

PAOLA ANDREA HORMAZA MARTÍNEZ

**QUALIDADE FISIOLÓGICA E SENSORIAL DE SEMENTES DE CAFÉ  
(*Coffea arabica* L.) PRODUZIDAS EM DIFERENTES ALTITUDES E FACES  
DE EXPOSIÇÃO DA MONTANHA**

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

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2017

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

H812q  
2017 Hormaza Martínez, Paola Andrea, 1977-  
Qualidade fisiológica e sensorial de sementes de café (*Coffea arabica* L.) produzidas em diferentes altitudes e faces de exposição da montanha / Paola Andrea Hormaza Martínez. – Viçosa, MG, 2017.  
x, 78f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. Café - Sementes. 2. Sementes - Fisiologia. 3. Café - Sementes - Montanhas. 4. Sementes - Altitudes.  
5. Antioxidantes. I. Universidade Federal de Viçosa.  
Departamento de Fitotecnia. Programa de Pós-graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22 ed. 633.73

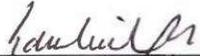
PAOLA ANDREA HORMAZA MARTÍNEZ

**QUALIDADE FISIOLÓGICA E SENSORIAL DE SEMENTES DE CAFÉ  
(*Coffea arabica* L.) PRODUZIDAS EM DIFERENTES ALTITUDES E FACES  
DE EXPOSIÇÃO DA MONTANHA**

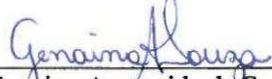
Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

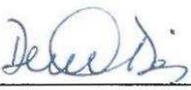
APROVADA: 16 de fevereiro de 2017.

  
Edgard Augusto de Toledo Picoli

  
Eduardo Euclides de Lima e Borges

  
Marcelo de Freitas Ribeiro

  
Genaina Aparecida de Souza  
(Coorientadora)

  
Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias  
(Orientadora)

*A Meus pais,  
A minha família,  
Ao meu namorado  
Aos meus amigos de perto e de longe*

**OFEREÇO**

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus porque sem ele nada seria possível, principalmente nos momentos em que as forças sumiam.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, pela oportunidade de realização do doutorado.

A EPAMIG pela área experimental, coleta e preparo de amostras, logística e financiamento de reagentes para as diversas análises.

A CAPES pelo financiamento da pesquisa e também pela concessão da bolsa de estudos.

Aos produtores de café da região das Serras do Brigadeiro e do Caparaó pela disponibilização das sementes, boa vontade de ajudar e pelas muitas xícaras de café oferecidas durante a coleta.

À professora, pesquisadora e orientadora Dra. Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias, pela orientação e apoio.

Ao pesquisador Dr. Marcelo de Freitas Ribeiro, pelo apoio, dicas e ajuda incondicional sempre.

Ao professor Edgard Augusto de Toledo Picoli pelos ensinamentos, compreensão e financiamento de alguns dos reagentes para as diversas análises.

Ao professor Eduardo Euclides de Lima e Borges pela ajuda, dicas, ensinamentos, amizade e pela disponibilização do Laboratório de Análise de Sementes Florestais para realização das análises.

À Dra. Genaina Aparecida de Souza pela amizade, conselhos e paciência desde o início deste projeto.

Aos pesquisadores Sérgio Maurício Lopes Donzeles, Rafael Vianna, Antonio Alves Pereira (Tunico) da EPAMIG e Williams Pinto Marques Ferreira da Embrapa - café, pelos ensinamentos e por sempre ter a boa vontade de me ajudar.

Aos funcionários Zé Custódio e Wander (Laboratório de Sementes), Mauro Ferreira e Leacir Braz da Silva (Laboratório de Análise de Sementes Florestais), Maurício e Geraldo (Laboratório de Pós-Colheita), pela grande ajuda.

Ao professor Fernando Luiz Finger, pelos ensinamentos e por disponibilizar o laboratório de Pós-Colheita para realização das análises.

Aos alunos de iniciação científica Maicon, Leonardo, Bruno, Antônio (UFV) e Paulo H. da C. Silva (Universidade Federal do Acre) pela imensa ajuda, companheirismo e risadas dadas, sem vocês não teria sido possível fazer muitas das análises.

Ao Alexmiliano pelas dicas, ajuda e bom humor sempre!!

Aos colegas do Grupo de Estudos em Sementes (GSem), amigos da equipe e do dia a dia de trabalho: Paulo César Hilst, Dalcionei Pazzin, Prof. Dr. Laercio Junio da Silva, Profa. Eveline M. Alvarenga, Ediane Alves, Ana Bernardo, Ana C. Tancoso, Priscila Torres, Reginaldo C de Souza, Rafael Macedo de Oliveira, Alice de Souza Silveira, Rubéns Junior, Eduardo Mattar, Daniel Teixeira Pinheiro, Thais de Castro Morais, Aparecida Leonir da Silva, Tiago Viana, Guilherme Valory, Joyce Araújo, Carol Andrade e Hamilton C. dos Santos Junior pela amizade, pelo companheirismo e ensinamentos.

As colegas do laboratório de Pós Colheita Mirelle Santos e Fernanda Araújo, pelas dicas e ensinamentos

As minhas amigas: Raquel O. Pires, Cileimar Silva, Thaline Pimienta, Jenny D. Gómez, Aracely Martínez L, e família, Jaciara Gonçalves, Anyela Rios, Maria Paulina Combatt, Dayane Lima, Thalia Loyo Casao, Carolina Montano, Irina Morales, Eugenia Sánchez, Marcela Camacho e Kalina. Aos amigos Maurício Miguel, Ariel Rampoldi, Dario Ramírez, Manuel Solis e Manuel Ix-Balam, por me alegrar e fazer desta cidade um lar e vocês minha família quando a saudade e a solidão batiam à porta.

Aos meus pais César A. Hormaza P (*im memoriam*) e Isabel Martínez pelas suas orações e amor, a Fany Paola Hormaza Meneses por estar sempre presente, ao meu Tio Henry F Hormaza e sua mulher, por fazer as vezes de pai e conselheiros nos momentos de escuridão e a toda minha família pelo carinho e apoio.

Ao meu namorado Fredy Alexander Rodríguez Cruz, pelo amor e por me aguentar durante os momentos de estresse!!!

As funcionárias Tatiane e Lúdia, por sempre estarem prestes a me ajudar.

A todas aquelas pessoas que não consigo lembrar, mas que me ajudaram para a realização deste trabalho

A você senhor leitor por se interessar por este trabalho..... *Muito obrigada!*

## SUMÁRIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT .....	ix
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	5
CAPÍTULO I.....	10
QUALIDADE FISIOLÓGICA E SENSORIAL DE SEMENTES DE CAFÉ (Coffea arabica L.), PRODUZIDAS EM FUNÇÃO DA ALTITUDE E FACE DE INSOLAÇÃO.....	10
RESUMO.....	10
1. INTRODUÇÃO .....	14
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	17
2.1. Coleta das amostras.....	17
2.2. Avaliações da qualidade fisiológica das sementes.....	20
2.2.1. Análise sensorial.....	23
3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
5. CONCLUSÕES .....	35
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	37
CAPÍTULO II.....	44
ATIVIDADE DO SISTEMA ANTIOXIDANTE E CONTEÚDO DE RESERVAS EM SEMENTES DE CAFÉ (Coffea arabica L.) PRODUZIDOS EM DIFERENTE ALTITUDE E FACE DE INSOLAÇÃO DO LOCAL DE PRODUÇÃO.....	44
RESUMO.....	44
1. INTRODUÇÃO .....	48
2. MATERIAIS E MÉTODOS .....	50

2.1.	Coleta de amostras .....	50
2.2.	Avaliações da qualidade fisiológica das sementes .....	54
2.3.	Determinação dos teores de açúcares solúveis totais e redutores .....	55
2.3.1.	Açúcares solúveis totais (AST) .....	55
2.3.2.	Açúcares redutores (AR) .....	56
2.3.3.	Açúcares não redutores (ANR) .....	56
2.3.4.	Quantificação de sacarose .....	56
2.3.5.	Conteúdo de amido .....	56
2.4.	Conteúdo de Proteínas totais .....	57
2.5.	Teor de lipídeos .....	57
2.6.	Alterações anatômicas do endosperma .....	57
3.	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	58
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	58
4.1.	Avaliações da atividade do sistema antioxidante e a Polifenoloxidase (PPO) em sementes de café .....	58
4.2.	Determinação dos teores de açúcares solúveis totais e redutores .....	66
4.3.	Conteúdo de Proteínas totais e teor de Lipídeos .....	68
4.4.	Alterações anatômicas no endosperma .....	70
5.	CONCLUSÕES .....	73
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	74

## RESUMO

HORMAZA, Paola Andrea Martínez, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro 2017. **Qualidade fisiológica e sensorial de sementes de café (*Coffea arabica* L.) produzidas em diferentes altitudes e faces de exposição da montanha.** Orientadora: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias. Coorientadora: Genaina Aparecida de Souza.

O café é um dos produtos agrícolas mais valiosos exportados em todo o mundo. Em consequência disso, vê-se a necessidade de compreender a influência do meio ambiente (altitude, insolação, temperatura, etc) na qualidade fisiológica da semente e sensorial da bebida, para atender às demandas crescentes dos consumidores do grão e sementes nas diferentes áreas (consumo e insumo agrícola). Para isso, determinou-se as relações entre a atividade do sistema antioxidante e o acúmulo de reservas nas sementes e grãos de café produzidos em condições ambientais contrastantes e seus efeitos na qualidade. Componentes de qualidade fisiológica da semente como porcentagem de germinação total e testes de vigor (primeira contagem da germinação, comprimento total, da raiz principal e dos diferentes diâmetros de raiz, massa seca de raiz, da parte aérea e total, condutividade elétrica e lixiviação de potássio) foram determinados. Atividade do sistema antioxidante, da polifenoloxidase, MDA, teor de sacarose, açúcares redutores, solúveis e totais, amido, proteínas e lipídeos e observação anatômica da semente de café foram realizadas. Além disso a qualidade sensorial em cada uma das faces e altitude também foi determinado. A análise centrou-se em determinar o efeito sobre o metabolismo da semente café causado pelo efeito da altitude e a face de insolação ao longo do desenvolvimento e germinação das sementes. Em todos os ensaios com embriões de café, foi detectada a atividade das enzimas do sistema antioxidante. Encontrou-se as maiores atividades das enzimas CAT e SOD nas sementes produzidas nas faces e altitudes de menor qualidade fisiológica (NF>900 e SQ<750). Nos grãos com menor qualidade sensorial encontrou-se maior atividade da PPO (NF<750). Do mesmo modo foram encontradas diferenças no teor das reservas na semente. Houve maior acúmulo de proteínas nas altitudes acima de 900 m independentemente da face, o que sugere que o acúmulo desta reserva pode ser influenciado pela altitude. A face e altitude de menor qualidade de sementes

(SQ<750), apresentam os menores teores de açúcares redutores, proteínas e lipídeos. As análises bioquímicas e anatômicas foram as ferramentas eficazes na avaliação e compreensão de alguns dos efeitos da insolação e a altitude na produção de sementes de café com boa qualidade. No entanto, os efeitos do ambiente e altitude nos parâmetros de qualidade avaliados ainda não são completamente compreendidos e há espaço para mais estudos para tentar explicar as contribuições na qualidade (sensorial e fisiológica), que possam apontar as diferentes condições ambientais (altitude e insolação) no melhoramento da qualidade.

## ABSTRACT

HORMAZA, Paola Andrea Martínez, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2017. **Physiological and sensorial quality of coffee seeds (*Coffea arabica* L.) produced at different altitudes and faces of mountain exposure.** Advisor: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias. Co-adviser: Genaina Aparecida de Souza.

Coffee is one of the most valuable agricultural products exported around the world. Consequently, it is necessary to understand the influence of the environment (altitude, insolation, temperature, etc.) on the seed physiological quality and sensorial quality of the drink, in order to meet the growing demands of grain and seed consumers in different areas (consumption and agricultural input). For this, we determined the relations between the activity of the antioxidant system and the accumulation of reserves in the seeds and coffee beans produced in contrasting environmental conditions and their effects on the quality. Physiological seed quality components, such as the percentage of total germination and vigor tests (first germination count, total length, root and root diameters, root, shoot and total dry matter, electrical conductivity and Potassium leaching) were determined. The activity of the antioxidant system, polyphenoloxidase, MDA, sucrose content, reducing, soluble and total sugars, starch, proteins and lipids and anatomical observations of the coffee seed were carried out. In addition, the sensory quality on each face and altitude was determined. The analysis focused on determining the effect on the metabolism of the coffee seed caused by the effect of altitude and the face of insolation along the development and germination of the seeds. In all assays with coffee embryos, the activity of the enzymes of the antioxidant system was detected. The highest activity of the CAT and SOD enzymes in the seeds produced in the faces and altitudes of lower physiological quality (NF > 900 and SQ < 750) was found, and in the grains with lower sensory quality, greater PPO activity was found (NF < 750). Likewise, differences in the content of the analyzed seed contents were found. There was a higher accumulation of proteins at altitudes above 900 m regardless of the Face, which suggests that the accumulation of this reserve can be influenced by altitude. The face and altitude of lower seed quality (SQ < 750), present the lower contents of reducing sugars, proteins and lipids. Biochemical and anatomic analyzes were effective tools to evaluate and understand some of the effects of insolation and

altitude on the production of good quality coffee seeds. However, the effects of the environment and altitude on the quality parameters evaluated are not yet fully understood. There is room for further studies to try to explain the contributions in the quality (sensorial and physiological) that can contribute to different environmental conditions (altitude and insolation) in quality improvement.

## INTRODUÇÃO GERAL

O café pertence ao gênero *Coffea* da família Rubiaceae e dentre as diversas espécies existentes, as principais desde o ponto de vista agroeconômico, são a *Coffea arabica* L (café arábica) e a *Coffea canephora* (café robusta) (DAVIS et al., 2011).

O Brasil é responsável por cerca de um terço da produção mundial, também é o maior exportador e segundo consumidor da bebida (EMBRAPA, 2014). A espécie mais cultivada no país é *C. arabica* L., que representa 81.1% da produção nacional de café (arábica e conilon), considerada de maior qualidade de bebida e de maior valor comercial (CONAB, 2016). No Brasil, o cultivo do café é considerado um dos mais tradicionais na agricultura, tornando-se uma das *commodities* que mais contribui para o PIB e na movimentação econômica do país. Atualmente, a área plantada é de mais de 2,256 milhões de hectares, com 287 mil produtores, majoritariamente em pequenas áreas, em aproximadamente 1900 municípios, principalmente nos estados do Acre, Bahia, Ceará, Goiás, Distrito federal, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Rondônia, São Paulo, Pará, Paraná, Espírito Santo e Minas Gerais (MAPA, 2016).

O estado de Minas Gerais ocupa um lugar de destaque na produção de café arábica, sendo responsável por aproximadamente 50% da safra brasileira, tendo como uma das principais regiões produtoras a “Região das Matas de Minas”. Esta região está localizada ao leste do estado, Região da Mata Atlântica, apresentando características de relevo acentuado e clima favoráveis à cultura (VILELA; RUFINO, 2010). Esta região abrange a região das Serras do Brigadeiro e do Caparaó sendo conhecida pelo relevo de montanha, que confere condições climáticas, de solo e culturais adequadas para a produção de café de alta qualidade. A região é formada por 63 municípios, parte deles situados no Vale do Rio Doce e uma maior parte na região da Zona da Mata, e têm potencial para produzir café com qualidade sensorial excelente a superior (*gourmets*) (SEBRAE, 2010).

A topografia dessa região é montanhosa, as altitudes variam de 600 a 1200 metros, com temperaturas amenas, o que pode favorecer a produção de cafés de qualidade. A temperatura é uma das características que se relaciona à duração do ciclo da cultura do café e que afeta a qualidade final do produto (FERREIRA et al., 2012). Locais com temperatura média anual de 24.5°C e altitude aproximada de 520 m (MATIELLO et al 2005) ou temperaturas acima de 25.3 °C (JOËT, T. et al., 2010) consideradas altas para a produção de café, produzem efeitos deletérios na qualidade

sensorial do grão e conseqüentemente na bebida. No entanto pouco se conhece dos efeitos da temperatura sobre a qualidade fisiológica da semente de café.

Um fator importante na caracterização do microclima e das temperaturas médias anuais dos locais de produção é a orientação da encosta da montanha onde a lavoura se encontra implantada. Em locais montanhosos como a “Região das Matas de Minas”, é comum a utilização dos termos “Encosta Noruega”, que faz referência à encosta da montanha orientada em direção ao quadrante Sudeste. Neste caso, as lavouras de café que recebem menor incidência de radiação solar direta ao longo do ano, sendo comumente mais sombreada, úmida e com temperaturas mais baixas. O outro termo empregado é “Encosta Soalheira” referente à encosta da montanha orientada em direção ao quadrante Noroeste, que recebe maior incidência de radiação solar direta ao longo do ano, portanto, mais aquecida, contribuindo para que a umidade relativa no microclima dessa encosta seja menor (FERREIRA et al., 2012).

Embora observações empíricas apontem para que o sombreamento e altitude causem efeitos benéficos sobre a qualidade do café, o efeito desses fatores ambientais até agora foi pouco estudado. Vários fatores afetam a qualidade do café e fatores ambientais como altitude e exposição ao sol estão entre os mais importantes. Pesquisas realizadas em Honduras, Costa Rica e Brasil estabeleceram as relações entre a qualidade do grão e da semente com respeito aos fatores ambientais (AVELINO et al., 2005; DECAZY et al., 2003; BARBOSA et al., 2012). Esses estudos mostraram correlações positivas entre a qualidade dos grãos para bebida e os parâmetros geográficos /topográficos, como a latitude, a altitude e o grau de inclinação do local de produção. No entanto, esses autores não mostram os efeitos diretos dos fatores ambientais de zona de produção sobre a semente. Por outro lado, foram observados resultados contraditórios quanto à influência do ambiente na composição química do grão cru. Essas discrepâncias podem ser devidas a falta de padronização, no manejo agrícola e os tratamentos pós colheita nos levantamentos.

Em locais com temperaturas mais baixas, normalmente encontradas em maiores altitudes, o tempo gasto no processo de formação e maturação dos frutos é mais prolongados, levando ao maior acúmulo dos constituintes químicos que estão relacionados com a melhor qualidade da bebida do café (LAVIOLA et al. 2007), podendo também influir na qualidade das sementes produzidas. A altitude do local de cultivo tem correlação positiva com alguns componentes químicos dos grãos crus, por exemplo, o teor de lipídeos (VILLARREAL et al., 2009). Segundo estes autores, as

percentagens dos dois principais ácidos graxos, os ácidos linoleico e palmítico (30-45% cada), aumentaram com a altitude e foram negativamente correlacionados com a temperatura ambiente, enquanto os ácidos oleico e esteárico (5-10% cada) foram favorecidos em condições mais quentes.

A qualidade da bebida de café está associada a características qualitativas, relacionadas à atributos de avaliação de qualidade tais como: bebida limpa, balanço, sabor, acidez, doçura, retrogosto e corpo, que vão se expressar a partir do acúmulo de diversos constituintes químicos do grão (CHALFOUN; PARIZZI, 2008). O aroma, acidez, frutuosidade e qualidade geral foram todos favorecidos por climas frios, enquanto os gostos de terra e verde indesejáveis estavam cada vez mais presentes à medida que a temperatura aumentava (BERTRAND et al., 2012). O sombreamento das plantas em campo, é outro fator ambiental frequentemente relacionado à qualidade do café; condições mais frias atrasam a maturação dos frutos e afetam positivamente a qualidade do grão (SOMPORN et al., 2012). O sombreamento contribuiu para aumentar o tamanho da semente, afetando positivamente a qualidade do café, bem como influenciar a composição química, principalmente os açúcares e os ácidos graxos (GEROMEL et al., 2008, VAAST et al., 2006).

Quanto aos constituintes de reserva no grão cru, os principais compostos são polissacarídeos de parede celular que abrangem 48-60% do peso seco e consistem principalmente em galactomananos e proteínas de arabinogalacturonanas (CLIFFORD, 1985). Outros compostos importantes incluem lipídeos (10-16%), com triglicerídeos e ácidos graxos livres constituindo essa porção de grãos de café verde, e proteínas (~11%), sacarose (4-8%) e ácidos clorogênicos (6,5%) também presentes (JOËT et al., 2010).

A formação e germinação da semente é um passo crítico na evolução, ciclo de vida e estabelecimento do cultivar. Vários estudos com café, mostram que as sementes têm germinação lenta, desuniforme e geralmente com baixo potencial de conservação no armazenamento, o que aumenta a exposição desta a condições adversas ao médio que se encontra, podendo afetar, o vigor e a própria sobrevivência das sementes (GUIMARÃES et al., 2002; PEREIRA et al., 2002; ROSA et al., 2006; MACEDO; LOPES, 2008; SOFIATTI et al., 2008). Este comportamento afeta a formação de plântulas ou mudas normais de café num período relativamente curto de tempo. Assim, fatores ambientais não adequados durante o processo de formação do fruto, podem acarretar estresse nas sementes produzidas nesses ambientes, afetando sua qualidade

fisiológica. Durante a embebição da semente, aumenta a absorção de oxigênio e o metabolismo energético mitocondrial torna-se ativo, levando a uma biossíntese de macromoléculas e o transporte de solutos necessários para completar a germinação (PUNTARULLO et al., 1988). Esse processo, fornece uma fonte importante de espécies reativas de oxigênio (ROS) que não são tóxicas, quando produzidas em baixas quantidades. No entanto, o desbalanço entre as ROS produzidas e as ROS eliminadas causadas possivelmente, pelos efeitos das condições locais de produção, podem afetar a qualidade fisiológica das sementes. Portanto, o controle dos processos oxidativos é um aspecto essencial, não só para o armazenamento do grão destinado a bebida de qualidade, mas também, para a semente antes da germinação, uma vez que a viabilidade do embrião pode ser afetada pela liberação descontrolada de ROS. Assim, estudos relacionados aos efeitos das condições locais de clima sobre a qualidade fisiológica das sementes de café podem ser importantes para a obtenção de sementes com maior qualidade fisiológica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AVELINO, J.; BARBOZA, B.; ARAYA, J. C.; FONSECA, C.; DAVRIEUX, F.; GUYOT, B.; CILAS, C. Effects of slope exposure, altitude and yield on coffee quality in two altitude terroirs of Costa Rica, Orosi and Santa María de Dota. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 11, p. 1869–1876, 2005.
- BAILLY, C.; BENAMAR, A.; CORBINEAU, F.; COME, D. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. **Physiologia Plantarum**, v. 97, n. 1, p. 104–110, 1996.
- BARBOSA, J. N.; BOREM, F. M.; CIRILLO, M. A.; MALTA, M. R.; ALVARENGA, A. A.; ALVES, H. M. R. Coffee Quality and Its Interactions with Environmental Factors in Minas Gerais, Brazil. **Journal of Agricultural Science**, v. 4, n. 5, p. 181–190, 2012.
- BERTRAND, B.; BOULANGER, R.; DUSSERT, S.; RIBEYRE, F.; BERTHIOT, L.; DESCROIX, F.; JOËT, T. Climatic factors directly impact the volatile organic compound fingerprint in green Arabica coffee bean as well as coffee beverage quality. **Food chemistry**, v. 135, n. 4, p. 2575–2583, 2012.
- BOO, Y. C.; JUNG, J. Water deficit—induced oxidative stress and antioxidative defenses in rice plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 155, n. 2, p. 255–261, 1999.
- CALLIS, J. Regulation of protein degradation. **The Plant Cell**, v. 7, n. 7, p. 845–857, 1995.
- CLEMENTE, J. M.; MARTINEZ, H. E. P.; ALVES, L. C.; FINGER, F. L.; CECON, P. R. Effects of nitrogen and potassium on the chemical composition of coffee beans and on beverage quality. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 37, n. 3, p. 297–305, 2015.
- CHALFOUN, S. M.; PARIZZI, F. C.; BORÉM, F. M. Fungos toxigênicos e micotoxinas em café. In **BORÉM, FM Pós-colheita do café. Lavras: Editora UFLA**, p. 513, 2008.
- CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids. In: **Coffee**. [s.l.] Springer, 1985. p. 153–202.
- CONAB, Companhia nacional de Abastecimento, Acompanhamento da safra Brasileira: Café. Safra 2016 Segundo levantamento. [Online]. Brasília, Brasil (2016).

