHEN, 2011), caracterizando-se por uma metodologia que envolve a tolerância à dessecação e ao congelamento das sementes (PAMMENTER; BERJAK, 2014). De acordo com Coelho et al. (2017), Figueiredo et al. (2018) e Ricaldoni et al. (2019), para a espécie *Coffea arabica* L., a criopreservação conserva a qualidade fisiológica das sementes por tempo indeterminado. Nesse contexto, o objetivo do estudo foi avaliar os efeitos da criopreservação em sementes de *Coffea arabica* L. sobre a qualidade fisiológica, por diferentes períodos, até um ano

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Sementes de Café Arabica

A semente de café localiza-se dentro do fruto do cafeeiro, composto por dois *locus* e duas sementes, sendo uma dupla elipsoide. O exocarpo, mesocarpo e endocarpo também são constituintes do fruto, estando o endosperma em maior volume devido à necessidade de nutrição da unidade reprodutiva.

De acordo com Rena e Maestri (1986), as sementes são plano-convexas, elípticas ou ovais, sulcadas longitudinalmente na face plana e constituídas de embrião, endosperma e espermoderma (película prateada).

Quanto à tolerância à dessecação e ao armazenamento sob baixas temperaturas, a semente de café caracteriza-se como intermediária (ELLIS et al., 1991) entre ortodoxas e recalcitrantes. Dessa forma, são capazes de tolerar níveis de dessecação relativamente mais baixos em comparação às sementes recalcitrantes (até teores de água entre 7% e 10%), mas não suportando temperaturas baixas por períodos prolongados.

Tal limitação dificulta, por longos períodos de tempo, a conservação da semente de café. Associada a ela, tem-se uma característica intrínseca à espécie: a lenta germinação (VÁLIO, 1976). Diante do exposto, após seis meses de armazenamento da mesma, existe uma redução do poder germinativo e de vigor (ARAÚJO et al., 2008; COELHO et al., 2015). Nasiro et al. (2017) também obteve resultados semelhantes quanto a relação entre tempo de armazenamento, germinação e vigor. Nesse sentido, alternativas que conservem fatores fisiológicos de sementes *Coffea arabica* L. ao longo do armazenamento, são importantes linhas de estudo.

2.2 Armazenamento de Sementes

O armazenamento de sementes tem por finalidade evitar a deterioração deste produto biológico. Segundo Villela & Peres (2004) é indicado que tal armazenamento tenha início na maturidade fisiológica das sementes, visando manter a qualidade das mesmas ao longo do período de armazenamento.

Apesar da longevidade de sementes ser variável de acordo com o genótipo, as condições ambientais do armazenamento e o teor de água são fatores imprescindíveis para que a qualidade fisiológica desse material seja mantida, principalmente se tratando de temperatura e grau de

umidade do ar (MARCOS FILHO, 2005). De acordo com Popinigis (1977) a temperatura afeta a velocidade de processos bioquímicos, enquanto a umidade relativa do ar controla o teor de água da semente.

Segundo Black et al. (2002), a tolerância das sementes à dessecação pode ser definida como a capacidade de recuperação das funções biológicas após desidratação. Assim, conforme o comportamento em relação ao armazenamento, as sementes são classificadas em ortodoxas, intermediárias e recalcitrantes.

Nesse contexto, sementes ortodoxas são tolerantes à dessecação por serem resistentes à perda severa de água, assim, podem ser desidratadas a valores muito baixos de água (entre 5% e 7%) e armazenadas a baixas temperaturas, mantendo a viabilidade. As recalcitrantes, por sua vez, são muito sensíveis à dessecação, ficando inviáveis quando atingem um grau de umidade abaixo do seu nível crítico (15 a 50%) e quando armazenadas sob temperaturas negativas (ROBERTS, 1973). Por fim, tem-se uma terceira classe, as intermediárias, que toleram moderadamente à dessecação, entretanto não resistem à baixas temperaturas por períodos prolongados (ELLIS et al., 1991), como acontece em exemplo a semente de café.