Disponível:[http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/levantamento/Boletim\\_cafe\\_maio\\_2016.pdf](http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/levantamento/Boletim_cafe_maio_2016.pdf) [15 July 2016]

- DAVIS, A. P.; TOSH, J.; RUCH, N.; FAY, M. F. Growing coffee: *Psilanthus* (Rubiaceae) subsumed on the basis of molecular and morphological data; implications for the size, morphology, distribution and evolutionary history of *Coffea*. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 167, n. 4, p. 357–377, 2011.
- DECAZY, F.; AVELINO, J.; GUYOT, B.; PERRIOT, J. J.; PINEDA, C.; CILAS, C. Quality of different Honduran coffees in relation to several environments. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 7, p. 2356–2361, 2003.
- DEMIRKAYA, M.; DIETZ, K. J.; SIVRITEPE, H. O. Changes in antioxidant enzymes during ageing of onion seeds. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 38, n. 1, p. 49–52, 2010.
- EMBRAPA. **Consórcio Pesquisa Café contribui para manter liderança mundial do Brasil no agronegócio café**. Disponível em: <https://www.embrapa.br>
- ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. Functional properties of coffee and coffee by-products. **Food Research International**, v. 46, n. 2, p. 488–495, 2012.
- FERREIRA, W. P. M.; RIBEIRO, M. de F.; FERNANDES, E. I. F.; SOUZA, C. de F.; CASTRO, C. C. R. de. As Características Térmicas das Faces Noruega e Soalheira como Fatores Determinantes do Clima Para a Cafeicultura de Montanha. **Embrapa Café**, v. Documentos, p. 34, 2012.
- GEROMEL, C.; FERREIRA, L. P.; DAVRIEUX, F.; GUYOT, B.; RIBEYRE, F.; BRÍGIDA DOS SANTOS SCHOLZ, M.; PROTASIO PEREIRA, L. F.; VAAST, P.; POT, D.; LEROY, T.; FILHO, A. A.; ESTEVES VIEIRA, L. G.; MAZZAFERA, P.; MARRACCINI, P. Effects of shade on the development and sugar metabolism of coffee (*Coffea arabica* L.) fruits. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 46, n. 5–6, p. 569–579, 2008.
- GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909–930, 2010.
- 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. 662–667, 2007.

- GUIMARÃES, R. M.; VIEIRA, M.; FRAGA, A. C.; PINHO, E.; FERRAZ, V. P. Tolerância à dessecação em sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia, Lavras**, v. 26, n. 1, p. 128–139, 2002.
- HAN, C.; LIU, Q.; YANG, Y. Short-term effects of experimental warming and enhanced ultraviolet-B radiation on photosynthesis and antioxidant defense of *Picea asperata* seedlings. **Plant Growth Regulation**, v. 58, n. 2, p. 153–162, 2009.
- HEFNY, M.; ABDEL-KADER, D. Z. Antioxidant-enzyme system as selection criteria for salt tolerance in forage sorghum genotypes (*Sorghum bicolor* L. Moench). In: **Salinity and Water Stress**. [s.l.] Springer, 2009. p. 25–36.
- HEYNO, E.; MARY, V.; SCHOPFER, P.; KRIEGER-LISZKAY, A. Oxygen activation at the plasma membrane: relation between superoxide and hydroxyl radical production by isolated membranes. **Planta**, v. 234, n. 1, p. 35–45, 2011.
- JOËT, T.; LAFFARGUE, A.; DESCROIX, F.; DOULBEAU, S.; BERTRAND, B.; DUSSERT, S. Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green Arabica coffee beans. **Food Chemistry**, v. 118, n. 3, p. 693–701, 2010.
- KREMER, A.; LE CORRE, V.; PETIT, R. J.; DUCOUSSO, A. Historical and contemporary dynamics of adaptive differentiation in European oaks. **Molecular Approaches in Natural Resource Conservation**, p. 101–122, 2010.
- LAVIOLA, B. G.; MARTINEZ, H. E. P.; SALOMÃO, L. C. C.; CRUZ, C. D.; MENDONÇA, S. M.; ROSADO, L. D. S. Acúmulo de nutrientes em frutos de cafeeiro em duas altitudes de cultivo: micronutrientes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, n. 6, p. 212–221, 2007.
- LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 3, p. 293–303, 2001.
- MACEDO, C. M. P. de; LOPES, J. C. Qualidade fisiológica de semente de café arábica na presença de alumínio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n.1, p. 66–73, 2008.
- MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Informe Estatístico do Café**, (2016).
- MATHUR, R.; NAVYA, P. N.; BASAVARAJ, K.; MURTHY, P. S. Bioprocess of robusta cherry coffee with polyphenol oxidase and quality enhancement. **European Food Research and Technology**, v. 240, n. 2, p. 319–325, 2015.

- MCDONALD, M. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology**, v. 27, p. 177–237, 1999.
- PATUI, S.; CLINCON, L.; PERESSON, C.; ZANCANI, M.; CONTE, L.; DEL TERRA, L.; NAVARINI, L.; VIANELLO, A.; BRAIDOT, E. Lipase activity and antioxidant capacity in coffee (*Coffea arabica* L.) seeds during germination. **Plant Science**, v. 219, p. 19–25, 2014.
- PEREIRA, C. E.; PINHO, E.; OLIVEIRA, D. F.; KIKUTI, A. L. P. Determinação de inibidores da germinação no espermoderma de sementes de café (*Coffea arabica* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 24, n. 1, p. 306–311, 2002.
- PERGO, É. M.; ISHII-IWAMOTO, E. L. Changes in energy metabolism and antioxidant defense systems during seed germination of the weed species *Ipomoea triloba* L. and the responses to allelochemicals. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, n. 5, p. 500–513, 2011.
- ROSA, S. D. V. F. da; SANTOS, C. G. dos; PAIVA, R.; MELO, P. L. Q. de; VEIGA, A. D.; VEIGA, A. D. Inibição do desenvolvimento in vitro de embriões de *Coffea* por cafeína exógena. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 3, p. 177-184, 2006.
- SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Ascorbate peroxidase from rice seedlings: properties of enzyme isoforms, effects of stresses and protective roles of osmolytes. **Plant Science**, v. 167, n. 3, p. 541–550, 2004.
- SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. **Plant Growth Regulation**, v. 46, n. 3, p. 209–221, 2005.
- SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, p. 1-26, 2012.
- SRIDEVI, V.; PARVATAM, G. Influence of altitude variation on trigonelline content during ontogeny of *Coffea canephora* fruit. **Journal of Food Studies**, v. 2, n. 1, p. 62–74, 2013.
- SOFIATTI, V.; ARAUJO, E. F.; ARAUJO, R. F.; REIS, M. S.; SILVA, L.; CARGNIN, A. Uso do hipoclorito de sódio para degradação do endocarpo de sementes de cafeeiro com diferentes graus de umidade. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 1, p. 150–160, 2008.

- SRIVASTAVA, S.; DUBEY, R. S. Manganese-excess induces oxidative stress, lowers the pool of antioxidants and elevates activities of key antioxidative enzymes in rice seedlings. **Plant Growth Regulation**, v. 64, n. 1, p. 1–16, 2011.
- SOMPORN, C.; KAMTUO, A.; THEERAKULPISUT, P.; SIRIAMORNPUN, S. Effect of shading on yield, sugar content, phenolic acids and antioxidant property of coffee beans (*Coffea arabica* L. cv. Catimor) harvested from north-eastern Thailand. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 9, p. 1956–1963, 2012.
- TELLO, J.; VIGUERA, M.; CALVO, L. Extraction of caffeine from Robusta coffee (*Coffea canephora* var. Robusta) husks using supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 59, p. 53–60, 2011.
- VILELA, P. S.; RUFINO, J. L. dos S. Caracterização da cafeicultura de montanha de Minas Gerais. Belo Horizonte: Instituto Antônio Ernesto de Salvo, 2010.
- VILLARREAL, D.; LAFFARGUE, A.; POSADA, H.; BERTRAND, B.; LASHERMES, P.; DUSSERT, S. Genotypic and environmental effects on coffee (*Coffea arabica* L.) bean fatty acid profile: Impact on variety and origin chemometric determination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 23, p. 11321–11327, 2009.
- WANG, J.; ZHANG, H.; ALLEN, R. D. Overexpression of an Arabidopsis peroxisomal ascorbate peroxidase gene in tobacco increases protection against oxidative stress. **Plant and Cell Physiology**, v. 40, n. 7, p. 725–732, 1999.

## **CAPÍTULO I**

### **QUALIDADE FISIOLÓGICA E SENSORIAL DE SEMENTES DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.), PRODUZIDAS EM FUNÇÃO DA ALTITUDE E FACE DE INSOLAÇÃO**

#### **RESUMO**

O Brasil é responsável por cerca de um terço da produção mundial de café, sendo o maior exportador e o segundo consumidor da bebida. O cultivo é considerado um dos mais tradicionais na agricultura do país, tornando-se uma das commodities que mais contribuem com o PIB e na movimentação econômica do país. Minas Gerais é responsável por aproximadamente 50% da safra brasileira de café arábica, tendo como uma das principais regiões produtoras a “Região das Matas de Minas”. A região é caracterizada pelo relevo acentuado e clima favoráveis à cultura, destacando-se a região da Zona da Mata, pelo seu potencial para produzir café com qualidade sensorial excelente a superior (gourmets). O ciclo fenológico do cafeeiro apresenta variações segundo o local de produção, influenciando a duração dos estádios reprodutivos. Assim, a duração do seu ciclo pode ser mais longa em regiões de maior altitude. Igualmente a insolação influencia a qualidade das sementes de café produzidas em determinada região. A face de exposição à insolação e altitude são empiricamente conhecidos como fatores que favorecem a qualidade do café. Nas regiões montanhosas da zona de Minas Gerais é comum o uso de termos por parte dos produtores, para distinguir zonas que apresentam micro-climas específicos. As chamadas face Soalheira e face Noruega, fazem referência às características climáticas e a orientação das encostas onde é praticada a cafeicultura de montanha. Existem poucos estudos que documentem a qualidade das sementes de café produzidas sob os micro-climas das faces Soalheira e Noruega. Assim, foram avaliadas sementes de café produzidas na região das Serras do Brigadeiro e do Caparaó nas Matas de Minas (Mata Atlântica), durante o ano 2013 e 2015. Amostras de 10 Kg de frutos de café (cultivar Catuaí vermelho) em estágio cereja, foram coletados manualmente em 470 pontos amostrais em 29 municípios. As amostras foram divididas em duas partes, 7 Kg para a análise de qualidade fisiológica das sementes e 3 Kg para o análise sensorial do grão. As amostras foram coletadas em dois

grupos de exposição solar: Soalheira Quente e Noruega Fria e dois estratos altitudinais (abaixo de 750 m e acima de 900 m). As amostras foram transportadas diariamente à unidade de beneficiamento de sementes na UFV, despulpadas em despulpador manual e desmuciladas por fermentação natural em água, durante 24 h, em temperatura ambiente. Em seguida, as sementes foram lavadas e secas à sombra sobre papel. Foram realizadas as seguintes análises de qualidade fisiológica: primeira contagem, germinação total, comprimento de raiz, massa seca das plântulas e da raiz, condutividade elétrica e lixiviação de potássio. Também foram determinadas o teor de água e a análise sensorial da bebida. A análise sensorial da bebida (prova de xícara) foi realizada por três provadores por repetição (amostra), utilizando a metodologia adotada pela Associação Brasileira de Cafés Especiais (BSCA – Brazil Specialty Coffee Association). Sementes produzidas na face Noruega Fria com altitude abaixo de 750 m (NF<750) apresentaram menor lixiviação de potássio, maiores valores de massa seca de raiz e comprimento de raiz e maior porcentagem na primeira contagem, porém sua qualidade sensorial apresentou as menores notas. Sementes geradas na face Soalheira Quente com altitude acima de 900 m (SQ>900m) foram as que apresentaram a melhor qualificação na análise sensorial. Entretanto, não houve diferença significativa na porcentagem de germinação das sementes nem na condutividade elétrica. O ambiente de crescimento (altitude e face de insolação) influenciou a porcentagem de plântulas normais na primeira contagem, o comprimento de raiz principal, a massa seca total da plântula, a massa seca da raiz, a lixiviação de potássio e a qualidade sensorial. A face influi no comprimento das raízes finas.

## CHAPTER I

### **PHYSIOLOGICAL AND SENSORY QUALITY OF COFFEE SEEDS (*Coffea arabica* L.), PRODUCED IN FUNCTION OF THE ALTITUDE AND FACE OF SUN EXPOSURE**

#### **ABSTRACT**

Brazil is responsible for about one third of the world coffee production, being the largest exporter and the second consumer of the beverage. The crop is considered one of the most traditional in agriculture in the country, becoming one of the commodities of most contribution to the GDP and to economic movement of the country. The state of Minas Gerais is responsible for approximately 50% of the Brazilian *Coffea arabica* harvest, one of the main producing areas is the known as "*Region das Matas de Minas*". The region is characterized by marked relief and climate favorable to the culture, highlighting the region known as Zona da Mata, for its potential to produce coffee with sensory quality excellent to superior (gourmets). The phenological cycle of the coffee plant presents variations according to the place of production, influencing the duration of the reproductive stages. Thus, the duration of its cycle may be longer in regions of higher altitude. Also, the face of sun exposure influences the quality of the coffee seeds produced in a certain region. The face of sun exposure and altitude are empirically known as factors that favor coffee quality. In the mountainous regions of Minas Gerais, the use of terms by producers is common to distinguish zones with specific microclimates. The calls face "Soalheira" mountainside and face "Noruega" mountainside, make reference to the climatic characteristics and the orientation of the slopes where mountain coffee is practiced. There are few studies that document the quality of coffee seeds produced under the microclimates of the faces "Soalheira" mountainside and "Noruega" mountainside. Thus, coffee seeds produced in the region of Serras do Brigadeiro and Caparaó in Matas de Minas (Mata Atlantica) were evaluated during the year 2013 and 2015. 10 kg of coffee fruits (Catuaí red cultivar) in the cherry stage were collected manually at 470 sampling points in 29 municipalities. The samples were divided into two parts, 7 kg for the physiological quality analysis of the seeds and 3 kg for the sensory analysis of the grain. The samples were collected in two groups of sun

exposure: “Soalheira” mountainside and “Noruega” mountainside and two altitudinal strata (below 750 m and above 900 m). The samples were transported daily to the seed processing unit at the Federal University of Viçosa, depulped with coffee pulper machine and demucilled by natural fermentation in water for 24 hours at ambient temperature. Then the seeds were washed and dried in the shade in paper. The following physiological quality analyzes were performed: first count, total germination, root length, dry mass of seedlings and root, electrical conductivity and potassium lixiviation. The water content and the sensorial analysis of the beverage were also determined. The sensorial analysis of the beverage (cup test) was performed by three tasters per repetition (sample), using the methodology adopted by the Brazilian Specialty Coffee Association (BSCA). Coffee seeds produced on the face of “Noruega” mountainside with an altitude below 750 m, showed lower potassium lixiviation, higher values of dry root mass and root length and higher percentage in the first count, but its sensorial quality presented the lowest notes. Seeds generated on the face “Soalheira” mountainside with an altitude above 900 m presented the highest notes in the sensorial analysis. However, there was no significant difference in the percentage of germination and in the electrical conductivity. The growth environment (altitude and face of sun exposure) influenced the percentage of normal seedlings in the first count, main root length, total dry mass of the seedlings, root dry mass, potassium lixiviation and sensorial quality. The face of sun exposure also influences the length of the fine roots.

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café (*Coffea arabica* L.) e segundo maior consumidor do produto, com uma área total plantada de *Coffea arabica* L e *Coffea canephora* L. de 2.248.565,8 hectares em 2016 (CONAB, 2016). O país produz cerca de 2.592 milhões de toneladas (49 a 50 milhões de sacas), respondendo por 30% da produção mundial (MAPA, 2016). A região das Matas de Minas, situada na área de Mata Atlântica no leste do Estado de Minas Gerais é uma região promissora para a produção de café de qualidade. Esta zona abrange as regiões das Serras do Brigadeiro e do Caparaó, conhecida pelo relevo de montanha, que confere condições climáticas e de solo adequadas para a produção de café de alta qualidade. A região é formada por 63 municípios e tem potencial para produzir café com qualidade sensorial excelente a superior (*gourmets*). Alguns fatores ambientais estão associados com a produção destes cafés em determinados *terroirs*, mesmo que, em alguns casos, seja desconhecido o fator que afeta a produção e a qualidade. A associação das condições ambientais como a altitude, face de exposição da encosta onde encontra-se as plantas, o cultivar e fatores climáticos como temperatura e precipitação são determinantes para o acúmulo de compostos químicos no grão cru (GUYOT et al., 1996; DECAZY et al., 2003; AVELINO et al., 2005a; JOËT et al., 2010; BARBOSA et al., 2012).

A determinação da qualidade sensorial da bebida de café é realizada por meio da prova de xícara, na qual são avaliados o seu aroma e sabor (BRASIL, 2003) depois da torra. Concomitantemente a prova da xícara, a Associação Brasileira de Cafés Especiais (BSCA, 2014), determina a qualidade da bebida mediante o uso de metodologias mais detalhadas. Na metodologia da BSCA 2014, cada amostra começa com uma pontuação inicial de 36 pontos, aos quais são incorporados notas, de 0 a 8 pontos, para oito atributos avaliados (bebida limpa, doçura, acidez, corpo, sabor, retrogosto, balanço e geral). As amostras que obtém nota superior a 80 pontos são consideradas como cafés especiais. Estas características, associadas às condições de clima, altitude, cultivar, características de solos e processamento pós-colheita, conferem características únicas ao café da região. Isto, confere o selo de denominação de origem (*terroirs*), fundamentais para associar a estes cafés um padrão de qualidade especial, único dessa região de produção. Segundo Malta (2011), para a diferenciação de cafés especiais são levados em consideração atributos de aroma floral, cítrico, entre outros, e características especiais de sabor como achocolatados, amendoim torrado, caramelo e outros. Dessa forma, além da nota numérica atribuída a uma amostra, os provadores podem descrever

as características que nela se destacam.

A orientação da face de exposição da encosta à insolação e altitude são empiricamente conhecidos como fatores que favorecem a qualidade do café. Assim, nas regiões de montanhosa da zona de Minas Gerais é comum o uso de termos para distinguir micro-climas específicos por parte dos produtores. Os termos denominados faces Soalheira e faces Noruega, fazem referência à topografia das montanhas, principalmente em relação às características climáticas e a orientação das encostas onde é praticada a cafeicultura de montanha (FERREIRA et al., 2012). Assim sendo, no hemisfério Sul, a parte das montanhas com exposição voltada para Sul é chamada “Vertente”, “Encosta” ou “faces Noruega”; e aquela parte voltada para o Norte é denominada “Vertente”, “Encosta” ou “faces Soalheira” (FERREIRA et al., 2012).

Além de influenciar a qualidade sensorial da bebida de café, as condições de clima e relevo podem também interferir na qualidade das sementes que serão utilizadas para a produção de mudas. No entanto, existem poucos estudos científicos que documentem a qualidade das sementes de café produzidas sob os micro-climas das faces Soalheira e Noruega, que têm diferenças significativas na temperatura, radiação e altitude, possibilitando a formação de condições climáticas amenas para a produção de sementes. O ambiente exerce influência ao longo do desenvolvimento e maturação das sementes de café, quando vários compostos são sintetizados ou quimicamente alterados. Sementes de café provenientes de diferentes áreas geograficamente distantes, principalmente de diferentes continentes têm perfis metabólicos diferentes (CHOI et al., 2010).

A temperatura está relacionada com a altitude e a faces de exposição da encosta, sendo um fator que influi diretamente no desenvolvimento do fruto e da semente. Assim, Camargo e Camargo (2001) sugerem que o estresse por alta temperatura ocasiona crescimento mais rápido que, conseqüentemente, leva à produção de grãos de café com qualidade sensorial inferior. Os efeitos destas mesmas variáveis sobre a qualidade da semente não estão completamente elucidados. Sementes de café produzidas em diferentes regimes de insolação apresentaram diferenças no tamanho, com sementes maiores em condições de baixa insolação (GEROMEL et al., 2008). A diferencia no tamanho das sementes em algumas espécies podem estar associada com uma maior sobrevivência de mudas estabelecidas e em muitas espécies pode ser considerada como um indicativo da qualidade fisiológica.

Características geográficas como relevo e altitude são fatores importantes que influenciam na produção e a qualidade sensorial do grão de café e podem afetar a qualidade fisiológica das sementes. A faixa de altitude apta para o cultivo de cafeeiros arábica é de 500 a 1300 m, sendo a faixa ideal cerca de 1000 m para a produção de café com boa qualidade sensorial (BOTELHO et al., 2010). A interação de fatores ambientais como alta altitude e insolação promove a formação de micro-climas que podem expor o café a diferentes faixas de temperatura, mudando os períodos de ocorrência dos ciclos fenológicos. Assim, a quantidade de luz interceptada é responsável por mudanças no metabolismo da planta e na maturação dos frutos, que está diretamente relacionada com a qualidade final de bebida (MONTAVON et al., 2003; BERTRAND et al., 2006; GEROMEL et al., 2006; VAAST et al., 2006).

Trabalhos realizados na região do sul de Minas Gerais em grãos de café com defeitos (verdes, ardidos, pretos e preto verdes, entre outros defeitos) em relação aos grãos sem defeitos, mostraram diferenças na condutividade elétrica, na lixiviação de potássio e na maior atividade da polifenoloxidase (PPO). Os autores observaram que grãos sem defeitos podem proporcionar uma melhor qualidade da bebida (DE REZENDE CHAGAS; MALTA; PEREIRA, 2005), o que provavelmente pode estar associado também a melhor qualidade fisiológica, embora não tenham sido feitos estudos nesta área.

Plantas de café submetidas à menor radiação solar produzem sementes de melhor qualidade fisiológica devido à evolução mais lenta do seu desenvolvimento, uma vez que essa condição favorece o adequado enchimento e maturação mais lenta para os grãos (VAAST et al., 2006; BALIZA et al., 2012). No entanto, os efeitos de fatores climáticos contrastantes de temperatura e altitude (alto ou baixo) sobre a qualidade da semente são pouco elucidados. Vários estudos têm demonstrado que as sementes de café têm germinação lenta e desuniforme e geralmente têm baixo potencial de conservação no armazenamento (GUIMARÃES et al., 2002; PEREIRA et al., 2002; ROSA et al., 2006; MACEDO; LOPES, 2008; SOFIATTI et al., 2008). Assim, estudos relacionados aos efeitos das condições locais de altitude e insolação (presença ou ausência de sombreamento) sobre a qualidade fisiológica das sementes de café podem ser importantes para a obtenção de sementes com maior qualidade fisiológica.

Diante do exposto, o objetivo foi avaliar a qualidade fisiológica das sementes de café (*Coffea arabica* L.) e a qualidade sensorial do grão em função da insolação e da altitude e face de exposição da montanha do local de produção.

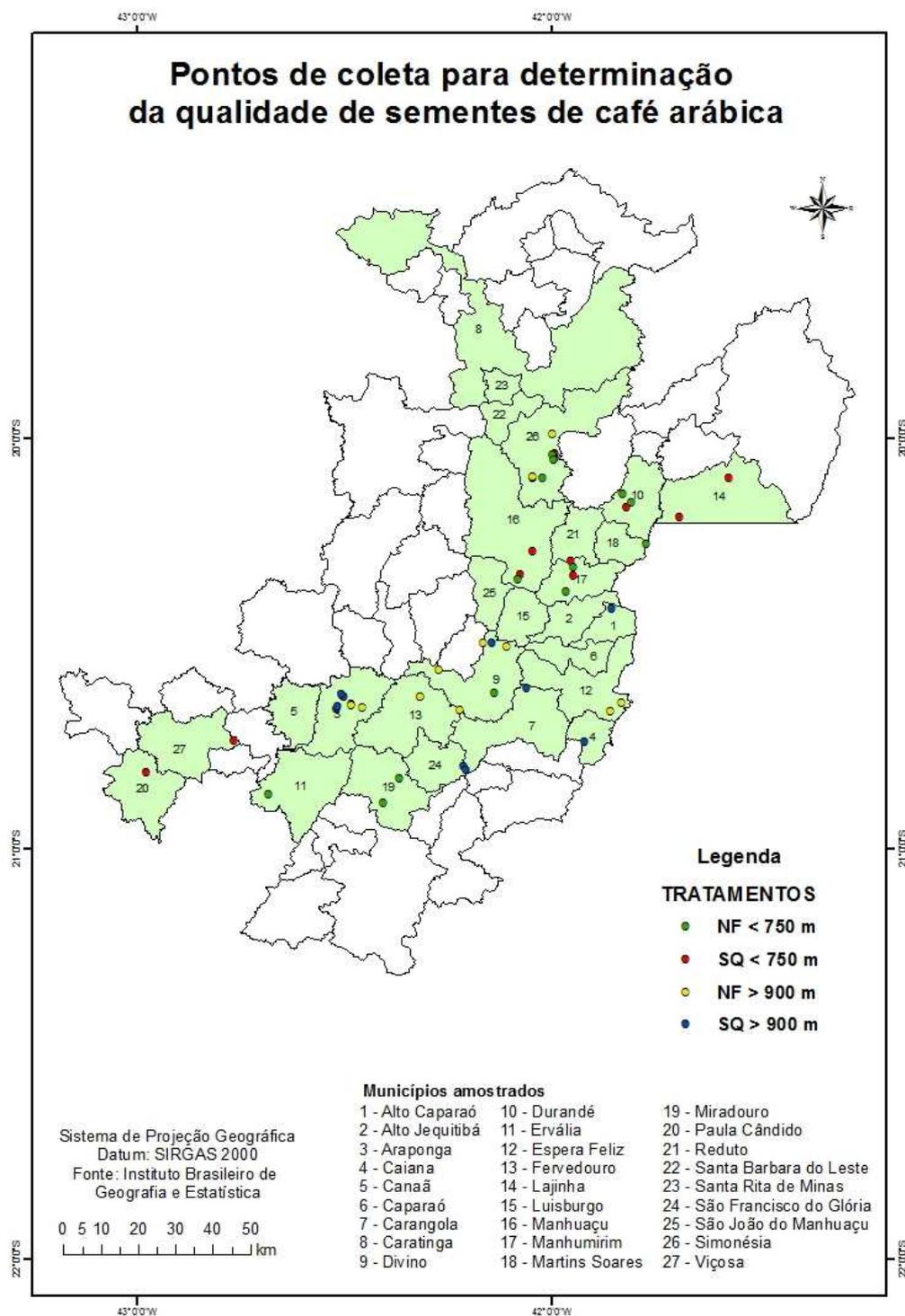
## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Coleta das amostras

Foram avaliadas sementes de café produzidas na região das Serras do Brigadeiro e do Caparaó nas Matas de Minas, situada na área de Mata Atlântica, estado de Minas Gerais, Brasil. Para isto, foram coletadas amostras de Café (*Coffea arabica* L.), cultivar Catuaí Vermelho, em 470 pontos amostrais em 29 municípios (Fig. 1). As regiões de amostragem foram selecionadas em plantações comerciais localizadas na região mencionada durante os anos 2013 e 2015. Para isso, levou-se em consideração parâmetros de orientação da face de exposição solar da encosta e a altitude. Logo após foram georreferenciadas com GPS (Garmin® Etrex 30), registrando sua latitude, longitude e altitude, para facilitar a coleta das amostras no período de colheita. Para cada ponto amostral foi preenchida, ainda em campo, uma ficha, contendo informações para sua identificação e caracterização do tipo de fertilização entre outras atividades realizadas durante o desenvolvimento da lavoura. A região estudada tem uma área total de 275.000 ha, com altitudes mínimas de 528 m e máximas de 1321 m e encontra-se entre as latitudes 19° 26' 53.5 e 21° 09' 45.7" sul e 41° 24' 11.4" e 43° 05' 07.2" oeste.

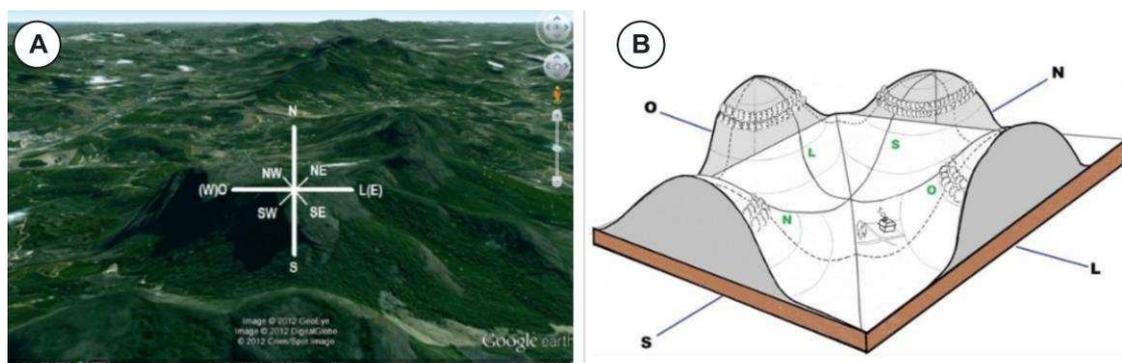
Em cada ponto amostral foram coletados manualmente 10 kg de frutos no estágio 88 na escala BBCH para café (ARCILA-PULGARÍN et al., 2002), com maturidade fisiológica completa, apresentando exocarpo completamente vermelho (estádio cereja). As amostras foram divididas em duas partes, sendo usados 3 kg para o análise sensorial do grão e 5 kg para a análise de qualidade fisiológica das sementes. Essas amostras foram coletadas em dois grupos de exposição solar: Soalheira quente e Noruega fria e dois estratos altitudinais (abaixo de 750 m e acima de 900 m).

Os grupos de exposição solar foram definidos usando pontos cardeais. A face da encosta de frente para o Noroeste (NW), Oeste (W) e Norte (N) e Nordeste (NE) representam a Soalheira e a face da encosta virada para Sudeste (SE), Este (E) e Sul (S) representa o grupo Noruega Figura 2. A face Soalheira que recebe mais sol durante o dia e o ano, tem a orientação das montanhas voltadas para o Norte (Noroeste), sendo esta face a mais quente durante o dia e ano (Figura 2), denominando-se Soalheira quente. Por outro lado, dentro da encosta Noruega, a face Sudeste é a mais fria ao longo do dia e ano, denominando-se Noruega fria (FERREIRA et al., 2012).



**Figura 1.** Localização dos pontos de colheita dos frutos de café produzidas em diferentes faces e altitudes da Zona das Matas de Minas Gerais.

A face Soalheira quente é caracterizada pelos maiores valores médios do número de horas de incidência solar direta (8:25h–10:49h) que variam dependendo dos solstícios de inverno e de verão e dos equinócios de outono e da primavera, que conseqüentemente variam os valores de intensidade luminosa (face com alta intensidade luminosa). A Contra-face ou Noruega Fria é caracterizada pelos menores valores médios de número de horas de incidência solar direta (8:35h–9:16h), variando de acordo ao solstício de inverno e de verão e ao equinócio de outono e da primavera, que conseqüentemente variam os valores de intensidade luminosa (baixa intensidade Luminosa).



**Figura 2. A.** Vista da orientação da encosta mostrando os pontos cardeais de uma montanha com 1.520 m de altitude localizada a  $20.42^{\circ}$  S e  $42.12^{\circ}$  W na região entre São João do Manhuaçu e Luísburgo, ambos em Minas Gerais. Região do alto Caparaó. Fonte: Ferreira et al. (2012) e Adaptação do GOOGLE EARTH (2012). **B.** Representação, na região de montanhas, dos pontos cardeais Norte (N), Sul (S), Leste (L) e Oeste (O ou W) e as respectivas faces de exposição das encostas (destacadas na cor verde). Crédito: Yane Valois Souza Ferreira (2016).

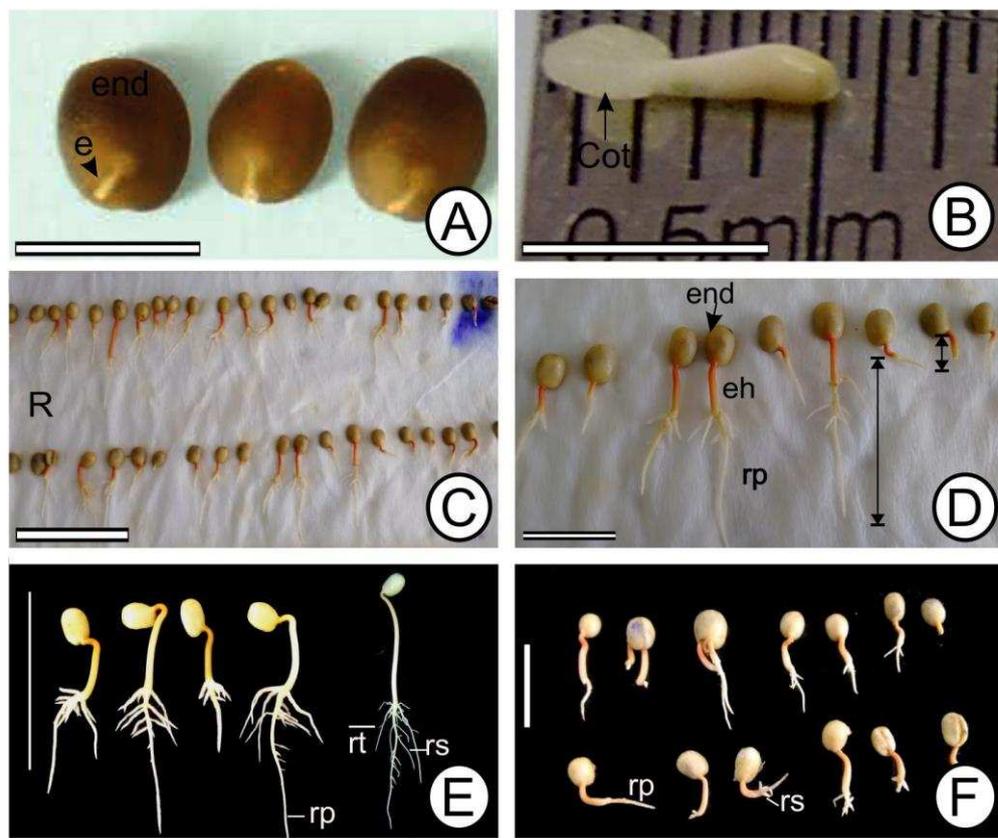
As amostras de café foram coletadas manualmente de várias plantas com as faces voltadas para a encosta Soalheira quente e Noruega fria no lado voltado para as entrelinhas, e foram agrupadas formando uma amostra composta representativa do ponto amostral, completando 470 pontos amostrais. Concomitante à amostragem de frutos, foi coletado 1 kg de amostra composta de solo para a realização da análise de fertilidade. Após a colheita, os frutos foram transportados diariamente das regiões de coleta para a Unidade de Beneficiamento de Sementes da Universidade Federal de Viçosa onde foram despulpados mediante o uso de despulpador manual, e desmucilados

por fermentação natural em água durante 24 h, em temperatura ambiente. Em seguida, as sementes foram lavadas e secas à sombra sobre papel. Logo após, foram realizados testes iniciais de qualidade fisiológica da semente (germinação e primeira contagem), análise sensorial do grão e análise de solo do total dos pontos amostrais. Baseados nos resultados das análises fisiológicas e sensoriais acima mencionados, foram padronizados os pontos amostrais coletados para as posteriores análises. Para isso, foram eliminados os pontos cujos resultados dos testes de germinação e qualidade fisiológica foram muito discrepantes e com valores da análise da qualidade sensorial da bebida inferior a 8.0, por considerar-se café de qualidade inferior. Foram utilizados os pontos amostrais onde a interpretação da análise de solo apresenta-se valores nutricionais ótimos na norma estabelecida na quinta aproximação (RIBEIRO; GUIMARÃES; ALVAREZ, 1999), para uniformizar a amostra e eliminar o efeito da fertilidade do solo. Finalmente, treze repetições biológicas com quatro replicatas cada, para cada combinação de face e altitude, foram utilizadas para as demais análises totalizando 208 amostras.

## **2.2. Avaliações da qualidade fisiológica das sementes**

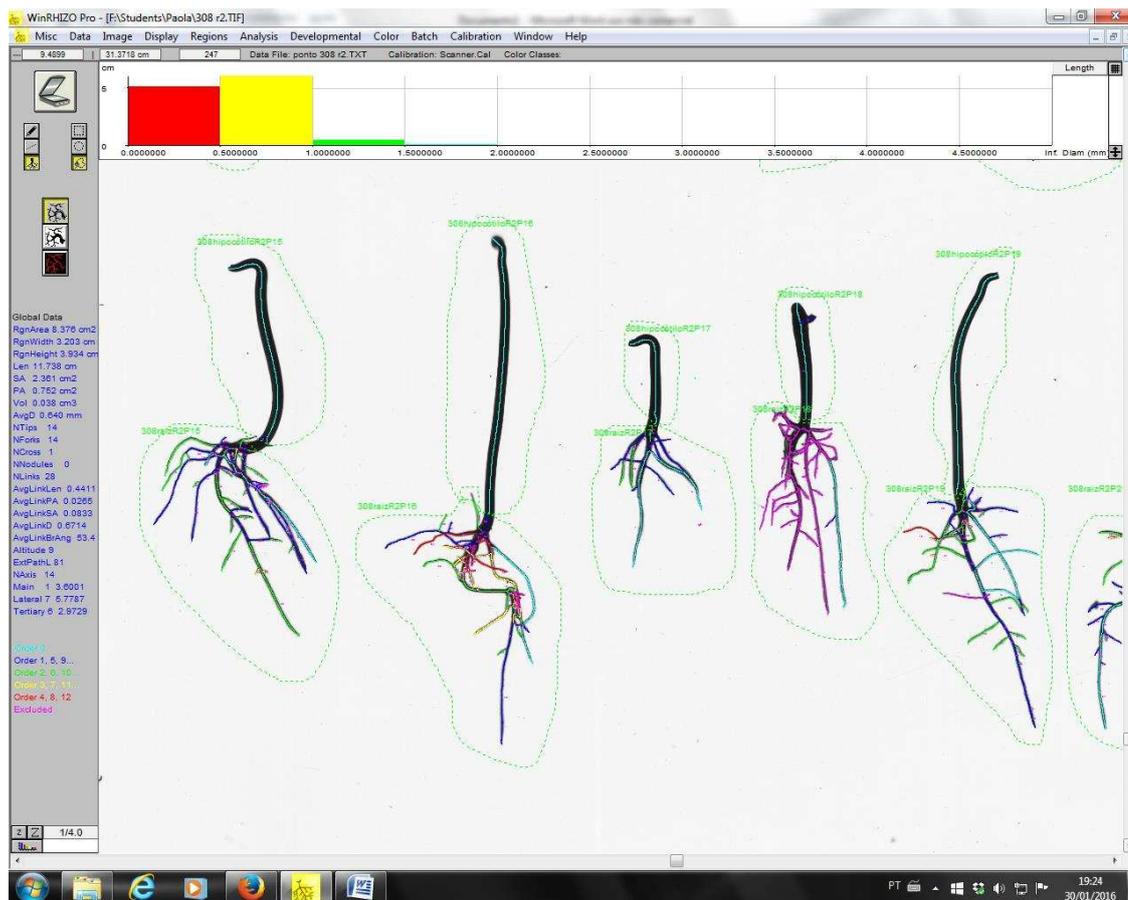
Foram conduzidas no laboratório de Análise de Sementes no Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). **Teor de água** foi avaliado pelo método da estufa, a 105 °C por 48 h, com quatro repetições de 25 sementes cada, sendo o teor de água expresso em porcentagem (BRASIL, 2009). **Primeira contagem da germinação (PC)** e **Germinação total (GT)** foram conduzidos concomitantemente, com quatro repetições de 50 sementes sem endocarpo (pergaminho), que foram retirados manualmente, semeadas em rolos de papel toalha Estes rolos foram previamente umedecidos com água destilada na proporção de 2,5 vezes a sua massa inicial, e mantidos em germinador a temperatura de 30 °C (BRASIL, 2009). A avaliação de PC foi realizada 21 dias após do início do teste, a germinação total foi registrada após 30 dias do início do teste (BRASIL, 2009) (Figura 3 C-D). Sementes que apresentaram protrusão da raiz primária e no mínimo três raízes secundárias na primeira contagem do teste, e a estrutura aérea com comprimento concomitante com a raiz, foram consideradas como plântulas normais. Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais. **Determinação de comprimento da raiz** foram seguidos os procedimentos descritos acima para o teste de germinação. Aos seis dias após a semeadura as sementes foram posicionadas para que a raiz emitida siga o

geotropismo. Foram utilizadas 4 repetições de 50 sementes e a avaliação foi realizada aos 30 dias. As plântulas normais foram coletadas em potes contendo 250 mL de álcool 30% para posteriores medições das diferentes raízes no WhinRHIZO. Para isso, obteve-se a média das variáveis das raízes de 15 plântulas normais, escolhidas ao acaso, por tratamento/repetição.



**Figura 3.** Estrutura das sementes e das plântulas de café usadas nos testes de qualidade fisiológica e análises bioquímicas. **A.** Semente mostrando posição do embrião para extração após 24 h de embebição. **B.** Embrião extraído para análise bioquímica após 24 h de embebição. **C e D.** plântulas normais na PC da germinação, após 21 dias de implantado o teste. **E.** Plântulas normais após 30 dias de implantado o teste de germinação e usadas na determinação de parâmetros de raiz com o WhinRhizo. **F** Plântulas anormais. *E:* embrião, *cot:* cotilédone, *R:* rolo, *end:* endosperma, *eh:* hipocótilo, *rp:* raiz principal, *rs:* raiz secundária, *rt:* raiz terciária

O comprimento, a morfologia e o diâmetro foram medidos usando o sistema de análise de imagens WinRHIZO Basic, Reg, Pro & Arabidopsis 2013 (Reagent Instrument Canadá INC.). As plântulas obtidas aos 30 dias (Fig. 3E) foram colocadas em uma cuba acrílica de 30 cm x 40 cm de comprimento, contendo 1000 mL de água destilada sobre o Scanner EPSON® LA2400. Estas, foram dispostas dispersas ao longo da cuba verificando a total imersão delas e evitando sobreposição entre plântulas e entre as raízes (Fig. 3C- 3E; Fig. 4).



**Figura 4.** Diâmetros avaliados e disposição das plantas na cuba de mensuração do WinRhizo, Basic, Reg, Pro & Arabidopsis 2013. As raízes são apresentadas com colorações diferentes dependendo do diâmetro e o valor total de cada diâmetro/planta é apresentado no gráfico de barras na parte superior do programa. Os diâmetros das raízes são mostrados em diferentes cores. Vermelho: diâmetro menor a 0,5 mm, amarelo: diâmetro entre 0,5 a 1.0 mm, verde: diâmetro entre 1,0 a 1,5 mm, azul: diâmetro entre 1,5 a 2,0 mm, roxo: diâmetro superior a 2mm.

Baseados nas metodologias de Motta (2008) e Gutiérrez-Soto (2014) definidas por seu aspecto morfológico, raízes finas (RF) aquelas com diâmetro menor a 0,5 mm; raízes médias (RM), de 0.5 mm a 1.5 mm; e raízes grossas (RG), maior que 1.5 mm (Fig. 4). As RF, RM e RG correspondiam, respectivamente, às raízes absorventes, raízes suporte das absorventes e raízes permanentes. Em cada uma das três classes de raízes determinaram-se o comprimento (cm/plântula).

**A massa seca total e de raízes** foi realizada após da medição das raízes. Para tanto, as plântulas foram levadas a estufa de ar de circulação forçada a  $72 \pm 2$  °C durante 48 h, acondicionadas em de sacos de papel. O material foi pesado em balança de precisão de 0,001 g, o resultado foi expresso em g plântula<sup>-1</sup>.

**A determinação da Condutividade elétrica (C.E)** foi realizada em sementes sem o endocarpo (pergaminho) com seleção criteriosa para evitar injúrias e patógenos, insetos e danos mecânicos. Quatro repetições de 25 sementes foram pesadas em balança com precisão de 0.001 g e colocadas em 75 ml de água destilada, a 25 °C, por 48 h, segundo a metodologia de VIEIRA e KRZYZANOWSKY (1999). Após este período, o conteúdo dos copos foi homogeneizado com bastão de vidro e foi feita a leitura da condutividade elétrica em condutímetro Digimed DM-32. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ . Antes da realização do teste de condutividade elétrica foi determinado o grau de umidade das sementes pelo método da estufa descrito acima.