Quanto ao gênero *Coffea arabica* L. admitiu-se o comportamento intermediário visto que estas podem ficar estocadas, após dessecação, por até doze meses sob temperatura de 15 °C a aproximadamente 10% (-90 Mpa). Entretanto, havendo progressivas reduções no teor de água, resultando em perdas no potencial germinativo (ELLIS et al., 1991). Dessa forma a criopreservação é uma tecnologia promissora para a espécie *Coffea* sp. (PAMMENTER; BERJAK, 2014) possibilitando o armazenamento por longos períodos.

2.3 Criopreservação

Métodos que conservem o material biológico por longos períodos são importantes meios para a propagação de espécies. Diante disso, a criopreservação, pautada pela desidratação e posterior congelamento de materiais (PANIS; LAMBARDI, 2005; KAVIANI, 2011), refere-se a uma ciência nova, viável e que vem ganhando destaque na atualidade.

De acordo com o Engelmann (1977), a criopreservação mantém a estabilidade genética e características fenotípicas de materiais biológicos por tempo indefinido, requerendo pouco espaço e manutenção, sendo um método ideal para conservação de germoplasma, a qual é realizada por meio de temperaturas ultra-baixas (de -150 à -196°C) em nitrogênio líquido. Nessa temperatura o metabolismo celular reduz-se de modo que a deterioração biológica é praticamente paralisada, resultando na conservação por longos períodos (BAJAJ, 1995).

Para diversas partes de plantas, a criopreservação tem se mostrado um meio eficiente de preservação, a exemplo de raízes, bulbos, tubérculos, embriões somáticos, pólen e sementes. No entanto, devido as sementes possuírem tamanho reduzido, ocuparem pequeno espaço, serem de fácil manuseio e demandarem menor custo para armazenamento, considera-se esse material como o mais indicado para a prática (PRITCHARD, 2007; RAMALHO et al., 2012).

Em sementes, para que a criopreservação tenha êxito, deve-se levar em conta os atributos físicos e fisiológicos da espécie, compreendendo os mecanismos biológicos envolvidos na tolerância à dessecação e congelamento da mesma (WALTERS et al., 2008). A exemplo, sementes consideradas intermediárias e ricas em óleo, devido à aptidão para não formação de gelo intracelular, tendem a possuir sucesso na técnica, com altas taxas de germinação após o descongelamento (HOR et al., 2005; KAYA et al. 2017; DUSSERT et al., 2001; GRAVIER et al., 2011).

De acordo com Coelho et al. (2017) e Figueiredo et al. (2017), para o gênero *Coffea arabica* L., a criopreservação representa uma técnica viável para o armazenamento das sementes por tempo indeterminado, com a manutenção do poder germinativo após descongelamento.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção e processamento do material vegetal

Foram utilizados frutos de café, da espécie *Coffea arabica* L., cultivar ‘Catuaí Amarelo’ IAC 62, da safra 2019/2020. Os frutos foram colhidos no estágio de maturação cereja, por meio de colheita seletiva e lavados para a separação de frutos chochos, mal formados, brocados e de impurezas. Em sequência, os frutos foram descascados e as sementes foram desmuciladas por meio da fermentação em água.

3.2 Local e condução do experimento

Após o despulpamento dos frutos e desmucilagem das sementes, o experimento foi conduzido no Laboratório Central de Pesquisa em Sementes, do Departamento de Agricultura, da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras-MG. Foram utilizados nesta pesquisa sementes provenientes da safra 2019/2020.