Para a determinação da **lixiviação de Potássio (LK)** foram utilizadas alíquotas de 5 mL retiradas de cada exsudado da solução obtida após a avaliação da condutividade elétrica, na diluição 1:10 (lixiviado: água, v:v). As leituras foram realizadas em fotômetro de chama CELM FC-280. O cálculo da lixiviação de potássio foi realizado pela multiplicação da concentração de K na solução ( $\text{mg L}^{-1}$  de K) pelo volume de água destilada (mL) e dividido pela massa de sementes da amostra (g). Os resultados foram expressos em  $\text{mg L}^{-1}\text{K g}^{-1}$  de semente.

### **2.2.1. Análise sensorial**

Em cada ponto amostral foram coletadas amostras frutos de café de diferentes plantas e juntadas até completarem de três kg, logo após foram embaladas em sacas plásticas, completando 420 amostras compostas. Estas, foram armazenadas em BOD a 20 °C e umidade relativa de 60%, até serem encaminhadas a sede do “Instituto Mais Café”, localizado em Manhumirim, onde foram processadas. As amostras foram descascadas utilizando um descascador manual com fluxo de água contínuo, secas em

secador de leito fixo sobre bandejas, com queimador a gás a 40 °C, até atingir 12% b.u. O teor de água no grão, foi monitorado com um medidor digital de umidade para cereais marca Gehaka modelo G800, e logo após, descascadas com descascador de amostra portátil modelo DRC-1 no 830. A análise sensorial da bebida (prova de xícara) foi realizado por três provadores por repetição (amostra), utilizando a metodologia adotada pela BSCA (BSCA, 2014), cada provador efetuou uma determinação por amostra, sendo cada amostra composta de cinco xícaras. Os provadores profissionais pertencem ao grupo dos Q-Graders. Foram avaliados os atributos padrões organolépticos de bebida: doçura, acidez, corpo, sabor, retrogosto, balanço, bebida limpa e geral. Nessa metodologia, cada amostra tem uma nota de partida de 36 pontos, as quais vão sendo incorporadas as notas de cada atributo (0 – 8), compondo o escore final.

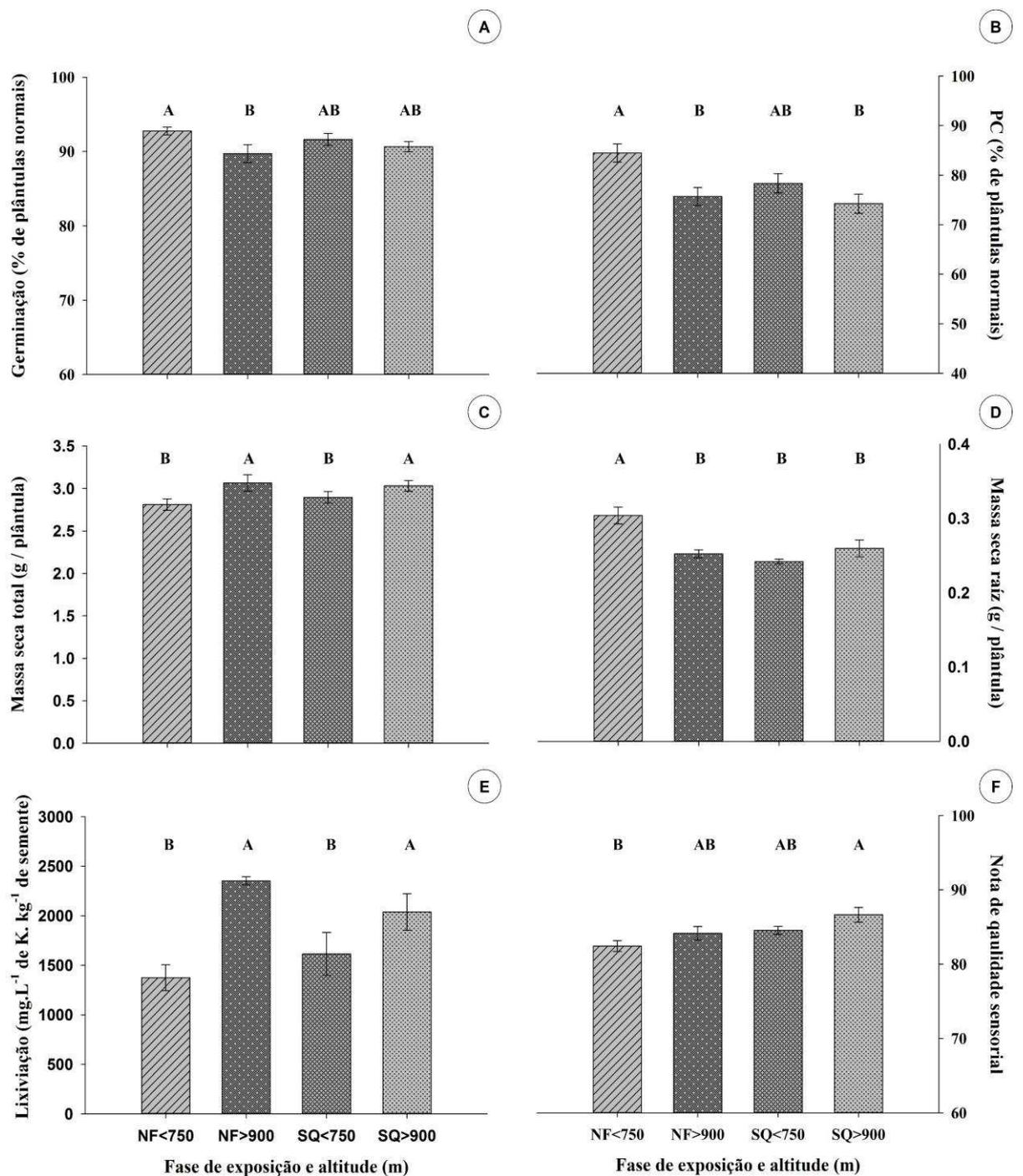
### **3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL**

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo 2 altitudes e 2 faces de insolação (2x2), com quatro repetições por unidade de amostragem. Os dados obtidos de qualidade fisiológica e bioquímica das sementes e a qualidade sensorial do grão foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e a comparação de medias foram realizadas através do teste de Tukey ( $p>0,05$ ). As análises estatísticas foram realizadas no programa SAS Versão 9.2.

### **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Observa-se que o ambiente de crescimento das plantas (altitude e faces da montanha) provocam diferenças na qualidade fisiológica das sementes. As sementes apresentaram alterações na porcentagem de plântulas normais na germinação (G), na primeira contagem (PC) do teste de germinação, na massa seca total da raiz (MSR), da plântula (MST), na lixiviação de potássio (LK) (Fig. 5B- 5E) e nas variáveis de comprimento e diâmetro de do sistema radicular (Fig. 6A – 6D).

As sementes produzidas na face Noruega Fria com altitude abaixo de 750 m (NF<750) tiveram maiores valores de porcentagens de germinação, de plântulas normais na PC e também os maiores valores de MSR e menor LK (Fig. 5A a 5D e 5E).



**Figura 5.** Qualidade de sementes de café coletadas nas faces de exposição Noruega Fria (NF) e Soalheira Quente (SQ), em duas faixas de altitude (abaixo de 750 e acima de 900 m.). A. Germinação total; B. Germinação na primeira contagem; C. Massa seca de raiz; D. Massa seca total; E. lixiviação de potássio; F. Qualidade sensorial. Letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa pelo Teste de Tukey ( $p > 0.05$ ).

Em relação à qualidade sensorial, os produzidos na face NF<750, foram os que apresentaram as menores notas entre todas as combinações de face e altitude (Fig. 5F). Possivelmente, a baixa incidência de luz solar na face NF<750, tenha causado aumento do período de maturação dos frutos de café, que foi positivo para formação e qualidade das sementes, mas de alguma forma interferiu na produção de uma bebida superior.

Por outro lado, há aparente relação entre o efeito da altitude e da temperatura nas mesmas faces (NF ou SQ) com diferentes altitudes, como visto como na GT, PC, MST, MSR e LK. Também pode-se estabelecer uma possível relação entre as temperaturas elevadas e menor altitude que, conseqüentemente, levam ao menor acúmulo de nutrientes no fruto e da semente. Isto foi refletido nos menores valores significativos de MST e nos resultados do peso de mil sementes que foi menor (dados não mostrados) na Fase Soalheira Quente abaixo de 750 m (SQ<750) quando comparados na mesma face e maior altitude.

Segundo Laviola et al (2007b), é possível que os efeitos da altitude, principalmente os relacionados à temperatura tenham menor influência nas primeiras semanas de formação do fruto de cafeeiro. No entanto, nos estádios avançados, o enchimento de grãos é mais crítico em condições de menor altitude, já que a planta necessita completar esses processos em menor espaço de tempo (LAVIOLA et al., 2007b). Esses efeitos possivelmente também podem ser refletidos na qualidade fisiológica da semente. Segundo Laviola et al. (2007a), no estágio de granação, também chamado de enchimento do endosperma, é quando a maior parte da matéria seca é depositada principalmente nas sementes.

O acúmulo de micronutrientes durante o enchimento do endosperma ocorre em menor período de tempo na altitude de 720 m (LAVIOLA et al., 2007a). Considerando as descobertas destes autores, pode-se afirmar que a altitude pode ter tido influência na velocidade de transporte dos nutrientes para os frutos e sementes. Essa influência pode ser na fase inicial de desenvolvimento dos frutos (estádio de rápida expansão), onde o acúmulo de matéria seca ocorre, por deposição de substâncias de parede celular (celulose, hemiceluloses e pectinas) (LAVIOLA et al., 2007a; TAIZ; ZEIGER, 2004) ou na fase de granação (enchimento) e maturação, em que o acúmulo de matéria seca ocorre, por deposição de material de reserva (LAVIOLA et al., 2007a; RENA et al., 2001). Assim, devido ao aumento da velocidade de maturação das sementes, decorrente das elevadas temperaturas, pode ter modificações no tempo de acúmulo de fotoassimilados o que possivelmente muda a composição química das sementes. Além

disso, a temperatura, também pode alterar a taxa de transporte de nutrientes, assim como a partição de fotoassimilados no floema. Segundo Taiz e Zeiger (2009), o resfriamento de um tecido-dreno inibe as atividades que necessitam de energia metabólica (gerada pela redução do acúmulo de sacarose), resultando na diminuição da velocidade do transporte dos fotoassimilados em direção ao dreno. A orientação da face NF apresenta localidades com temperaturas mais amenas, com menores valores médios de temperatura ambiente (FERREIRA et al., 2012), no presente estudo observou-se que, sementes produzidas nesta face e na menor altitude (>750 m) e menor temperatura ambiente pela menor radiação solar apresentaram valores significativamente maiores na germinação (Fig. 5A), na PC (Fig. 5B) e na MSR (Fig. 5D), que reflete a velocidade de germinação e vigor. Assim, sementes colhidas na NF>750 mostraram o efeito da encosta, altitude e temperatura do local de colheita sobre a porcentagem final de germinação e também tiveram maior velocidade de germinação, o que é interessante para sementes de café que têm germinação lenta e desuniforme.

Por outro lado, também houve um aparente efeito de elevada altitude e da temperatura no desenvolvimento da semente e no grão, uma vez que os maiores teores de MST e qualidade sensorial encontram-se nas faces com altitudes maiores a 900 m (Fig. 5C e 5F). Possivelmente este efeito esteja associado às baixas temperaturas, já que elas diferenciam o desenvolvimento do fruto, alterando as fases fenológicas de maturação dele em regiões com maiores altitudes. Nestas regiões de maior altitude, a planta de cafeeiro leva maior tempo para completar o ciclo reprodutivo, e em menores altitudes o tempo de amadurecimento do grão é menor afetando a qualidade da bebida (FERREIRA et al., 2012; LAVIOLA et al., 2007b). O efeito das menores temperaturas recorrentes de altitudes mais elevadas, é especialmente o observado entre os estádios de desenvolvimento do endosperma, duração dos estádios reprodutivos, a maturação do fruto, bem como a extensão do ciclo produtivo do cafeeiro (LAVIOLA et al., 2007b). Segundo os autores, a extensão dessas fases está diretamente relacionada com o maior acúmulo relativo de matéria seca nas sementes de café. Em condições de menor altitude, o consumo de nutrientes pelos frutos, assim como o enchimento das sementes, é mais crítico, já que a planta necessita completar esses processos em menor espaço de tempo, prejudicando a qualidade sensorial do café. Esses autores, também encontraram que o acúmulo relativo de nutrientes durante o enchimento do endosperma foi maior na altitude de 950 m, quando comparada à de 720 m causado pelo acúmulo antecipado de

micronutrientes nas primeiras fases de formação do fruto na altitude de 720 m, correspondendo assim com os resultados do presente trabalho.

As baixas temperaturas podem intensificar a degradação das membranas, levando a maiores valores de lixiviação de potássio e condutividade elétrica, que são indicadores da integridade da membrana e da parede celular (AMORIM, 1978; GOULART et al., 2007). A face Noruega é caracterizada por ter menores temperaturas, que favorecem o desenvolvimento de grãos de café de alta qualidade sensorial, porém, a redução na temperatura que normalmente ocorre em altitudes elevadas pode ocasionar danos na qualidade das sementes de café, o que pode comprometer a sua germinação e a obtenção de mudas. Neste trabalho foram encontrados valores superiores de LK nas sementes provenientes da face NF>900, o que poderia ter comprometido a germinação, a porcentagem de plântulas normais na PC e MSR. Também foram observados valores significativamente superiores de LK nas sementes provenientes da face SQ>900. O que poderia sugerir que altitudes acima de 900 m nas faces estudadas poderiam comprometer a integridade de membrana e da parede celular da semente, que consequentemente compromete a obtenção de mudas. A menor integridade da membrana em sementes produzidas nas maiores altitudes (>900 m), provavelmente é devido ao desenvolvimento mais lento do fruto em baixas temperaturas (comum nesta altitude principalmente na face NF). As baixas temperaturas durante a madrugada, podem afetar as propriedades físico-químicas da água, como sua densidade e viscosidade, afetando a conformidade das membranas celulares.

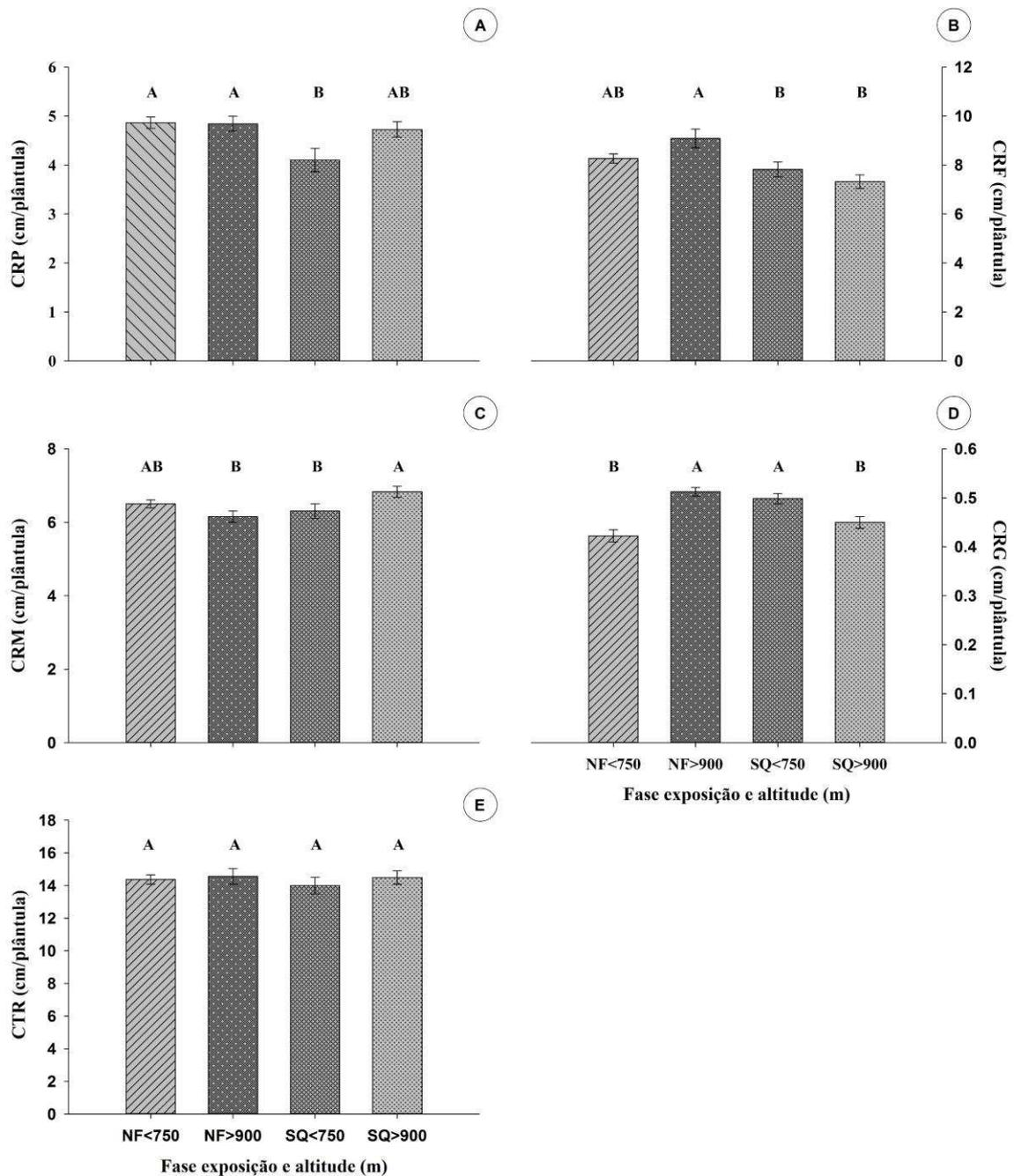
Segundo Ferreira et al. (2014), as diferenças na radiação solar nas diferentes encostas da montanha fazem com que a face Noruega se torne menos ensolarada, com menores temperaturas e menos úmida ao longo do ano, enquanto a face Soalheira é mais ensolarada, com maiores temperaturas e mais seca. Aparentemente, o efeito da face é determinado pela altitude e a temperatura e não pela intensidade da radiação solar disponível em cada face, para as variáveis PC, MST e LK. Segundo Ferreira et al. (2014), as encostas Noruega e Soalheira nas maiores altitudes (>950 m) encontra-se a maior disponibilidade de radiação solar no inverno como no verão, com valores máximos de 20,68 MJ.m<sup>2</sup>.dia<sup>-1</sup> (Soalheira) e 20,57 MJ.m<sup>2</sup>.dia<sup>-1</sup> (Noruega). Os resultados deste trabalho, corroboram os encontrados por Baliza et al. (2012) com sementes obtidas de frutos em estágio cereja, obtidos de plantas submetidas a 3 níveis de radiação solar. Os autores demonstraram que houve aumento da germinação e do vigor em função

do estágio de maturação, não havendo influência do sombreamento nos diferentes níveis de radiação solar na qualidade da semente.

Segundo Pereira; Camargo; Camargo (2008) em áreas com temperatura média inferior a 17 °C as plantas não conseguem completar o ciclo fenológico antes da florada seguinte, conseqüentemente, não ocorre o período de repouso para a indução de novas gemas florais, prejudicando desta forma a produção de frutos e sementes. Por outro lado, a baixa temperatura pode afetar os processos de absorção, a temperatura também pode alterar a taxa de transporte de nutrientes, assim como a partição de fotoassimilados no floema. De acordo com Larcher (2004), a temperatura possui influência direta sobre processos regulatórios da planta. Sob menores temperaturas, a velocidade das reações enzimáticas é reduzida e, conseqüentemente, as taxas fotossintéticas e respiratórias também são restringidas, o resfriamento de um tecido-dreno inibe as atividades que necessitam de energia metabólica e resulta na diminuição da velocidade do transporte em direção ao dreno (TAIZ; ZEIGER, 2009), podendo dificultar o acúmulo de nutrientes nos frutos e sementes de cafeeiro.

Enquanto a qualidade sensorial a face SQ>900, apresentou as notas significativamente maiores com respeito a NF<750 (Fig. 5F). Em relação à qualidade sensorial, a menor radiação incidente na face de exposição da encosta Noruega promove os menores valores médios de temperatura, sendo desse modo a face mais fria (FERREIRA et al., 2012). Sabe-se que fatores como altitude, orientação da encosta, sombreamento e temperatura influem na melhor qualidade sensorial dos grãos facilitando o maior acúmulo de precursores do sabor e aroma. Uma vez que o sombreamento e as baixas temperaturas, favorecem o aumento do ciclo de maturação favorecendo o adequado enchimento do grão (GUYOT et al., 1996; DECAZY et al., 2003; AVELINO et al., 2005b; VAAST et al., 2006; GEROMEL et al., 2008). Os efeitos da luz e da temperatura na qualidade do grão, como face de exposição, temperatura amena em altitude, que favorecem a qualidade da bebida do café e podem ser extrapolados para a qualidade da semente (DE REZENDE CHAGAS; MALTA; PEREIRA, 2005; VAAST et al., 2006).

O comprimento de raiz é um teste rápido que ajuda a determinar a qualidade fisiológica das sementes produzidas nas diferentes altitudes e faces. No entanto, analisar amplamente a estrutura do sistema de raízes pode gerar informação adicional que complementa o teste de vigor clássico, melhorando a sensibilidade do teste na diferenciação da qualidade fisiológica das sementes.



**Figura 6.** Comprimento de raiz de plântulas de 30 dias após germinação. Sementes coletadas nas faces de exposição Noruega Fria (NF) e Soalheira Quente (SQ), em duas faixas de altitude (abaixo de 750 e acima de 900 m.). O comprimento das raízes é medido de acordo ao seu diâmetro. A. Comprimento de raízes finas (CRF) com diâmetro menor a 0.5 mm; B. Comprimento de raízes médias (CRM) com diâmetro entre 0.5 mm a 1.5 mm; C. Comprimento de raízes grossas (CRG) com diâmetro maior que 1.5 mm. Letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa pelo Teste de Tukey ( $p > 0.05$ ). CRP: comprimento de raiz principal, CTR: comprimento total de raiz.

As sementes produzidas na face SQ<750 apresentaram os menores valores de CRP. Aparentemente, houve influência da face de exposição da montanha nesta variável (Fig. 6A). Além disso, os menores valores de CRF foram encontrados na face SQ nas duas altitudes avaliadas, mostrando também o efeito da face (Fig. 6B).

Observou-se na face Soalheira Quente os menores valores de CRP, CRF e CRM principalmente nas menores altitudes (<750 m) (Fig. 6A – Fig. 6C), no entanto teve os menores valores de CRG (Fig. 6 D). A orientação da face Soalheira Quente contribui para que o efeito da radiação solar incidente aumente a temperatura do ar nessa face e em associação com a baixa altitude fazem com que a temperatura ambiente alcance os maiores valores médios (FERREIRA et al., 2012). Segundo esses mesmos autores, temperaturas mais elevadas na face Soalheira Quente, incrementa a probabilidade do cafeeiro apresentar problemas no crescimento das raízes e da parte aérea comprometendo o seu desenvolvimento, fato que é corroborado neste experimento.