Para a caracterização dos lotes, as sementes foram inicialmente submetidas à determinação do teor de água, teste de condutividade elétrica, teste de germinação, peso seco de plântulas e teste de tetrazólio. Em seguida, foram submetidas à secagem até atingirem o teor de água de 17 % (base úmida), conforme trabalhos realizados por Figueiredo et al. (2017) e Coelho et al. (2017). Posteriormente, as sementes foram armazenadas em tanque contendo nitrogênio líquido, em temperatura de -196 °C, até a realização das análises.

3.3 Secagem das sementes

Para a secagem das sementes foi utilizado como agente dessecante sílica em gel em caixas tipo “gerbox” contendo 60 gramas de sílica gel ativada, mantidas em câmaras tipo B.O.D, reguladas em temperatura de 25 °C, na ausência de luz. A perda de água durante a secagem foi monitorada por pesagens contínuas em balança de precisão de 0,001 g, até teor de água de 17 % bu.

3.4 Crioarmazenamento das sementes

Foram utilizados sacos de tule, contendo 7680 sementes, com teor de água de 17 % bu (COELHO et al., 2017; FIGUIREIDO et al., 2017). Em seguida, os sacos contendo as sementes foram imersos diretamente no nitrogênio líquido (-196 °C) e mantidos nos criotâncos por período de 12 meses.

3.5 Re-aquecimento das sementes

As sementes armazenadas em nitrogênio líquido foram retiradas do criotânque a cada mês, completando as 12 épocas de armazenamento e foram rapidamente imersas em banho-maria por 2 minutos à 40 °C, de acordo com metodologia de Dussert et al. (1998). Em seguida, a avaliação das sementes foi realizada por meio das análises fisiológicas. Para as análises fisiológicas os pergaminhos foram retirados manualmente das sementes.

3.6 Análises fisiológicas das sementes de café

Todas as análises fisiológicas foram realizadas em cada época, completando as 12 épocas de armazenamento mediante os seguintes testes descritos.

3.6.1 Determinação do teor de água

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

3.6.2 Teste de germinação

Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes, semeadas em folhas de papel de germinação, umedecidas em água destilada em quantidade equivalente a duas vezes e meia a massa do papel seco. Posteriormente, os rolos foram mantidos em germinador, em temperatura constante de 30 °C com presença de luz, por 45 dias. Foram realizadas contagens de plântulas normais aos 15 e aos 30 dias após a semeadura (BRASIL, 2009), sendo os resultados obtidos em porcentagem. Foi determinada a porcentagem de plântulas normais fortes e fracas em relação ao eixo hipocotiledonar. Foram consideradas como plântulas normais fortes aquelas que apresentarem alça hipocotiledonar com três centímetros ou mais e fracas as que se encontrarem abaixo deste padrão. Ao final do teste, aos 45 dias, foi determinada a porcentagem de plântulas com folhas cotiledonares expandidas.

3.6.3 Peso seco de plântulas

O peso seco de plântulas foi determinado aos 45 dias após a semeadura. A parte aérea foi separada das raízes, com auxílio de bisturi e o material vegetal foi colocado em sacos de papel, os quais foram submetidos à secagem em estufa de circulação forçada de ar em 60 °C por quatro a cinco dias ou até massa constante. O peso seco foi determinado em balança de precisão (0,0001 g), com os resultados expressos em mg plântula⁻¹.

3.6.4 Teste de tetrazólio

Foram utilizadas quatro repetições de 10 sementes de café embebidas em água destilada por 36 horas, em temperatura de 30 °C (CLEMENTE et al., 2011), para extração dos embriões. Os embriões extraídos foram mantidos em solução antioxidante polivinilpirrolidona (PVP) e, após esta etapa, foram lavados em água destilada e embebidos em solução de tetrazólio 0,5%,

em frascos escuros, mantidos em temperatura de 30 °C, por três horas. Os embriões foram avaliados quanto à viabilidade, com auxílio de lupa estereoscópica com aumento de 10 vezes para visualização interna e externa de suas estruturas, obtidas pelo corte longitudinal ao meio dos embriões. Assim, foram classificados em viáveis e não viáveis, por meio da análise da localização e extensão de danos observados (BRASIL, 2009).