Acredita-se que os maiores valores no CRP e CRF na face Noruega, independente da altitude (Fig. 6A e Fig. 6B) sejam atribuídos possivelmente à plasticidade da raiz de café nos diferentes climas. Por outro lado, o maior desenvolvimento de raízes finas na face Noruega (sombreada e fria) é provavelmente causada pelos menores teores de água e nutrientes no solo propiciado pelas menores temperaturas. Segundo (RIGHI et al., 2005), a temperatura do solo aumenta linearmente nas condições mais iluminadas ao longo do dia, conforme a intensidade da radiação solar. Isto, leva a mudanças nas características físicas e morfológicas da raiz de café, mudando a heterogeneidade espacial do comprimento delas no solo, induzindo a produção de raízes finas para adquirir nutrientes (MORA, 2011).

Segundo (MOTTA et al., 2008), avaliando a distribuição horizontal e vertical da raiz do cafeeiro, as raízes finas contribuíram com maior proporção no comprimento total de raízes. Além disso, mostraram menor valor porcentual de matéria seca. No entanto, neste trabalho não foram observadas diferenças no CTR, possivelmente pela curta idade das plântulas. A maior proporção de raízes finas, podem ser sugerir que elas podem apresentar maiores zonas de absorção de água e que poderiam incrementar a captação de nutrientes, apresentando crescimento mais ativo e maior capacidade de competência por nutrientes, aproveitando melhor as adubações (ROBINSON; HODGE; FITTER, 2003; HODGE, 2006; MOTTA et al., 2008). Isso poderia ser confirmado ao longo do tempo, quando as plantas estejam em etapas produtivas, pois as sementes produzidas nas faces NF <750 e > 900 apresentaram os maiores valores de CRF, CRP,

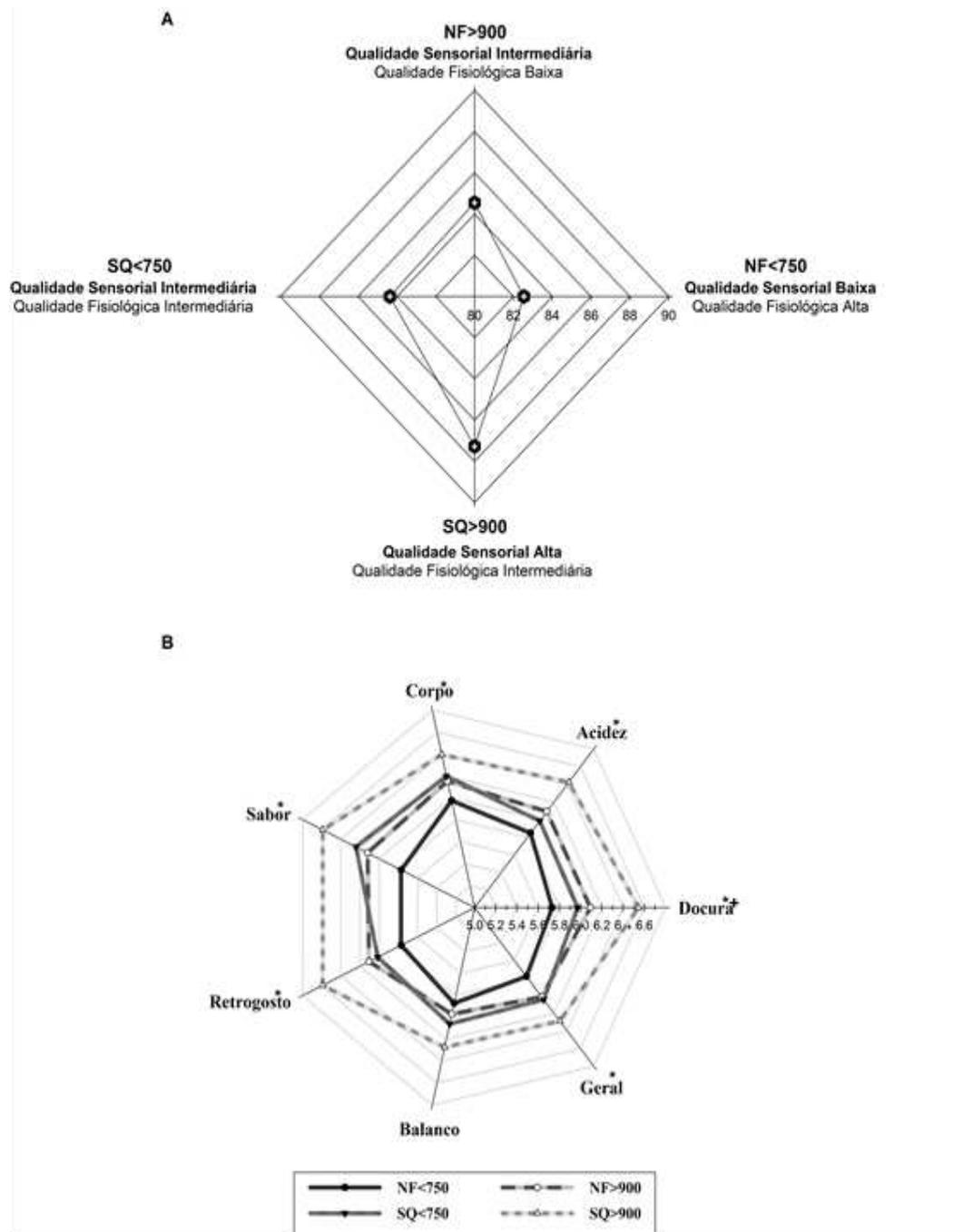
MSR e massa seca da parte aérea (dado não mostrado. Contudo, não há informações disponíveis sobre a influência dos níveis de radiação solar sobre a qualidade fisiológica das sementes de café.

A MSR e o CRP são parâmetros frequentemente usados na determinação da qualidade fisiológica das sementes, por serem variáveis obtidas rapidamente, fáceis de serem realizadas e de baixo custo. Porém, essas variáveis não fornecem informação sobre arquitetura da raiz, presença de raízes finas ou pelos absorventes, que permitam realizar estudos mais complexos na área de qualidade de sementes. Observou-se que MSR e CRP foram inferiores na face SQ<750, e apresentando uma tendência decrescente na face SQ>900 (Fig. 5D e Fig. 6A).

Neste trabalho, aparentemente a MSR reflete o CRP para as sementes produzidas na face NF<750. Resultados semelhantes foram indicam que o peso da matéria seca da raiz foi correlacionado com o comprimento da raiz, refletindo apenas na estrutura radicular principal (JESUS; DE CARVALHO; SOARES, 2007). A MSR não informa sobre a relação solo-planta, nem das raízes fisiologicamente mais ativas, que são responsáveis pela absorção de água e minerais (RENA; GUIMARÃES, 2000; JESUS; DE CARVALHO; SOARES, 2007).

Uma vez determinada a influência das diferentes faces e altitudes na qualidade fisiológica da semente, foi determinada a qualidade sensorial a nível comercial. Com isso, pretende-se estabelecer se as diferenças nas condições climáticas avaliadas são favoráveis para a produção de café com qualidade fisiológica para semente, sensorial ou ambas.

Os grãos produzidos na face SQ>900 m apresentaram as maiores notas de qualidade (acima de 85), sendo significativamente superior aos obtidos nas demais combinações de face e altitude (Fig. 7A). Por outro lado, as sementes produzidas na face NF>750 m com alta qualidade fisiológica apresentaram as notas mais baixas de qualidade sensorial no perfil sensorial (Fig. 7B). Os resultados deste experimento também indicam que pode existir uma relação entre a posição da face da encosta (NF e SQ) e a maioria das características sensoriais do café, como corpo, sabor, balanço e geral. Essa última característica faz referência à impressão do provador quanto a complexidade e estímulos despertados durante e após a degustação (SCAA, 2009). Observa-se as melhores notas para os grãos colhidos na SQ e as piores para os grãos colhidos na NF (Fig. 7B).



**Figura 7.** Qualidade sensorial de bebida de grãos de café coletados em diferentes combinações de faces de insolação e altitude. **A.** Qualidade sensorial da bebida e qualidade fisiológica das sementes nas faces avaliadas; **B.** Perfil sensorial da bebida dos grãos coletados na face de insolação e altitude avaliadas. Faces de exposição: Noruega Fria (NF) e Soalheira Quente (SQ) e duas faixas de altitude (abaixo de 750 m e acima de 900 m). Tratamentos com diferenças significativas pelo teste de Tukey ( $p>0.05$ ), são apresentados pelo \* entre  $SQ>900m$  e  $NF<750m$ ; diferenças entre  $SQ>900m$  e  $<750m$  são apresentados com +

Segundo AVELINO et al. (2005a) grãos de café produzidos na Costa Rica em cafezais plantados na encosta voltada para o Este (E) proporcionaram bebidas de melhores qualidades sensoriais, sendo que essa encosta apresentava os melhores valores de corpo, acidez e aroma. Neste experimento, os melhores valores de corpo e acidez foram encontrados nos grãos originários das faces voltadas para o Noroeste (NW) ou Soalheira Quente, essa diferença entre as encostas das duas pesquisas, pode ser atribuída pela posição latitudinal dos dois países (Costa Rica e Brasil).

Observa-se que a acidez pode estar influenciada pela face da encosta e altitude ou a interação entre elas. A altitude é importante para se obter café com qualidade sensorial, porém a altitude sozinha não é o único fator que define a produção de café de qualidade, esse fato é observado principalmente com os valores de acidez obtidos.

A qualidade depende da altitude e da face da encosta onde se encontra o cultivar corroborando, assim os resultados de SILVA et al., (2015); FERREIRA et al., (2016). Diante do exposto, verifica-se que além da influência na orientação da face de plantio, a altitude e a temperatura exercem importante influência para a determinação do melhor local para a produção de café destinado a produção de sementes ou de grãos para bebida.

A faces Noruega é caracterizada por ter menores temperaturas, que favorecem o desenvolvimento de grãos de café de alta qualidade sensorial, porém, a redução na temperatura que normalmente ocorre em altitudes elevadas pode ocasionar danos na qualidade das sementes de café. As baixas temperaturas podem intensificar a degradação das membranas, levando a maiores valores de lixiviação de potássio e condutividade elétrica, que são indicadores da integridade da membrana e da parede celular (AMORIM, 1978; GOULART et al., 2007).

Foram observados valores significativamente superiores de LK nas sementes provenientes da face NF>900 em comparação as sementes produzidas nas demais faces e altitudes. Provavelmente, este devido ao desenvolvimento mais lento do fruto em baixas temperaturas (comum nesta face), podendo ter afetado a membrana celular e, conseqüentemente, causar maior fluxo de íons e do conteúdo celular. Baixas temperaturas durante a madrugada, podem afetar as propriedades físico-químicas da água, como sua densidade e viscosidade, afetando a conformidade das membranas celulares.

Alguns estudos têm procurado relacionar a qualidade do café para bebida com os valores de LK e condutividade elétrica (CE), indicando que baixos valores destas

variáveis resultam em alta qualidade de café para bebida (PRETE, 1992; GOULART et al., 2007; CLEMENTE et al., 2015). No entanto, no presente trabalho não se observou esta relação. Porém, verificou-se que os maiores valores de germinação na PC e crescimento de plântulas foram relacionados com menores valores de LK, ou seja, melhor qualidade de sementes, que foram obtidas na face NF<750.

As baixas temperaturas interferem com a expansão da membrana, possivelmente pela baixa elasticidade e impede a incorporação do material lipídico na expansão da membrana. A expansão de tecidos a baixa temperatura pode causar lesões nas membranas celulares, contribuindo aos danos por frio (WILLING e LEOPOLD 1983).

Assim, de acordo com as análises realizados, pode-se deduzir que sementes com maior qualidade fisiológica são produzidas na face NF<750, já que apresentaram maior germinação e vigor. Esses resultados permitem considerar a face NF<750, como sendo a mais adequada para a produção de sementes; porém, os grãos produzidos originaram bebida com qualidade sensorial inferior as obtidas nas demais faces (Fig. 7A). Possivelmente, a baixa incidência de luz solar na face NF<750, tenha causado aumento do período de maturação dos frutos de café, que foi positivo para formação e qualidade das sementes, mas de alguma forma interferiu na produção de uma bebida superior. Também se observa que o ambiente de crescimento das plantas (altitude e faces de insolação) provoca alterações na germinação total (GT), na porcentagem de plântulas normais na primeira contagem (PC) do teste de germinação, na massa seca total da plântula (MST), da raiz (MSR), na lixiviação de potássio (LK), nos comprimentos dos diferentes diâmetros de raiz e na qualidade sensorial.

A seleção do local para o plantio do cafeeiro é importante para produzir semente ou grão com boa qualidade fisiológica ou sensorial. Assim, fatores como a face de insolação e altitude podem ter relação com a ótima produção de sementes do plantio.

## **5. CONCLUSÕES**

Sementes de café produzidas na face Noruega fria abaixo de 750 m e na face Soalheira Quente nas duas altitudes avaliadas apresentam os maiores valores de germinação.

Os maiores valores no vigor são obtidos nas faces Noruega fria e Soalheira Quente na altitude abaixo de 750 m.

Face Soalheira Quente acima de 900 m, apresenta bom vigor de semente e de alta qualidade sensorial, considerando-se como uma face de produção intermediária;

Cafés com boa qualidade fisiológica de semente e sensorial encontram-se nas faces Soalheira Quente abaixo de 750 m e Noruega fria acima de 900.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMORIM, H. V. de. Aspectos bioquímicos e histoquímicos do grão de café verde relacionados com a determinação da qualidade. 1978. 85 p. Tese (“**Livre docente em Bioquímica**”) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba
- AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 17 th ed. (2 revisão), Gaithersburg, MD, USA. AOAC
- ARCILA-PULGARÍN, J.; BUHR, L.; BLEIHOLDER, H.; HACK, H.; MEIER, U.; WICKE, H. Application of the extended BBCH scale for the description of the growth stages of coffee (*Coffea* spp.). **Annals of Applied Biology**, v. 141, n. 1, p. 19–27, 2002.
- AVELINO, J. Vers une identification de cafés-terroir au Honduras (French translated into English) - Identifying terroir coffees in Honduras. **Plantations, Recherche, Developpement**, n. January, p. 11, 2002.
- AVELINO, J.; BARBOZA, B.; ARAYA, J. C.; FONSECA, C.; DAVRIEUX, F.; GUYOT, B.; CILAS, C. Effects of slope exposure, altitude and yield on coffee quality in two altitude terroirs of Costa Rica, Orosi and Santa María de Dota. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 11, p. 1869–1876, 2005a.
- AVELINO, J.; BARBOZA, B.; ARAYA, J. C.; FONSECA, C.; DAVRIEUX, F.; GUYOT, B.; CILAS, C. Effects of slope exposure, altitude and yield on coffee quality in two altitude terroirs of Costa Rica, Orosi and Santa María de Dota. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 11, p. 1869–1876, 2005b.
- BALIZA, D. P.; CAIXETA, F.; PINHO, É. V. de R. Von; CUNHA, R. L. da; MARTINS, D. C.; ROSA, S. D. V. F. da. Physiological quality of coffee seeds produced under different levels of solar radiation and maturation stages. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 3, p. 416–423, 2012.
- BARBOSA, J. N.; BOREM, F. M.; CIRILLO, M. A.; MALTA, M. R.; ALVARENGA, A. A.; ALVES, H. M. R. Coffee Quality and Its Interactions with Environmental Factors in Minas Gerais, Brazil. **Journal of Agricultural Science**, v. 4, n. 5, p. 181–190, 2012.
- BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 276–287, 1971.
- BERTRAND, B.; VAAST, P.; ALPIZAR, E.; ETIENNE, H.; DAVRIEUX, F.; CHARMETANT, P. Comparison of bean biochemical composition and beverage quality of Arabica hybrids involving Sudanese-Ethiopian origins with traditional varieties at various elevations in Central America. **Tree Physiology**, v. 26, n. 9, p. 1239–1248, 2006.
- BOTELHO, C. E.; REZENDE, J. C. D.; CARVALHO, G.R.; GUIMARÃES, P.T.G. ALVARENGA, A. D. P.; RIBEIRO, M. D. F. Preparação do solo e plantio:

- Instalação do cafezal. In: REIS, P. R.; CUNHA, R. L. DA (Ed.). **Café arábica: do Plantio à Colheita**. 1. ed. Lavras: Epamig, 2010. p. 287–341.
- BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248–254, 1976.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 08, de 11 de junho de 2003. Aprova o regulamento técnico de identidade e de qualidade para a classificação do café beneficiado grão cru. Brasília - DF, p. 1-12, 2003.
- BRASIL. Regras para Análise de Sementes. In: Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, **Anais...**2009.
- BSCA. **BRAZIL SPECIALITY COFFEE ASSOCIATION**. Disponível em: <<http://bsca.com.br/>>.
- CAMARGO, A. P. de; CAMARGO, M. B. P. de. Definição e esquematização das fases fenológicas do cafeeiro arábica nas condições tropicais do Brasil. **Bragantia**, v. 60, n. 1, p. 65–68, 2001.
- CHANCE, B.; MAEHLI, A. C. [136] Assay of catalases and peroxidases. **Methods in Enzymology**, v. 2, p. 764–775, 1955.
- CHOI, M.-Y.; CHOI, W.; PARK, J. H.; LIM, J.; KWON, S. W. Determination of coffee origins by integrated metabolomic approach of combining multiple analytical data. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 1260–1268, 2010.
- CLEMENTE, J. M.; MARTINEZ, H. E. P.; ALVES, L. C.; FINGER, F. L.; CECON, P. R. Effects of nitrogen and potassium on the chemical composition of coffee beans and on beverage quality. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 37, n. 3, p. 297–305, 2015.
- DE REZENDE CHAGAS, S. J.; MALTA, M. R.; PEREIRA, R. G. F. A. Potencial da região sul de Minas Gerais para a produção de cafés especiais (I–Atividade da polifenoloxidase, condutividade elétrica e lixiviação de potássio). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 3, 2005.
- DECAZY, F.; AVELINO, J.; GUYOT, B.; PERRIOT, J. J.; PINEDA, C.; CILAS, C. Quality of different Honduran coffees in relation to several environments. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 7, p. 2356–2361, 2003.
- DEL LONGO, O. T.; GONZÁLEZ, C. A.; PASTORI, G. M.; TRIPPI, V. S. Antioxidant defences under hyperoxygenic and hyperosmotic conditions in leaves of two lines of maize with differential sensitivity to drought. **Plant and Cell Physiology**, v. 34, n. 7, p. 1023–1028, 1993.
- DUBOIS, M.; GILLES, K.; HAMILTON, J.; REBERS, P.; SMITH, F. Colorimetric Method for determination of sugars and related compounds. **Analytical Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.
- EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; BAILLY, C. Oxidative signaling in seed dormancy and germination. **Plant Signaling & Behavior**, v. 3, p. 1–8, 2008.

- FERREIRA, W. P. M.; QUEIROZ, D. M.; SILVAC, S. A.; TOMAZ, R. S.; CORRÊA, P. C. Effects of the Orientation of the Mountainside, Altitude and Varieties on the Quality of the Coffee Beverage from the “Matas de Minas” Region, Brazilian Southeast. **American Journal of Plant Sciences**, v. 7, n. 8, p. 1291, 2016.
- FERREIRA, W. P. M.; RIBEIRO, M. de F.; FERNANDES, E. I. F.; SOUZA, C. de F.; CASTRO, C. C. R. de. As Características Térmicas das Faces Noruega e Soalheira como Fatores Determinantes do Clima Para a Cafeicultura de Montanha. **Embrapa Café**, v. Documentos, p. 34, 2012.
- FERREIRA, W. P.; SILVA, S. A.; RUFINO, J. L.; LUPPI, A. S.; SOUZA, C. F.; SILVA, M. A. Influence of relief and global radiation on the quality of the coffee beverage. In: **2014 Montreal, Quebec Canada** July 13–July 16, 2014. American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2014. p. 1
- GEROMEL, C.; FERREIRA, L. P.; DAVRIEUX, F.; GUYOT, B.; RIBEYRE, F.; BRÍGIDA DOS SANTOS SCHOLZ, M.; PROTASIO PEREIRA, L. F.; VAAST, P.; POT, D.; LEROY, T.; FILHO, A. A.; ESTEVES VIEIRA, L. G.; MAZZAFERA, P.; MARRACCINI, P. Effects of shade on the development and sugar metabolism of coffee (*Coffea arabica* L.) fruits. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 46, n. 5–6, p. 569–579, 2008.
- GEROMEL, C.; FERREIRA, L. P.; GUERREIRO, S. M. C.; CAVALARI, A. A.; POT, D.; PEREIRA, L. F. P.; LEROY, T.; VIEIRA, L. G. E.; MAZZAFERA, P.; MARRACCINI, P. Biochemical and genomic analysis of sucrose metabolism during coffee (*Coffea arabica* L.) fruit development. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 12, p. 3243–3258, 2006.
- GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v. 59, n. 2, p. 309–314, 1977.
- GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909–930, 2010.
- GOMES, M.; GARCIA, Q. Reactive oxygen species and seed germination. **Biologia**, v. 68, n. 3, p. 351–357, 2013. Disponível em: <HYPERLINK "<http://www.degruyter.com/view/j/biolog.2013.68.issue-3/s11756-013-0161-y/s11756-013-0161-y.xml>>.
- GONÇALVES, C.; RODRIGUEZ-JASSO, R. M.; GOMES, N.; TEIXEIRA, J. A.; BELO, I. Adaptation of dinitrosalicylic acid method to microtiter plates. **Analytical Methods**, v. 2, n. 12, p. 2046–2048, 2010.
- 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. 662–667, 2007
- GUIMARÃES, R. M.; VIEIRA, M.; FRAGA, A. C.; PINHO, E.; FERRAZ, V. P. Tolerância à dessecação em sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia, Lavras**, v. 26, n. 1, p. 128–139, 2002.