3.6.5 Determinação da condutividade elétrica

Foi conduzida com quatro repetições de 25 sementes, a quais foram pesadas, com precisão de três casas decimais, e colocadas para embeber em recipientes de 200 mL, contendo 37,5 mL de água deionizada (KRZYZANOWSKY; FRANÇA NETO; HENNING, 1991). Em seguida, foram mantidas em BOD, em temperatura constante de 25 °C, onde permaneceram por 24 horas. Após o período de condicionamento, as soluções foram levemente agitadas para uniformização dos lixiviados e foi medida a condutividade elétrica da solução por meio da leitura em um aparelho condutivímetro da marca MS Tecnopon Instrumentação, modelo mCA-150, sendo os resultados expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$.

3.7 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 12 tratamentos, constituídos pelos meses de armazenamento das sementes em nitrogênio líquido, com quatro repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias qualitativas comparadas pelo teste de *Scott-Knott*, em nível de 5% de probabilidade, com auxílio do software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2021).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelos resultado da análise de variância dos dados fisiológicos, foi constatada interação significativa para as variáveis plântulas normais, plântulas com folhas cotiledonares expandidas, embriões viáveis, condutividade elétrica, peso seco de parte aérea e peso seco de raiz em sementes de *Coffea arabica* L. criopreservadas por diferentes períodos, até um ano (TABELA 1, do anexo). As sementes apresentavam teor de água inicial 40% (base úmida) e com boa qualidade inicial, com 80% de formação de plântulas normais e 96% de embriões viáveis.

Por meio do presente trabalho, de acordo com os resultados observados na Figura 1, nota-se que em relação à porcentagem de plântulas normais, de plântulas com folhas cotiledonares expandidas e quanto à viabilidade de embriões, obteve-se uma boa taxa de sobrevivência das sementes após imersão em nitrogênio líquido ao longo dos meses de armazenamento.

Em relação a porcentagem de plântulas normais é possível avaliar que os meses de agosto, novembro e dezembro (2019), assim como, janeiro, fevereiro, março, junho e julho (2020) apresentaram as maiores porcentagem de germinação, mantendo o padrão mínimo de comercialização para sementes de café.

Quanto as plântulas com folhas cotiledonares expandidas, as quais foram avaliadas aos 45 dias após a semeadura, constatou-se que na maioria dos meses de armazenamento das sementes não houve diferenças significativas, mantendo uma alta porcentagem desta variável a valores próximos de 70% ao longo dos meses estudados.

Na figura 1C, observa-se por meio da viabilidade de embriões pelo teste de tetrazólio realizado ao longo dos meses obteve boa taxa de sobrevivência das sementes após criopreservação, visto que, a média de embriões viáveis se manteve acima de 70% mantendo o padrão mínimo para comercialização das sementes de *Coffea arabica* L.

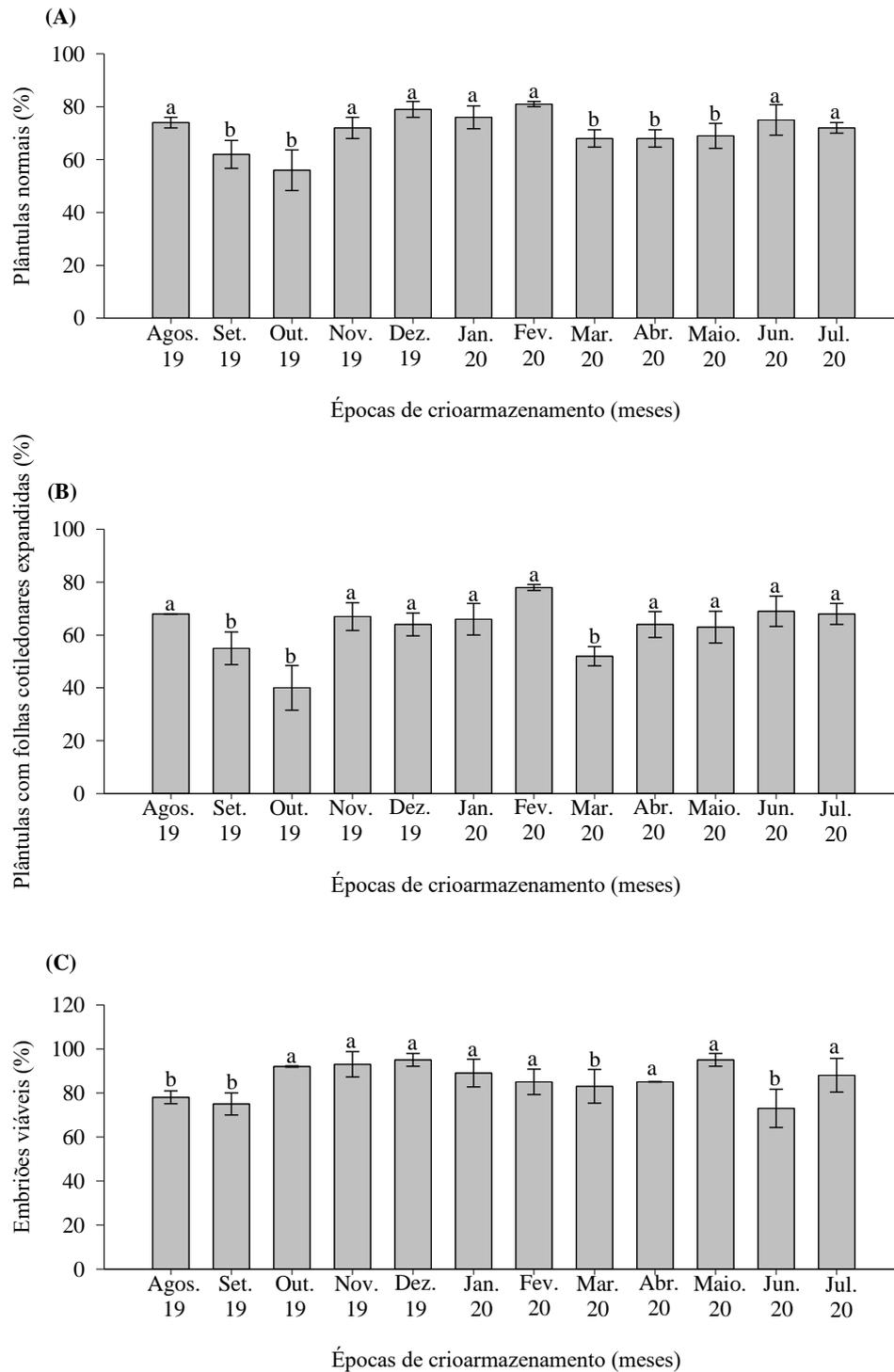


Figura 1. Porcentagem de plântulas normais (A), de plântulas com folhas cotilédonares expandidas (B) e viabilidade de embriões pelo teste de tetrazólio (C) de sementes de *Coffea arabica* L., criopreservadas por diferentes períodos, até um ano. Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de *Scott-Knott*, em nível de 5% de probabilidade. Barras verticais representam o erro padrão das médias.

Em relação as variáveis analisadas na Figura 2, condutividade elétrica, peso seco da parte aérea e peso seco de raiz foi observado resultados satisfatórios quanto ao armazenamento de sementes *Coffea arabica* L. em nitrogênio líquido, em diferentes meses, até o período de um ano.

Dessa forma, constatou-se pela figura 2A que as sementes armazenadas por 11 meses (junho, 2020) apresentou a maior média de condutividade elétrica em relação as demais meses estudados.