- GUTIÉRREZ-SOTO, M. V.; TORRES-ACUÑA, J.; ARAYA-ALFARO, J. M. Uso de WINRHIZO® en la cuantificación de las raíces y su aplicación en la Palma aceitera (*Elaeis guineensis* JACQ.). **Agronomía Mesoamericana**, v. 25, n. 1, p. 181–188, 2014.
- GUYOT, B.; GUEULE, D.; MANEZ, J. C.; PERRIOT, J. J.; GIRON, J.; VILLAIN, L. Influence de l'altitude et de l'ombrage sur la qualité des cafés arabica. **Plantation Recherche Développement**, v. 3, p. 272–280, 1996.
- HAVIR, E. A.; MCHALE, N. A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, v. 84, n. 2, p. 450–455, 1987.
- HODGE, A. Plastic plants and patchy soils. **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 2, p. 401–411, 2006.
- JESUS, A. M. S.; DE CARVALHO, S. P.; SOARES, Â. M. Comparação entre sistemas radiculares de mudas de *Coffea arabica* L. obtidas por estaquia e por sementes. **Coffee Science**, v. 1, n. 1, p. 14–20, 2007.
- JOËT, T.; LAFFARGUE, A.; DESCROIX, F.; DOULBEAU, S.; BERTRAND, B.; KOCHKO, A. de; DUSSERT, S. Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green Arabica coffee beans. **Food Chemistry**, v. 118, n. 3, p. 693–701, 2010. Disponível em: <HYPERLINK "http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.048" <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.048>>.
- KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, v. 57, n. 2, p. 315–319, 1976.
- KAVRAYAN, D.; AYDEMIR, T. Partial purification and characterization of polyphenoloxidase from peppermint (*Mentha piperita*). **Food Chemistry**, v. 74, n. 2, p. 147–154, 2001.
- KOSHIBA, T. Cytosolic ascorbate peroxidase in seedlings and leaves of maize (*Zea mays*). **Plant and Cell Physiology**, v. 34, n. 5, p. 713–721, 1993.
- KRAMER, D.; BREITENSTEIN, B.; KLEINWCHTER, M.; SELMAR, D. Stress metabolism in green coffee beans (*Coffea arabica* L.): Expression of dehydrins and accumulation of GABA during drying. **Plant and Cell Physiology**, v. 51, n. 4, p. 546–553, 2010.
- KRANNER, I.; COLVILLE, L. Metals and seeds: biochemical and molecular implications and their significance for seed germination. **Environmental and Experimental Botany**, v. 72, n. 1, p. 93–105, 2011.
- LAVIOLA, B. G.; MARTINEZ, H. E. P.; SALOMÃO, L. C. C.; CRUZ, C. D.; MENDONÇA, S. M. Acúmulo de nutrientes em frutos de cafeeiro em quatro altitudes de cultivo: cálcio, magnésio e enxofre. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, p. 1451–1462, 2007a.
- LAVIOLA, B. G.; MARTINEZ, H. E. P.; SALOMÃO, L. C. C.; CRUZ, C. D.; MENDONÇA, S. M.; ROSADO, L. D. S. Acúmulo de nutrientes em frutos de

- cafeeiro em duas altitudes de cultivo: micronutrientes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, n. 6, p. 212–221, 2007b.
- LEFÈVRE, I.; MARCHAL, G.; CORRÉAL, E.; ZANUZZI, A.; LUTTS, S. Variation in response to heavy metals during vegetative growth in *Dorycnium pentaphyllum* Scop. **Plant Growth Regulation**, v. 59, n. 1, p. 1–11, 2009.
- MACEDO, C. M. P. de; LOPES, J. C. Qualidade fisiológica de semente de café arábica na presença de alumínio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n.1, p. 66–73, 2008.
- MATIELLO, J. B.; SANTINATO, R.; GARCIA, A. W. R.; ALMEIDA, S. R.; FERNANDES, D. R. **Cultura de café no Brasil: novo manual de recomendações**. Rio de Janeiro: **MAPA/PROCAFE**, 2005. p. 438.
- METZ, J.; LIANCOURT, P.; KIGEL, J.; HAREL, D.; STERNBERG, M.; TIELBÖRGER, K. Plant survival in relation to seed size along environmental gradients: a long-term study from semi-arid and Mediterranean annual plant communities. **Journal of Ecology**, v. 98, n. 3, p. 697–704, 2010.
- MILLER, G. A. D.; SUZUKI, N.; CIFTCI-YILMAZ, S.; MITTLER, R. O. N. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. **Plant, Cell & Environment**, v. 33, n. 4, p. 453–467, 2010.
- MONTAVON, P.; DURUZ, E.; RUMO, G.; PRATZ, G. Evolution of green coffee protein profiles with maturation and relationship to coffee cup quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 8, p. 2328–2334, 2003.
- MORA, A. Characterization of the spatial variability of soil properties and Coffee fine roots in shade tree-coffee associations under organic and conventional management practices PhD Dissertation, **Tropical Agriculture Research and Higher Education Centre (CATIE)**, 2011.
- MOTTA, A. C. V.; NICK, J. A.; YORINORI, G. T.; SERRAT, B. M. Distribuição horizontal e vertical da fertilidade do solo e das raízes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) cultivar Catuaí-DOI: 10.4025/actasciagr. v 28i4. 758. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 28, n. 4, p. 455–463, 2008.
- NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, n. 5, p. 867–880, 1981.
- NOCTOR, G.; DE PAEPE, R.; FOYER, C. H. Mitochondrial redox biology and homeostasis in plants. **Trends in Plant Science**, v. 12, n. 3, p. 125–134, 2007.
- PEREIRA, A. R.; DE CAMARGO, Â. P.; DE CAMARGO, M. B. P. **Agrometeorologia de cafezais no Brasil**. [s.l.] Instituto Agrônômico, 2008. p. 127.
- PEREIRA, C. E.; PINHO, E.; OLIVEIRA, D. F.; KIKUTI, A. L. P. Determinação de inibidores da germinação no espermoderma de sementes de café (*Coffea arabica* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 24, n. 1, p. 306–311, 2002.
- PERGO, É. M.; ISHII-IWAMOTO, E. L. Changes in energy metabolism and antioxidant defense systems during seed germination of the weed species *Ipomoea*

- triloba* L. and the responses to allelochemicals. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, n. 5, p. 500–513, 2011.
- PRETE, C. E. C. **Condutividade elétrica do exsudato de grãos de café (*Coffea arabica*, L.) e sua relação com a qualidade da bebida**. Piracicaba, 1992. 125p Tese (Doutorado)–Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, , [s.d.].
- PUNTARULO, S.; SÁNCHEZ, R. A.; BOVERIS, A. Hydrogen peroxide metabolism in soybean embryonic axes at the onset of germination. **Plant Physiology**, v. 86, n. 2, p. 626–630, 1988.
- RENA, A. B.; GUIMARÃES, P. T. G. **Sistema radicular do cafeeiro: estrutura, distribuição, atividade e fatores que o influenciam**. [s.l.] Epamig, 2000.
- RENA, A.B.; BARROS, R.S. & MAESTRI, M. Desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro. In: ZAMBOLIM L. **Tecnologias de produção de café com qualidade**. Viçosa, MG, Universidade Federal de Viçosa, 2001. p.101-128.
- RHOADS, D. M.; UMBACH, A. L.; SUBBAIAH, C. C.; SIEDOW, J. N. Mitochondrial reactive oxygen species. Contribution to oxidative stress and interorganellar signaling. **Plant Physiology**, v. 141, n. 2, p. 357–366, 2006.
- RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ, V. H. Comissão de fertilidade do solo do Estado de Minas Gerais. **Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais–5ª Aproximação**. Viçosa, 1999.
- RIGHI, C. A.; BERNARDES, M. S.; LUNZ, A. M. P.; MORAES, S. O.; LIER, Q. de J. Van. Variação diária da temperatura do solo em um sistema agroflorestal de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) com seringueiras (*Hevea brasiliensis* Müell. Arg.). 2005.
- ROBINSON, D.; HODGE, A.; FITTER, A. Constraints on the form and function of root systems. In: **Root Ecology**. [s.l.] Springer, 2003. p. 1–31.
- RODRÍGUEZ-SERRANO, M.; ROMERO-PUERTAS, M. C.; PAZMIÑO, D. M.; TESTILLANO, P. S.; RISUEÑO, M. C.; LUIS, A.; SANDALIO, L. M. Cellular response of pea plants to cadmium toxicity: cross talk between reactive oxygen species, nitric oxide, and calcium. **Plant Physiology**, v. 150, n. 1, p. 229–243, 2009.
- ROSA, S. D. V. F. da; SANTOS, C. G. dos; PAIVA, R.; MELO, P. L. Q. de; VEIGA, A. D.; VEIGA, A. D. Inibição do desenvolvimento in vitro de embriões de *Coffea* por cafeína exógena. **Revista Brasileira de Sementes**, 2006.
- SCAA. **SCAA Protocols | Cupping Specialty Coffee**. Disponível em: <[https://www.scaa.org/PDF/PR\\_CUPPING\\_PROTOCOLS\\_V.21\\_NOV\\_2009A.pdf](https://www.scaa.org/PDF/PR_CUPPING_PROTOCOLS_V.21_NOV_2009A.pdf)>. Acesso em: 3 fev. 2017.
- SILVA, S. de A.; DE QUEIROZ, D. M.; FERREIRA, W. P. M.; CORRÊA, P. C.; RUFINO, J. L. dos S. Mapping the potential beverage quality of coffee produced in the Zona da Mata, Minas Gerais, Brazil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2015.
- SILVA, R. F. da; PEREIRA, R. G. F. A.; BORÉM, F. M.; MUNIZ, J. A. Quality of the parchment coffee grown in the Southern region of Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 28, n. 6, p. 1367–1375, 2004.

- SOFIATTI, V.; ARAUJO, E. F.; ARAUJO, R. F.; REIS, M. S.; SILVA, L.; CARGNIN, A. Uso do hipoclorito de sódio para degradação do endocarpo de sementes de cafeeiro com diferentes graus de umidade. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 1, p. 150–160, 2008.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. In: **Fisiologia Vegetal**. [s.l.] Artmed, 2009.
- VAAST, P.; BERTRAND, B.; PERRIOT, J.; GUYOT, B.; GENARD, M. Fruit thinning and shade improve bean characteristics and beverage quality of coffee (*Coffea arabica* L.) under optimal conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, n. 2, p. 197–204, 2006.
- VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. D. B. (Ed.). **Vigor de Sementes: Conceitos e Testes**. 1. ed. Londrina: ABRATES, 1999. p. 1–26.
- WILLING, R. P.; LEOPOLD, A. C. Cellular expansion at low temperature as a cause of membrane lesions. **Plant Physiology**, v. 71, n. 1, p. 118–121, 1983.

## CAPÍTULO II

### **ATIVIDADE DO SISTEMA ANTIOXIDANTE E CONTEÚDO DE RESERVAS EM SEMENTES DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) PRODUZIDOS EM DIFERENTE ALTITUDE E FACE DE INSOLAÇÃO DO LOCAL DE PRODUÇÃO**

#### **RESUMO**

A germinação é um passo crítico no ciclo de vida das plantas. Durante o desenvolvimento das sementes e a germinação o metabolismo celular se mantém alto. A consequência inevitável é a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). As ROS incluem radicais livres tais como o ânion superóxido ( $O_2^-$ ), o radical hidroxila (OH) ou moléculas que não se configuram como radicais livres, o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e oxigênio singlete ( $^1O_2$ ). Estresse ambiental como a seca, a salinidade, o frio e a radiação solar podem levar à maior geração de ROS. O excesso de ROS é extremamente prejudicial, quando o seu nível excede os mecanismos de defesa, a célula sofre estresse oxidativo. Para metabolizar as ROS e evitar danos, as plantas possuem um eficiente sistema antioxidante que compreende mecanismos enzimáticos e não enzimáticos. Os mecanismos enzimáticos incluem as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), as peroxidases (POX) e no caso do café as polifenoloxidasas (PPO). Assim, foi avaliada a qualidade fisiológica e sensorial de sementes de café produzidas em diferentes altitudes (abaixo de 750 m e acima de 900 m) e face de exposição solar (Soalheira Quente -SQ e Noruega Fria-NF). Para isso, foram avaliadas a atividade das enzimas do estresse oxidativo, o conteúdo de malonaldeído (MDA), os compostos de reserva (teor de proteína e amido) e a atividade das PPO. Durante o ano 2013 e 2015, 10 kg de frutos de café (cultivar Catuaí vermelho) em estágio cereja, foram coletados manualmente em 470 pontos amostrais em 29 municípios. Os frutos foram despulpados com despulpador manual e o desmucilado por fermentação natural em água, durante 24h a temperatura ambiente. Em seguida, as sementes foram lavadas e secas à sombra sobre papel. A atividade da SOD foi maior nas sementes produzidas na face Soalheira Quente abaixo de 750 m (SQ<750), a atividade da CAT foi menor nas sementes procedentes da face Noruega fria independente da

altitude (NF<750 e NF>900). Também houve diferenças significativas na atividade de PPO e MDA, sendo maior nas sementes da face Noruega independente da altitude. Não houve diferença significativa na atividade de POX. Quanto os compostos de reserva, as sementes formadas na face NF nas duas altitudes, apresentam-se o maior o conteúdo de açúcares redutores e o menor de sacarose. Os maiores conteúdos de açúcares não redutores, porcentagem de amido e menores de proteína encontram-se nas sementes produzidas na altitude <750 nas duas faces avaliadas. Entretanto não houve diferença significativa do conteúdo de açúcares solúveis totais e no teor de lipídeos. As análises anatômicas e histoquímicas apresentam uma aparente distribuição uniforme dos lipídeos ao redor da parede celular em sementes provenientes das faces de maior altitude, independente da exposição, coincidindo com as notas mais altas na avaliação sensorial.

## CHAPTER II

### ACTIVITY OF THE ANTIOXIDANT SYSTEM AND CONTENTS OF RESERVES IN COFFEE SEEDS (*Coffea arabica* L.) PRODUCED AT DIFFERENT ALTITUDES AND FACES OF SUN EXPOSURE OF PRODUCTION PLACE

#### ABSTRACT

Germination is a critical step in the life cycle of plants. During seed development and germination the cell metabolism remains high. The inevitable consequence is the production of reactive oxygen species (ROS). ROS include free radicals such as superoxide anion ( $O_2^{\cdot-}$ ), hydroxyl radical (OH) or molecules that do not form as free radicals, hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) and singlet oxygen ( $^1O_2$ ). Environmental stress such as drought, salinity, cold and solar radiation can lead to ROS higher generation. The excess of ROS is extremely harmful, when its level exceeds the defense mechanisms, the cell suffer oxidative stress. In order to metabolize ROS and avoid damage, the plants have an efficient antioxidant system that comprises enzymatic and non-enzymatic mechanisms. Enzymatic mechanisms include the enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), peroxides (POX) and polyphenoloxidases in the coffee (PPO). Thus, the physiological and sensorial quality of coffee seeds produced at different altitudes (below 750 m and above 900 m) and face of sun exposure (“Soalheira” mountainside -SM, and “Noruega” mountainside-NM) were evaluated. For this, the activity of oxidative stress enzymes, malonaldehyde content (MDA), reserve compounds (protein and starch content) and PPO activity were evaluated. During 2013 and 2015, 10 kg of coffee fruits (Catuaí red cultivar) in the cherry stage were collected manually at 470 sampling points in 29 municipalities. The fruits were depulped with coffee pulper machine and demucilled by natural fermentation in water for 24 hours at ambient temperature. Then the seeds were washed and dried in the shade in paper. The activity of the SOD was higher in the seeds produced on “Soalheira” mountainside below 750m (SM<750), the CAT activity was lower in the seeds coming from the cold “Noruega” mountainside independent of altitude (NM<750 and NM<900). There were also significant differences in the PPO

and MDA activity, being higher in the seeds of the “Noruega” mountainside independent of the altitude. There was no significant difference in POX activity. As for the reserve compounds, the seeds formed on the “Noruega” mountainside at the two altitudes present the highest content of reducing sugars and the lowest content of sucrose. The highest contents of non-reducing sugars, starch percentage and protein minors were found in the seeds produced at altitude <750 in the faces of sun exposure. However, there was no significant difference in total soluble sugar content and lipid content. The anatomical and histochemical analyzes showed an apparent uniform distribution of the lipids around the cell wall in seeds from the faces of sun exposure above 900m, independent the face of sun exposure, coinciding with the highest notes in the sensorial evaluation.

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é responsável por cerca de um terço da produção mundial de café, além de ser também o maior exportador e segundo consumidor da bebida (EMBRAPA, 2014). Destas exportações, os cafés diferenciados já atingiram o 19.9% das exportações (CECAFÉ, 2016). A espécie mais cultivada no país é *C. arabica* L., que representa 81.1% da produção nacional de café (arábica e conilon), considerada de maior qualidade de bebida e de maior valor comercial (CONAB, 2016). O estado de Minas Gerais ocupa lugar de destaque na produção de café arábica, sendo responsável por, aproximadamente, 50% da safra brasileira, tendo como uma das principais regiões produtoras a “Região das Matas de Minas”. Esta região está localizada a leste do estado de Minas Gerais, em uma região de Mata Atlântica, apresentando características de relevo acentuado e clima favoráveis à cultura (VILELA; RUFINO, 2010).

A topografia dessa região é montanhosa, as altitudes variam de 600 a 1200 metros, com temperaturas amenas no local, o que pode favorecer a produção de cafés de qualidade. A temperatura é uma das características importantes que se relaciona a duração do ciclo da cultura do café, que afeta a qualidade final do produto (FERREIRA et al., 2012), podendo afetar também a qualidade fisiológica das sementes destinadas à produção de mudas. Um fator importante na caracterização do microclima e das temperaturas médias anuais dos locais de produção é a orientação da encosta da montanha onde a lavoura se encontra implantada. Em locais montanhosos é comum a utilização dos termos “Noruega”, que faz referência à encosta da montanha orientada em direção ao quadrante Sudeste. Neste caso, as lavouras de café recebem menor incidência de radiação solar direta ao longo do ano, sendo mais sombreada, úmida e com temperaturas mais baixas. O outro termo empregado é “Soalheira” referente à encosta da montanha orientada em direção ao quadrante Noroeste, que recebe maior incidência de radiação solar direta ao longo do ano, sendo, mais aquecida, contribuindo para que a umidade relativa dessa encosta seja menor (FERREIRA et al., 2012).

O conhecimento empírico por parte dos produtores de café, considera que as condições de sombra e altitude são características que causam efeitos benéficos sobre a qualidade do café, no entanto o efeito dessas variáveis do meio ambiente tem sido pouco estudada. Foram realizadas pesquisas em escala regional em Honduras, Costa Rica e Brasil, onde estabeleceram-se as relações entre a qualidade do café e os fatores ambientais. Em locais com temperaturas mais baixas normalmente encontradas em maiores altitudes o tempo gasto no processo de formação e maturação dos frutos

tornam-se mais prolongados, levando ao maior acúmulo de vários constituintes químicos que estão relacionados com a melhor qualidade da bebida do café (LAVIOLA et al. 2007), podendo também influir na qualidade das sementes produzidas.

Durante o desenvolvimento das sementes e sua germinação o metabolismo celular se mantém alto, e uma consequência inevitável é a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). Os ROS incluem radicais livres tais como o ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), radical Hidroxila (OH), bem como moléculas que não se configuram como radicais livres, o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), oxigênio singleto ( $^1O_2$ ) (SHARMA et al., 2012). Nas plantas, os ROS são formados nos cloroplastos, mitocôndrias e membranas plasmáticas, ou como subproduto de vias metabólicas localizadas em diferentes compartimentos celulares (HEYNO et al., 2011). Para metabolizar essas ROS e evitar danos, as plantas possuem um eficiente sistema antioxidante que compreende mecanismos enzimáticos e não enzimáticos. Entre os mecanismos enzimáticos incluem-se as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX), as peroxidases (POX) e no caso do café as polifenoloxidasas (PPO).

Os benefícios na qualidade fisiológica das sementes com reduzida isolação, podem ser observados no perfil do sistema antioxidante. Baliza et al. (2012), encontraram maior atividade das enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), esterese e peroxidases (POX), comparando sementes de café produzidas na sombra e a pleno sol, mostrando que a intensidade da insolação influenciou o grau de deterioração das sementes. Esses mesmos autores encontraram que a insolação pode influir na atividade da CAT. Deste modo, sementes coletadas de frutos em estágio cereja e produzidas com pouca insolação apresentaram alta atividade desta enzima, inversamente às sementes produzidas pleno sol.

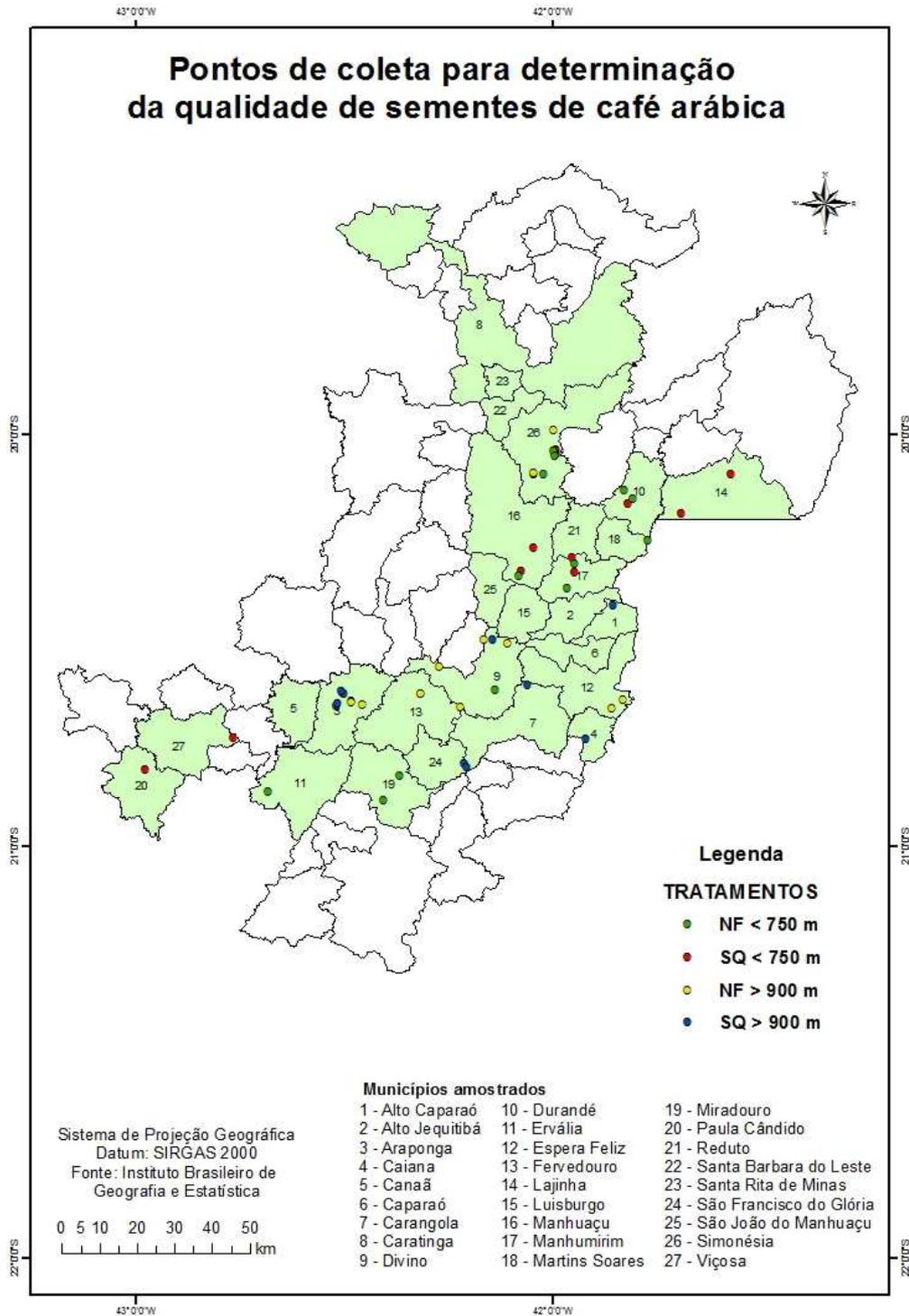
Também, podem-se determinar o metabolismo das enzimas do sistema antioxidante em sementes de café armazenadas. Durante o armazenamento as sementes apresentam atividade intensa e homogênea da CAT, evidenciado a ação desta enzima na remoção de  $H_2O_2$ , produzida por outras enzimas, protegendo assim a célula deste composto tóxico (SAAT et al., 2014). Por outro lado, PPO está relacionada com a qualidade de bebida de café (CARVALHO et al., 1997; PIMENTA et al., 2003; RESENDE, 2006;) e pouco se detalha da atividade antioxidante desta enzima durante a germinação. No entanto, segundo Resende (2006), em sementes de café Arábica encontrou que a atividade da enzima PPO foi reduzindo a medida que o período de germinação foi aumentando, inferindo que a redução da atividade está diretamente

relacionada ao nível de reestruturação das membranas celulares das sementes. Embora as características de qualidade sensorial sejam amplamente conhecidas nos diferentes locais de produção, pouco se conhece sobre a qualidade fisiológica das sementes produzidas nesses locais. Assim, o conhecimento dos marcadores de qualidade fisiológica, características bioquímicas e histoquímicas diferenciadas das sementes de café produzidas na região da Zona da Mata de MG é um importante mecanismo de identificação de localidades com potencial para a produção de sementes ou de grão de qualidade. Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar a atividade das enzimas do estresse oxidativo, os compostos de reserva e a atividade das PPO na qualidade fisiológica de sementes de café produzidas em diferentes altitudes e face de exposição solar em associação a qualidade da bebida obtida destas sementes.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Coleta de amostras**

Foram avaliadas sementes de café produzidas na região das Serras do Brigadeiro e do Caparaó nas Matas de Minas, situada na área de Mata Atlântica, estado de Minas Gerais, Brasil. Para isto, foram coletadas amostras de Café (*Coffea arabica* L.), cultivar Catuaí Vermelho, em 470 pontos amostrais em 29 municípios (Fig. 1). As regiões de amostragem foram selecionadas em plantações comerciais localizadas na região mencionada durante os anos 2013 e 2015. Para isso, levou-se em consideração parâmetros de orientação da face de exposição solar da encosta e a altitude. Logo após foram georreferenciadas com GPS (Garmin® Etrex 30), registrando sua latitude, longitude e altitude, para facilitar a coleta das amostras no período de colheita. Para cada ponto amostral foi preenchida, ainda em campo, uma ficha, contendo informações para sua identificação e caracterização do tipo de fertilização entre outras atividades realizadas durante o desenvolvimento da lavoura. A região estudada tem uma área total de 275.000 ha, com altitudes mínimas de 528 m e máximas de 1321 m e encontra-se entre as latitudes 19° 26' 53.5 e 21° 09' 45.7" sul e 41° 24' 11.4" e 43° 05' 07.2" oeste.