Para a variável peso seco de parte aérea (Figura 2B), nota-se que não houve diferenças significativas entre os meses de armazenamento das sementes em nitrogênio líquido, no entanto, a maior média foi observada no mês de fevereiro de 2020.

Ao longo do armazenamento das sementes, observa-se para a variável peso seco de raiz (Figura 2C) que os meses de novembro/2019, dezembro/2019, janeiro/2020, fevereiro/2020 e junho/2020 apresentaram as maiores médias se diferindo dos demais meses de criopreservação das sementes de café.

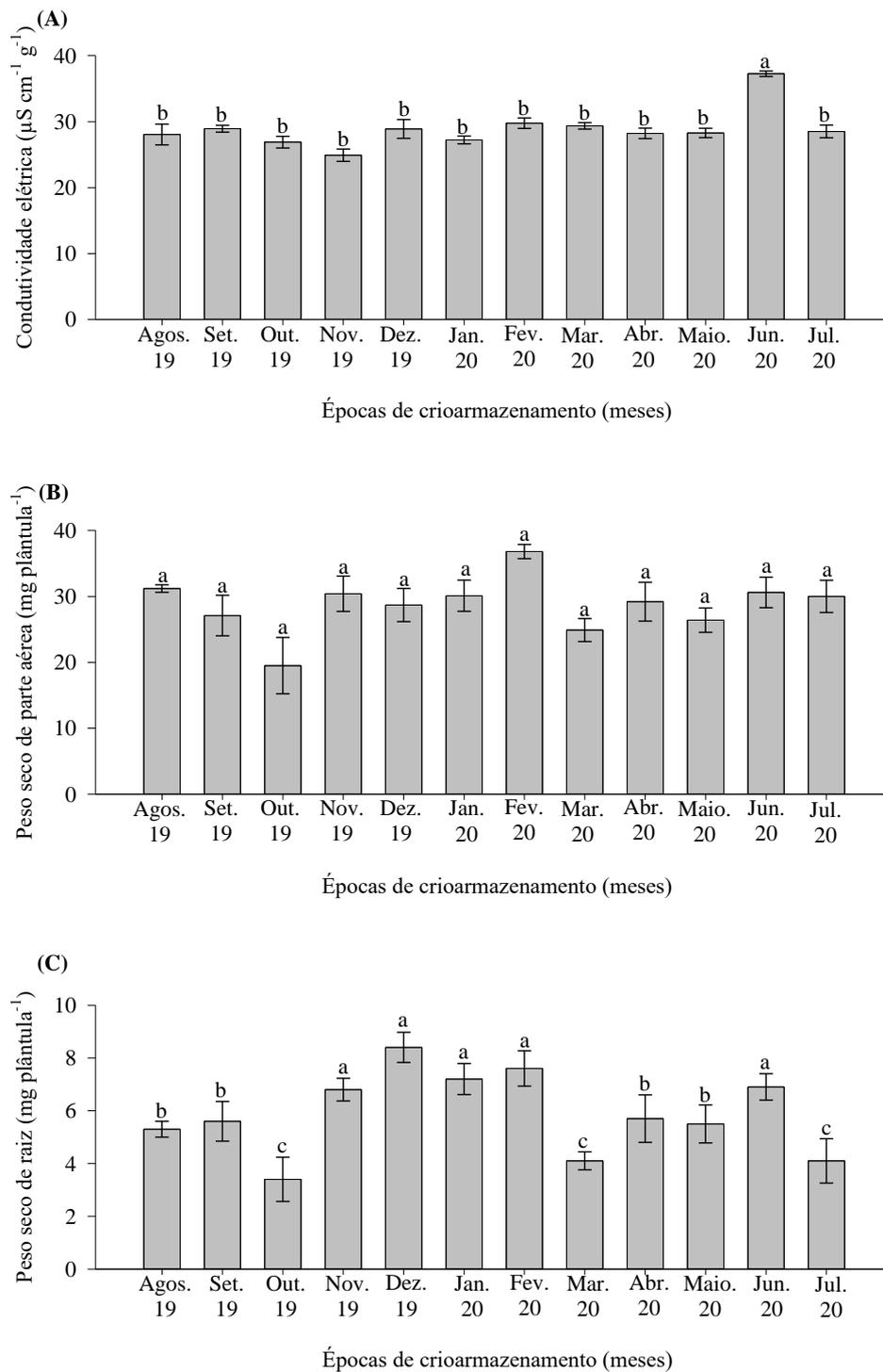


Figura 2. Condutividade elétrica (A), peso seco de parte aérea (B) e peso seco de raiz (C) de sementes de *Coffea arabica* L., criopreservadas por diferentes períodos, até um ano. Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de *Scott-Knott*, em nível de 5% de probabilidade. Barras verticais representam o erro padrão das médias.

5. CONCLUSÃO

As sementes de *Coffea arabica* L. podem ser armazenadas em nitrogênio líquido por um ano e, apesar de manterem o padrão mínimo para a comercialização durante esse período, ocorrem diferenças estatísticas entre as épocas de armazenamento.

6. REFERÊNCIAS

- ABIC. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. **História do Café – O Café brasileiro na atualidade**. Rio de Janeiro: Associação Brasileira da Indústria de Café. Disponível em: <<https://www.abic.com.br/o-cafe/historia/o-cafe-brasileiro-na-atualidade-2/>>. Acesso em: 21 fev. 2022.
- ABREU, L.A.S. et al. Behavior of coffee seeds to desiccation tolerance and storage. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 36, n. 4, p. 399-406, 2014.
- ARAUJO, R.F. et al. Conservação de sementes de café (*Coffea arabica* L.) despulpado e não despulpado. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 71-78, maio 2008.
- BAJAJ, Y.P.S. Cryopreservation of plant cell, tissue, and organic culture for the conservation of germplasm and biodiversity. In: Bajaj, Y.P.S. ed. **Cryopreservation of plant germplasm I. Biotechnology in Agriculture and Forestry**, volume 32, Berlim, Springer, 1995. P. 03-28.