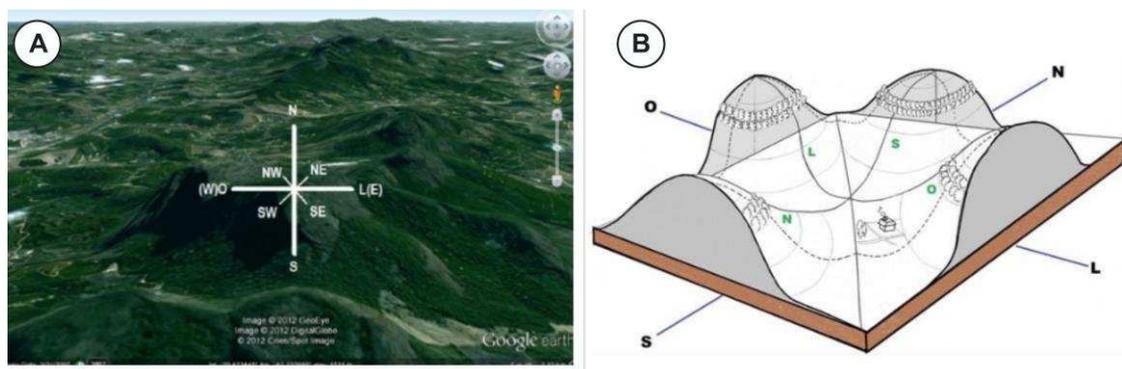
**Figura 1.** Localização dos pontos de colheita dos frutos para a extração das sementes de café produzidas em diferentes faces e altitudes da região das Matas de Minas Gerais.

Em cada ponto amostral foram coletados manualmente 10 kg de frutos no estágio 88 na escala BBCH para café (ARCILA-PULGARÍN et al., 2002), com maturidade fisiológica completa, apresentando exocarpo completamente vermelho (estádio cereja). As amostras foram divididas em duas partes, sendo usados 3 kg para o análise sensorial do grão e 5 kg para a análise de qualidade fisiológica das sementes. Essas amostras foram coletadas em dois grupos de exposição solar: Soalheira quente e Noruega fria e dois estratos altitudinais (abaixo de 750 m e acima de 900 m).

Os grupos de exposição solar foram definidos usando pontos cardeais. A face da encosta de frente para o Noroeste (NW), Oeste (W) e Norte (N) e Nordeste (NE) representam a Soalheira e a face da encosta virada para Sudeste (SE), Este (E) e Sul (S) representa o grupo Noruega Figura 2. A face Soalheira que recebe mais sol durante o dia e o ano, tem a orientação das montanhas voltadas para o Norte (Noroeste), sendo esta face a mais quente durante o dia e ano (Figura 2), denominando-se Soalheira quente. Por outro lado, dentro da encosta Noruega, a face Sudeste é a mais fria ao longo do dia e ano, denominando-se Noruega fria (FERREIRA et al., 2012).

A face Soalheira quente é caracterizada pelos maiores valores médios do número de horas de incidência solar direta (8:25h–10:49h) que variam dependendo dos solstícios de inverno e de verão e dos equinócios de outono e da primavera, que conseqüentemente variam os valores de intensidade luminosa (face com alta intensidade luminosa). A Contra-face ou Noruega Fria é caracterizada pelos menores valores médios de número de horas de incidência solar direta (8:35h–9:16h), variando de acordo ao solstício de inverno e de verão e ao equinócio de outono e da primavera, que conseqüentemente variam os valores de intensidade luminosa (baixa intensidade Luminosa).

As amostras de café foram coletadas manualmente de várias plantas com as faces voltadas para a encosta Soalheira quente e Noruega fria no lado voltado para as entrelinhas, e foram agrupadas formando uma amostra composta representativa do ponto amostral, completando 470 pontos amostrais.



**Figura 2.** A. Vista da encosta com a orientação dos pontos cardeais de uma montanha com 1.520 m de altitude, localizada a  $20.42^{\circ}$  S e  $42.12^{\circ}$  W na região entre São João do Manhuaçu e Luísburgo, ambos em Minas Gerais, região do Alto Caparaó. Fonte: Ferreira et al. (2012) e adaptação do GOOGLE EARTH (2012). B. Representação na região de montanhas dos pontos cardeais, Norte (N), Sul (S), Leste (L) e Oeste (O ou W) e as respectivas faces de exposição das encostas (destacadas em cor verde). Crédito: Yane Valois Souza Ferreira (2016).

Concomitante à amostragem de frutos, foi coletado 1 kg de amostra composta de solo para a realização da análise de fertilidade. Após a colheita, os frutos foram transportados diariamente das regiões de coleta para a Unidade de Beneficiamento de Sementes da Universidade Federal de Viçosa onde foram descascados mediante o uso de descascador manual, e desmucilados por fermentação natural em água durante 24 h, em temperatura ambiente. Em seguida, as sementes foram lavadas e secas à sombra sobre papel. Logo após, foram realizados testes iniciais de qualidade fisiológica da semente (germinação e primeira contagem), análise sensorial do grão e análise de solo do total dos pontos amostrais. Baseados nos resultados das análises fisiológicas e sensoriais acima mencionados, foram padronizados os pontos amostrais coletados para posteriores análises. Para isso, foram eliminados os pontos amostrais com resultados muito discrepantes dos testes de qualidade fisiológica e com valores da análise da qualidade sensorial da bebida inferior a 8.0, por considerar-se café de qualidade inferior. Foram utilizados os pontos amostrais onde a interpretação da análise de solo apresentasse valores nutricionais ótimos na norma estabelecida na quinta aproximação (RIBEIRO; GUIMARÃES; ALVAREZ, 1999), para uniformizar a amostra e eliminar o efeito da fertilidade do solo. Finalmente, treze repetições biológicas com quatro replicatas cada,

para cada combinação de face e altitude, foram utilizadas para as demais análises totalizando 208 amostras.

## 2.2. Avaliações da qualidade fisiológica das sementes

Foram conduzidas no laboratório de Análise de Sementes no Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). **Teor de água** foi avaliado pelo método da estufa, a 105 °C por 48 h, com quatro repetições de 25 sementes cada, sendo o teor de água expresso em porcentagem (BRASIL, 2009). **Primeira contagem da germinação (PC)** e **Germinação total (GT)** foram conduzidos concomitantemente, com quatro repetições de 50 sementes sem endocarpo (pergaminho), que foram retirados manualmente, semeadas em rolos de papel toalha Estes rolos foram previamente umedecidos com água destilada na proporção de 2,5 vezes a sua massa inicial, e mantidos em germinador a temperatura de 30 °C (BRASIL, 2009). A avaliação de PC foi realizada 21 dias após do início do teste, a germinação total foi registrada após 30 dias do início do teste (BRASIL, 2009) (Figura 3 C-D). Sementes que apresentaram protrusão da raiz primária e no mínimo três raízes secundárias na primeira contagem do teste, e a estrutura aérea com comprimento concomitante com a raiz, foram consideradas como plântulas normais. Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais. **Determinação de comprimento da raiz** foram seguidos os procedimentos descritos acima para o teste de germinação. Aos seis dias após a semeadura as sementes foram posicionadas para que a raiz emitida siga o geotropismo. Foram utilizadas 4 repetições de 50 sementes e a avaliação foi realizada aos 30 dias. As plântulas normais foram coletadas em potes contendo 250 mL de álcool 30% para posteriores medições das diferentes raízes no WhinRHIZO. Para isso, obteve-se a média das variáveis das raízes de 15 plântulas normais, escolhidas ao acaso, por tratamento/repetição.

O comprimento, a morfologia e o diâmetro foram mesurados usando o sistema de análise de imagens WhinRHIZO Basic, Reg, Pro & Arabidopsis 2013 (Reagent Instrument Canadá INC.). As plântulas obtidas aos 30 dias (Fig. 3E) foram colocadas em uma cuba acrílica de 30 cm x 40 cm de comprimento, contendo 1000 mL de água destilada sobre o Scanner EPSON® LA2400. Estas, foram dispostas dispersas ao longo da cuba verificando a total imersão delas e evitando sobreposição entre plântulas e entre as raízes (Fig. 3C- 3E; Fig. 4). Baseados nas metodologias de Motta (2008) e Gutiérrez-Soto (2014) definidas por seu aspecto morfológico, raízes finas (RF) aquelas com

diâmetro menor a 0,5 mm; raízes médias (RM), de 0.5 mm a 1.5 mm; e raízes grossas (RG), maior que 1.5 mm (Fig. 4). As RF, RM e RG correspondiam, respectivamente, às raízes absorventes, raízes suporte das absorventes e raízes permanentes. Em cada uma das três classes de raízes determinaram-se o comprimento (cm/plântula).

Para a determinação da **lixiviação de Potássio (LK)** foram utilizadas alíquotas de 5 mL retiradas de cada exsudado da solução obtida após a avaliação da condutividade elétrica, na diluição 1:10 (lixiviado: água, v:v). As leituras foram realizadas em fotômetro de chama CELM FC-280. O cálculo da lixiviação de potássio foi realizado pela multiplicação da concentração de K na solução ( $\text{mg L}^{-1}$  de K) pelo volume de água destilada (mL) e dividido pela massa de sementes da amostra (g). Os resultados foram expressos em  $\text{mg L}^{-1}\text{K g}^{-1}$  de semente.

### **2.3. Determinação dos teores de açúcares solúveis totais e redutores**

Extração: Amostras de aproximadamente 1 g de semente de cada face e altitude, foram pulverizadas em moinho de bola com câmara fechada da Marconi, desengorduradas e pesadas, e sobre elas vertidas etanol 80% fervente ( $65^{\circ}\text{C}$ ). Para a extração as amostras foram misturadas em vórtex a alta velocidade até o tecido ficar homogêneo, após, o material foi centrifugado por 15 minutos a 2.000 rpm, este procedimento foi repetido 3x e o volume combinado das filtragens completado para o volume mais alto, em proveta. O pellet foi seco em estufa,  $65^{\circ}\text{C}$ , por 48 horas, e armazenado para posterior determinação do amido. O extrato alcoólico foi armazenado, sob refrigeração, em vidros vedados, para quantificação dos açúcares solúveis totais e redutores.

#### **2.3.1. Açúcares solúveis totais (AST)**

Foi realizada segundo o método Fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956). Inicialmente foi preparada a solução padrão de sacarose 1% para a realização da curva padrão. Sempre em duplicata, 250  $\mu\text{L}$  das amostras foram pipetadas em tubo de ensaio com rosca e adicionados 250  $\mu\text{L}$  de Fenol 5%, seguidos de agitação em vortex. Nos tubos foram acrescentados de 1,25 mL de ácido sulfúrico concentrado e agitados novamente. Após banho-maria à temperatura de  $30^{\circ}\text{C}$ , por 20 minutos, os tubos foram novamente agitados e postos em temperatura ambiente por 30 minutos e realizado a leitura em  $\lambda = 490 \text{ nm}$  em espectrofotômetro. A partir da absorbância lida foram

realizados os cálculos com as devidas correções das diluições e o resultado expresso em % AST.

### **2.3.2. Açúcares redutores (AR)**

Foi utilizada a metodologia do Ácido dinitrossalicílico (DNS) (GONÇALVES et al., 2010). Para o preparo do reagente foram utilizados 5 g de ácido dinitrossalicílico dissolvidos em 250 mL de água destilada a 80 °C. Quando a solução atingiu a temperatura ambiente (24 °C), 100 mL de NaOH, 2 N e 150 g de tartarato de sódio e potássio 4-hidratado foi adicionado e o volume completado com água destilada até o volume de 500 mL. Foram adicionados 500 µl de reagente e 500 µL da amostra aos tubos de ensaio. Em seguida foram mergulhados em banho de água fervente e, após 5 min, 4 mL de água destilada foram adicionados em cada tubo, resultando na mistura final da reação. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a  $\lambda = 540 \text{ nm}$ .

### **2.3.3. Açúcares não redutores (ANR)**

Foram estimados subtraindo-se o teor de açúcares redutores do teor de açúcares solúveis totais e expressos em % ANR.

### **2.3.4. Quantificação de sacarose**

As concentrações de sacarose foram determinadas pela diferença entre os teores de açúcares solúveis totais (AST) e açúcares redutores (AR), multiplicada pelo fator 0,95 conforme Martim (2003).

### **2.3.5. Conteúdo de amido**

As amostras foram preparadas utilizando-se o resíduo obtido da extração de AST, após secagem em estufa, à temperatura de 65°C. As amostras foram transferidas para tubos de ensaio e adicionados 2.5 mL de água destilada e 3.25 mL de ácido perclórico 52%, agitados e deixados em repouso, por 30 minutos. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 2000 g por 10 minutos. Os sobrenadantes foram coletados em provetas de 50 mL. Este procedimento foi realizado 3 vezes, e o volume combinado das centrifugações completado para 15 mL, com água destilada. O extrato foi armazenado em geladeira até o momento da quantificação. Para a quantificação, foi empregado o método fenol sulfúrico (DUBOIS et al., 1956), seguindo o mesmo procedimento da determinação do teor de açúcares solúveis totais.

#### **2.4. Conteúdo de Proteínas totais**

Determinado pelo método proposto por Bradford (1976). Foi usado o mesmo extrato utilizado para a determinação da atividade enzimática da PPO, utilizando albumina sorobovina (ASB) como padrão. As amostras foram colocadas em microtubos em banho de gelo para posterior diluição (1:9), sendo 100 µL de extrato em 900 µL de água destilada. Depois, foi tomado uma alíquota de 50 µL dessa solução e junto a 50 µL de água destilada e 1 mL de reagente de Bradford, foi realizada a leitura de absorbância em espectrofotômetro a 595 nm.

#### **2.5. Teor de lipídeos**

Sementes de café foram secas em estufa de ar forçado a 40 °C por 48 horas, moídas em moinho de bola e armazenadas em cartuchos de papel-filtro na câmara de Soxhlet para o desenvolvimento das extrações (4 repetições X 2 gr aprox.). O conjunto extrator foi carregado com hexano como solvente por 24 h de refluxo de acordo com a metodologia AOAC (2003). Os cartuchos foram retirados, secos em estufa a 70 °C por 48 h e pesados, a diferença entre o peso inicial e final representa o teor de lipídio da amostra.

#### **2.6. Alterações anatômicas do endosperma**

Após da secagem sobre papel, a sementes foram cortadas pela metade para facilitar a fixação e infiltração, conservando a porção que continha o embrião. Imediatamente as amostras foram fixadas em FAA<sub>50</sub> (formaldeído, ácido acético e álcool etílico 50%, na proporção de 5:5:90, v:v:v), por aproximadamente 48 horas e, em seguida, estocadas em álcool etílico 70% (Johansen 1940). Para as análises anatômicas, as amostras foram desidratadas em série etílica e incluídas em resina metacrilato (Historesin-Leica), de acordo com as recomendações do fabricante. Posteriormente seccionadas transversalmente em micrótomo rotativo com 5 µm de espessura. As seções foram montadas sobre lâminas histológicas e coradas com azul de toluidina (O'Brien et al. 1964), por 10 minutos, para a coloração metacromática das estruturas celulares.

Para as análises histoquímicas o processamento das amostras seguiram o mesmo procedimento utilizado para o teste realizado com azul de toluidina, porém coradas com corantes específicos para cada componente testado. Os testes histoquímicos utilizados foram: Azul de toluidina (O'Brien e McCully 1981) para mucilagem e compostos fenólicos estruturais e não estruturais; Xilidine Ponceau (Vidal,1970) para proteínas e

Sudan Red (Brundrett et al., 1991) para lipídeos, solução aquosa de cloreto férrico a 10%, adicionada de pequena porção de carbonato de cálcio, e fixação em solução aquosa contendo 4% de formalina a 10% de sulfato ferroso por 48 horas para localização de compostos fenólicos (Johansen 1940). Para a determinação de alcaloides, as amostras foram fixadas em FAA 50 e seccionadas transversalmente com criomicrotomo (LEICA CM 1850) com 30 µm de espessura, posteriormente foi realizado o teste com Reagente de Wagner (Furr & Mahlberg, 1981). As amostras incluídas em resina foram montadas em lâminas permanentes com resina sintética (Permount<sup>®</sup>) e as amostras não incluídas (teste com reagente de Wagner (Furr & Mahlberg, 1981) em lâminas semipermanentes com glicerina 30%. Após a confecção, análise e seleção do laminário, a documentação fotográfica foi realizada com fotomicroscópio (Olympus AX70) com sistema UPhoto acoplado a um microcomputador.

### **3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL**

Foi inteiramente casualizado, sendo 2 altitudes e 2 faces de insolação (2x2), com quatro repetições por unidade de amostragem. Os dados obtidos de qualidade fisiológica e bioquímica das sementes e a qualidade sensorial do grão foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e a comparação de medias foram realizadas através do teste de Tukey ( $p>0,05$ ). As análises estatísticas foram realizadas no programa SAS Versão 9.2.

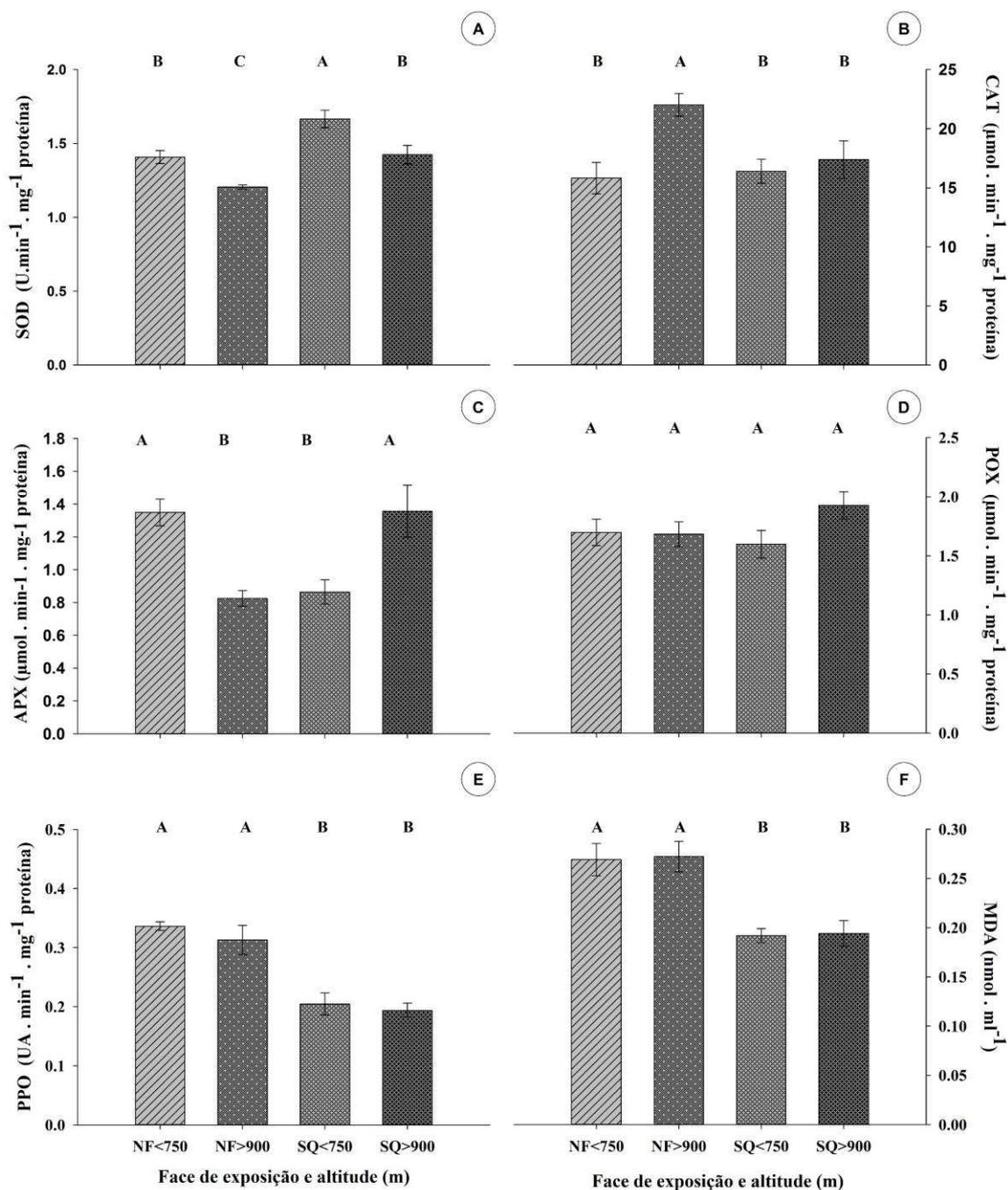
## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1. Avaliações da atividade do sistema antioxidante e a Polifenoloxidase (PPO) em sementes de café**

O café está submetido a diversos fatores de estresse abiótico, como as variações de temperatura e insolação durante o processo de formação e maturação do fruto e da semente. Assim, durante a germinação a produção de ROS das sementes passam a ser produzidos em maiores quantidades, podendo influir negativamente na qualidade fisiológica (KAWAK et al., 2006; BAILLY et al., 2008; ORACZ et al., 2009). Assim, as presenças de CAT, SOD, POX e APX nos embriões provavelmente estão relacionadas com a presença de ROS produto resultante da retomada do metabolismo mitocondrial durante a germinação e o crescimento inicial (PERGO; ISHII-IWAMOTO, 2011).