- BLACK, M.; OBENDORF, R. L.; PRITCHARD, H. W. Damage and tolerance in retrospect and prospect. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H. W. (Ed.). **Desiccation and survival in plants: drying without dying**. Wallingford: CABI, 2002. p. 367-382.
- BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. Cryostorage of germplasm of tropical recalcitrant-seeded species: Approaches and problems. **International Journal Plant Science**, Chicago, v. 175, n. 1, p. 29-39, jan. 2014.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Departamento Nacional de Produção Vegetal. **Regras para análises de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 2009. 399 p.
- CHEN, X. L. et al. Cryopreservation of in vitro-grow apical meristems of *Lilium* by droplet-vitrification. **South African Journal of Botany**, Amsterdam, v. 77, n. 2, p. 397-403, Apr. 2011.
- CLEMENTE, A. C. S. et al. Preparo das sementes de café para a avaliação da viabilidade pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 33, n.1, p. 38-44, 2011.
- COELHO, S. V. B. et al. Tolerance of *Coffea arabica* L. seeds to sub zero temperatures. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 4, n. 3, p. 312-321, 2017.

COELHO, S.V. B. et al. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de café secas em sílica gel e soluções salinas saturadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 50, n. 6, p. 483-491, 2015.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira – café: Primeiro levantamento, janeiro 2022 – safra 2022**. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 2022. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafe>>. Acesso em: 22 fev. 2022.

DUSSERT, S. et al. Cryopreservation of seeds of four coffee species (*Coffea arabica*, *C. costatifructa*, *C. racemosa* and *C. sessiliflora*): importance of water content and cooling rate. **Seed Science Research**, v. 8, p. 9-15, 1998.

DUSSERT, S. et al. Tolerance of coffee (*Coffea* spp.) seeds to ultra-low temperature exposure in relation to calorimetric properties of tissue water, lipid composition, and cooling procedure. **Physiologia Plantarum**, v. 112, n. 4, p. 495- 504, aug. 2001.

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

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

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

ENGELMANN, F. Importance of desiccation for the cryopreservation of recalcitrant seed and vegetatively propagated species. **Plant Genetic Resources Newsletter**, 112: 9-18, 1997.

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

GUIMARÃES, R. M. **Tolerância à dessecação e condicionamento fisiológico em sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2000. 180 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

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

ICO. INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION. **A História do Café**. Londres: International Coffee Organization. Disponível em: <https://www.ico.org/pt/coffee_storyp.asp>. Acesso em: 22 fev. 2022.

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

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

KRZYŻANOWSKY, F. C.; FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A. Relatos dos testes de vigor disponíveis para as grandes culturas. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 1, n. 2, p. 15-50, 1991.

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

NASIRO, K.; SHIMBER, T.; MOHAMMED, A. Germination and seedling growth rate of coffee (*Coffea arabica* L.) seeds as influenced by initial seed moisture content, storage time and storage condition. **International Journal of Agriculture and Biosciences**, Nigéria, v. 6, n. 6, p. 304-310, 2017.

PANIS B.; LAMBARDI, M. Status of cryopreservation technologies in plants (crops and forest trees). In: INTERNATIONAL WORKSHOP –THE ROLE OF BIOTECHNOLOGY – FOR THE CHARACTERISATION AND CONSERVATION OF CROP, Forestry, Animal and Fishery Genetic Resources. 2005. **Anais...** Turin, 2005, p. 43–54.

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

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

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2021.

PRITCHARD, H.W. Cryopreservation of desiccation-tolerant seeds. In: DAY, J.G.; STACEY, G.N. (Eds.). **Cryopreservation and freeze-drying protocols**. New Jersey: Human Press Inc Totowa, 2007, p. 185-201.

RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A.F.B.; SANTOS, J.B.; NUNES, J.A.R. **Aplicações da Genética Quantitativa no Melhoramento de Plantas Autógamas**. Lavras: UFLA, 2012. 522 p

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

RICALDONI, M. A. **Uso de sementes criopreservadas e cultivo protegido para a produção de mudas de *Coffea arabica* L.** 2020. 76f. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2019.

ROBERTS, E.H. Predicting the storage life of seeds. **Seed Science and Tecnology**, v. 1, n. 4, p. 499-514, 1973.

VÁLIO, I.F.M. Germination of coffee seeds (*Coffea arabica* L.) cv. Mundo Novo. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 27, n. 100, p. 983-991, 1976.

VILLELA, F.A.; PERES, W.B. Coleta e beneficiamento e armazenamento. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (ed). **Germinação do básico ao aplicado**. São Paulo: ed. Artmed, 2004, cap.17, p.265-271.

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

ANEXO

Tabela 1 Resumo da análise de variância dos dados referentes a de protusão radicular (PR), plântulas normais (PN), de plântulas normais fortes (NF), plântulas com folhas cotiledonares expandidas (FC), de embriões viáveis (EV), de condutividade elétrica (CE), de peso seco de parte aérea (PSPA) e de peso seco de raiz (PSR) de sementes de *Coffea arabica* L. criopreservadas por diferentes períodos, até um ano.

FV	GL	Quadrados médios							
		PR	PN	NF	FC	EV	CE	PSPA	PSR
Meses	11	2 ^{ns}	2*	3 ^{ns}	3*	3*	3*	3*	3*
Erro	36	3	3	2	2	2	2	2	2
CV (%)	—	7,14	12,13	70,01	16,33	12,10	6,26	17,39	22,07

*: Significativo em nível de 5% de probabilidade pelo teste F. ^{ns}: não significativo.