As sementes produzidas na face SQ<750m apresentaram maior atividade da SOD, em relação às sementes produzidas nas demais faces. A menor atividade desta

enzima foi obtida nas sementes colhidas na face NF>900m, enquanto nas faces NF<750m e SQ>900m não houve diferença significativa entre si (Fig. 3A). No entanto, a CAT que é considerada complementar à SOD, devido as espécies reativas de oxigênio que metabolizam, teve maior atividade nas sementes colhidas na face NF>900m, enquanto nas sementes das demais faces e altitudes não houve diferença significativa (Fig. 3B). Para a enzima APX, as sementes das faces SQ>900m e NF<750m apresentaram maior atividade em relação à face NF>900m e SQ<750 (Fig. 3C). Já para a enzima POX não houve diferença significativa entre as sementes colhidas nas diferentes condições de altitude e insolação (Fig. 3D).



**Figura 3.** Atividades das enzimas do estresse oxidativo de embriões de café. A. SOD., B. CAT., C. APX., D. POX., E. PPO e F. MDA, em sementes de café arábica colhidas em diferentes faces de exposição (NF e SQ) e em diferentes altitudes. Letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa pelo Teste de Tukey ( $p > 0.05$ ). NF: Noruega Fria; SQ: Soalheira Quente.

A menor atividade de uma enzima pode ser atribuída ao menor estresse oxidativo, portanto menor produção de EROS (PIGEOLET et al., 1990). A maior atividade das enzimas, se relaciona ao aumento na produção dessas moléculas (EROS). Estas, funcionam como um sinal metabólico sobre o estado redox da célula, influenciando a indução da expressão de genes relacionados a enzimas do estresse oxidativo, causado pelos efeitos do estresse biótico e abiótico, maximizando sua defesa (FOYER; NOCTOR, 2005). Neste caso pode-se atribuir a maior atividade da SOD na face SQ<750m a maior produção de EROS. Este estimulou o aumento na atividade da SOD resultando na redução da concentração de MDA (Fig. 3F).

Logo é possível associar a maior produção de MDA à a maior produção de EROS, conseqüentemente, à indução de genes de SOD, afetando positivamente sua atividade. O MDA é resultado do processo de peroxidação lipídica pela ação das EROS, sendo um produto secundário durante a oxidação de ácidos graxos poli-insaturados. Sua concentração indica o grau de estresse oxidativo presente (LIMA; ABDALLA, 2001). Desta maneira, maiores concentrações de MDA indicam maior estresse oxidativo nas sementes.

Especificamente no caso da SOD, aumento na sua atividade é relacionado à maior respiração da célula. A função da SOD é desmutar o superóxido, altamente reativo na célula, em  $H_2O_2$ , que posteriormente será convertido pela CAT em  $H_2O$  e  $O_2$ . Assim, a germinação e a formação das plântulas podem ser afetadas pelo excesso desta espécie reativa de oxigênio. A face (SQ<750m) apresentaram menor atividade de CAT, em comparação as sementes da face NF>900m. Nesta face (SQ<750m) houve a maior atividade da SOD, espera-se uma maior concentração de  $H_2O_2$  para servir de substrato à CAT, portanto alta atividade da CAT. Como foi observada menor atividade da CAT nessas condições, pode-se sugerir que a maior concentração de MDA provocou inicialmente a indução da atividade da SOD, como tentativa de controlar o estresse oxidativo. Porém o excesso de  $H_2O_2$ , gerado pela SOD, afetou o metabolismo celular, pois essa molécula se difunde facilmente através das membranas lipoproteicas com alta toxicidade contra alguns dos componentes celulares. O  $H_2O_2$  pode ser transportado através de aquaporinas específicas, homólogos das famílias TIP (proteína intrínseca tonoplástica) e PIP (proteína intrínseca da membrana plasmática) (BIENERT et al., 2007). Os danos nas estruturas celulares afetam o metabolismo normal das células, aqui refletido no menor vigor de sementes, como menor porcentagem de plântulas normais

(Fig. 4B), menor comprimento de raiz principal (Fig. 4D) e menor produção de raízes medias e finas pelas plântulas (Fig. 4F e Fig. 4G).

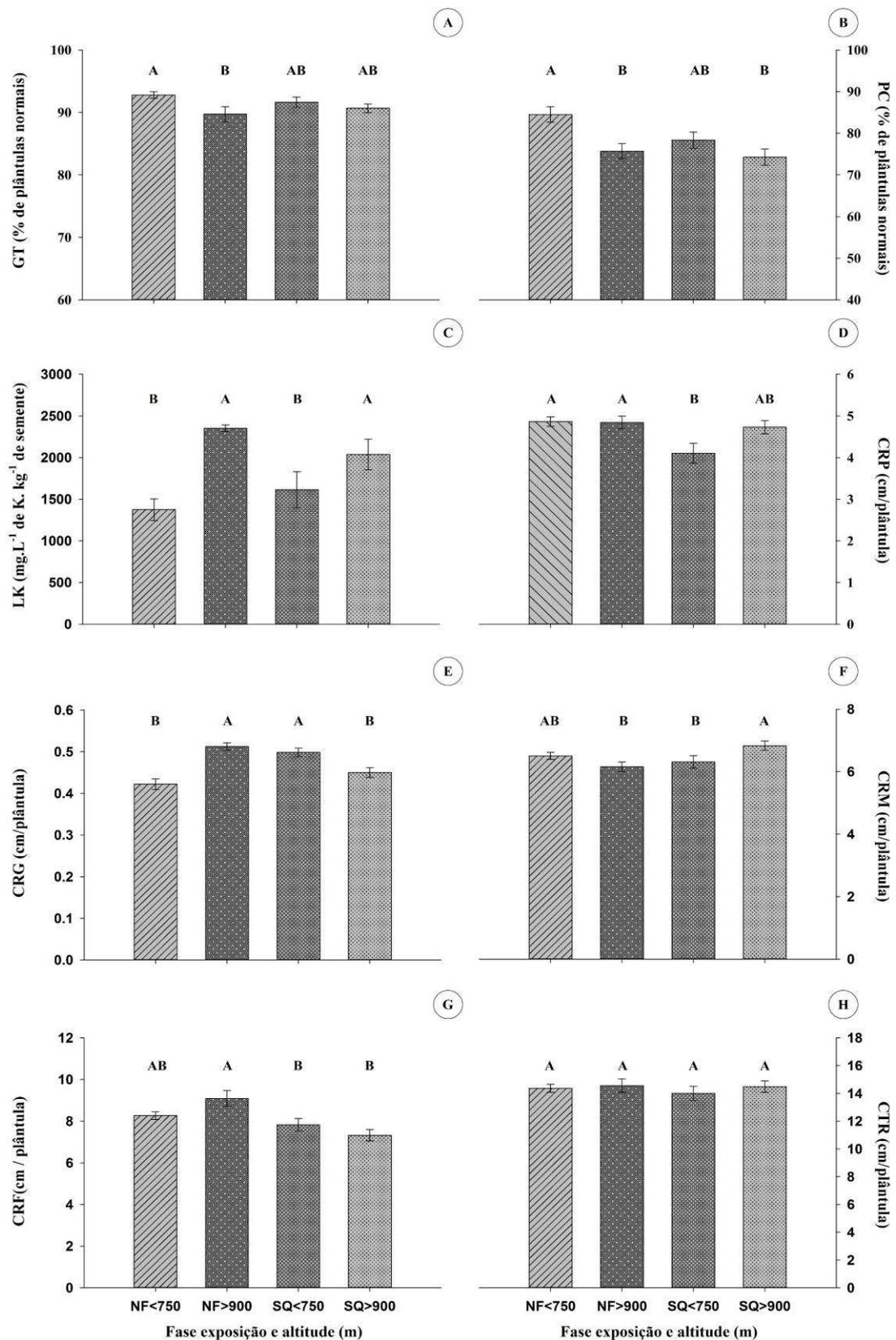
Durante a germinação as principais fontes de EROS se associam à atividade respiratória mitocondrial. Assim, a respiração é relacionada com a quebra de moléculas para fornecimento de energia ao processo germinativo. A SOD e a CAT, podem ser as enzimas cruciais que participam na neutralização das EROS (NOCTOR; DE PAEPE; FOYER, 2007). Isso ocorre porque durante a retomada da respiração pode haver escape de elétrons nas membranas ainda em rearranjo (EL-MAAROUF-BOUTEAU; BAILLY, 2008). Este comportamento foi observado em sementes de *Ipomea triloba* (PERGO; ISHII-IWAMOTO, 2011). No mitocôndria, durante a respiração, produto da germinação, na cadeia de transporte de elétrons (CTE), a energia livre reduz diretamente o  $O_2$  (RHOADS et al., 2006). Assim, no mitocôndria os locais de maior fonte de EROS são os complexos I e III são os principais locais de produção de ROS na cadeia de elétrons, gerando a alta produção de  $O_2^{\cdot-}$ , que é reduzido pela SOD para  $H_2O_2$ , (RODRÍGUEZ-SERRANO et al., 2009), posteriormente metabolizado pela CAT, mostrando a atividade desta enzima.

As sementes da face NF>900m, apresentaram a menor atividade da SOD. Este comportamento pode ser devido a danos metabólicos nessa enzima ou pela baixa produção de EROS. Neste caso, podemos sugerir que há baixa produção de EROS para servir de substrato para esta enzima, resultando em sua menor atividade, uma vez que, as sementes dessa face originaram plântulas com maior comprimento de raiz, MST (dados não mostrados) e proporção de raízes finas em relação as sementes da face SQ (Fig. 4G).

Possivelmente, fatores como menor temperatura proporcionada pela altitude e por esta face de insolação, tenham causado menor estresse durante o desenvolvimento e maturação dessas sementes. Desta forma, produzindo menores concentrações de EROS, especialmente de  $O_2^{\cdot-}$ , resultando na menor atividade da SOD. No entanto, sementes dessa mesma face (NF>900m), apresentaram maior atividade da CAT em comparação as demais combinações de face e altitude. Como a atividade da CAT, também é crucial para manutenção de níveis normais de EROS nas células, sua maior atividade pode ter ocorrido não devido a baixa atividade da SOD, o que conseqüentemente geraria menor fornecimento do substrato para CAT, e sim pela capacidade do  $H_2O_2$  em atravessar facilmente as membranas biológicas. Possivelmente, a alta atividade da CAT observada nas sementes dessa face (NF>900m), se ajusta como uma tentativa de metabolizar o

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, neste caso, proveniente de outras partes da semente (endosperma). Uma possibilidade seria do endosperma durante os primeiros momentos da embebição, podendo o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> difundir-se para o embrião. Este comportamento, quanto a maior atividade da CAT pode também se relacionar a capacidade das sementes da face NF>900m produzir plântulas com maior vigor de raiz (Fig. 4D). Considerando que essas duas enzimas se configuram como a primeira barreira de defesa contra o excesso de EROS, sementes dessa face, podem ter apresentado melhores resultados de vigor. Uma vez que, observando-se a menor atividade de SOD, pode-se atribuir à baixa concentração de O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, o que significa menor estresse oxidativo. Adicionada a maior atividade da CAT, associada possivelmente a maior presença de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, de outros compartimentos. A atividade da SOD e da CAT na manutenção do estado oxidativo das sementes durante a germinação é crucial para manutenção do processo germinativo e para o vigor das plântulas (PERGO; ISHII-IWAMOTO, 2011; GOMES; GARCIA, 2013). Segundo (DEMIRKAYA; DIETZ; SIVRITEPE, 2010), a diminuição geral na atividade da CAT na semente diminui a capacidade respiratória, reduzindo o fornecimento de energia (ATP) e assimilados, para a germinação da semente. Podendo causar atraso na germinação e na primeira contagem da germinação como visto neste experimento (Fig. 4A e Fig. 4B) e menor incremento em crescimento, o que poderia levar à plântula a desenvolver maior comprimento dos diferentes tipos de raiz das plântulas oriundas de sementes da face NF>900 (Fig. 4D, Fig. 4E e Fig. 4G).

Além disso, menor atividade da APX também foi encontrada nas sementes da face NF>900m e comparação as sementes das faces NF<750m e SQ>900m (Fig. 2C). A menor atividade dessa enzima nessas condições também reforça a alta atividade da CAT. Considerando que ambas as enzimas metabolizam o mesmo substrato, a maior atividade da CAT nessa face, pode ter limitado o substrato para a APX. A enzima APX é um componente central do ciclo AsA-GSH, onde utiliza duas moléculas de AsA para reduzir o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, gerando duas moléculas de monodesidroascorbato e água (SHARMA; DUBEY, 2004). Já a maior atividade dessa enzima nas faces NF<750m e SQ>900 pode ser creditada a algum tipo de estresse ambiental, como ventos fortes e baixas temperaturas em altas altitudes ou geadas em baixas altitudes. Uma vez que, diferentes isoformas de APX estão amplamente distribuídas nas células vegetais e atuam de maneira eficiente na eliminação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em condições estressantes (WANG; ZHANG; ALLEN, 1999).



**Figura 4.** Qualidade de sementes de café coletadas nas faces de exposição Noruega Fria (NF) e Soalheira Quente (SQ), em duas faixas de altitude (abaixo de 750 e acima de 900 m). A. Germinação total (GT); B. Germinação na primeira contagem

(PC); C. Lixiviação de potássio (LK); D. Comprimento de raiz principal (CRP); E. C. Raízes grossas (CRG) com diâmetro maior que 1.5 mm; F. C. Raízes médias (CRM) com diâmetro entre 0.5 mm a 1.5 mm; G. C. Raízes finas (CRF) com diâmetro menor a 0.5 mm; H. C. total de raiz (CTR). Letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa pelo Teste de Tukey ( $p > 0.05$ ).

Diversos trabalhos relatam o aumento na atividade da APX em resposta a estresses abióticos como temperatura (HAN; LIU; YANG, 2009), a seca (BOO; JUNG, 1999; SHARMA; DUBEY, 2005) e a salinidade (HEFNY; ABDEL-KADER, 2009).

Para a enzima PPO, amplamente associada a qualidade da bebida produzida, a maior atividade foi obtida nas sementes provenientes das faces NF, independente da altitude (Fig. 3E). Enquanto a concentração de MDA, as sementes produzidas na face SQ independentemente da altitude apresentaram a menor formação deste composto em relação as sementes produzidas nas demais combinações de face e altitude, esse mesmo padrão foi observado na PPO (Fig. 3E e Fig. 3F).

A enzima PPO é uma oxidoredutase que catalisa a oxidação de uma ampla gama de compostos fenólicos utilizando oxigênio molecular (MATHUR et al., 2015). São associadas à cor e sabor de diversos produtos, como chás, cacau e café, diferentes níveis de atividade da PPO estão relacionados a diferentes classificações de xícaras de café. Para os tipos rio e riada, a atividade está abaixo de  $55,99 \text{ U g}^{-1}$  amostra; para o tipo duro, entre  $55,99$  e  $62,99 \text{ U g}^{-1}$ ; para o tipo mole, entre  $62,99$  e  $67,66 \text{ U g}^{-1}$ , e para o tipo estritamente mole, a atividade está acima de  $67,99 \text{ U g}^{-1}$  (CLEMENTE et al., 2015). Neste trabalho a atividade dessa enzima em todas as faces e altitudes avaliadas foi superior a atividade encontrada por estes autores para os cafés de melhor qualidade. Assim, podemos sugerir que os cafés aqui analisados e produzidos em diferentes faces e altitudes, possuíam diferentes notas de boa a alta qualidade de bebida entre eles (dados não mostrados). No entanto, as melhores notas de qualidade foram atribuídas às sementes da face SQ e as maiores atividades da PPO foram obtidas das sementes da face NF, (Fig. 3E).

A maioria dos trabalhos que avaliam a qualidade do café (química ou sensorial), avalia também a atividade da enzima polifenoloxidase, uma vez que ela pode ser usada como indicadora da qualidade (FARNEZI et al., 2010; ANGÉLICO et al., 2011), sendo que cafés de melhor qualidade apresentam maior atividade de polifenoloxidase

(CARVALHO et al., 1994; MAZZAFERA et al., 2002). Segundo Angélico et al. (2011), a lixiviação de potássio e a atividade de PPO mostra-se como importantes indicadores indiretos da qualidade sensorial de café e identificam cafés com danos nas membranas celulares. Este comportamento quanto a atividade da PPO, pode ser explicado pelo fato de que em cafés especiais, há menos lesões (mecânicas, fisiológicas ou microbianas), portanto menores quantidades de compostos fenólicos são liberados do vacúolo para o citosol (CLEMENTE et al., 2015). Ou seja, haverá menor quantidade de substrato para enzima, resultando em sua menor atividade. Esta enzima age sobre compostos fenólicos no citosol e formam quinonas que polimerizam com moléculas orgânicas para produzir a cor escura característica do café (CLEMENTE et al., 2015). Nossas análises mostraram que, as sementes de café com maior atividade da PPO e que também apresentaram menores valores de LK, ocorreram na face NF<750, sendo a face que apresenta a melhor qualidade fisiológica de semente (Fig.3E e Fig.4C).

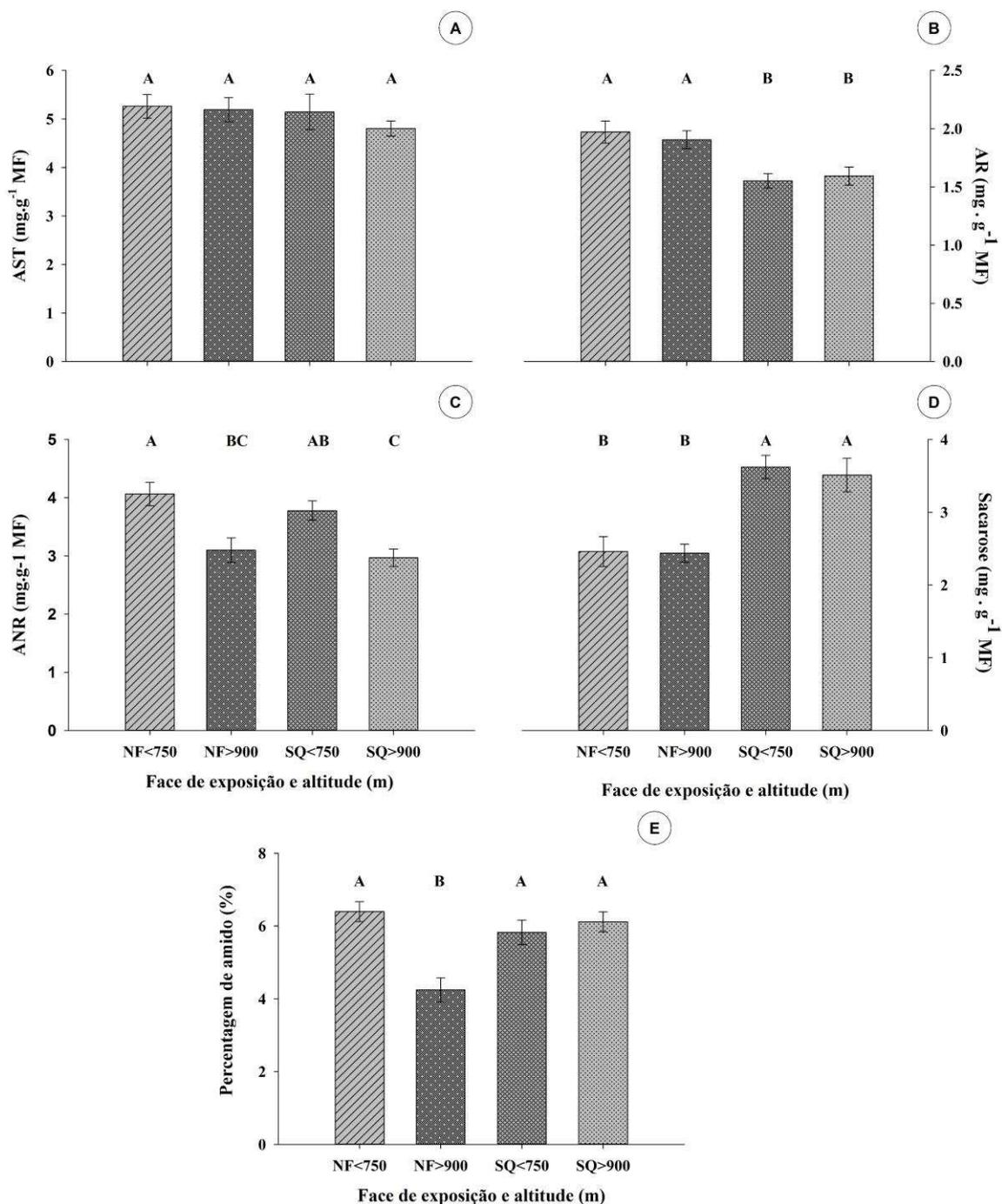
#### **4.2. Determinação dos teores de açúcares solúveis totais e redutores**

Não foram observadas diferenças significativas entre a concentração de AST e de lipídeos nas sementes de café colhidas nas diferentes condições avaliadas (Fig. 5A e Fig. 6A). A atividade da PPO está associada a a concentração de açúcares redutores (CLEMENTE et al., 2015). Mesmo comportamento apresentado pelas sementes avaliadas aqui. Onde os maiores teores de AR e a maior atividade da PPO foram encontrados nas sementes da face NF independentemente da altitude (Fig. 4B e Fig. 3E).

No entanto, para as concentrações de AR, ANR, sacarose, amido e proteína foi verificada diferença entre as sementes colhidas nas diferentes condições (Fig. 5B, 5C, 5D e 5E, 6A respectivamente). As sementes provenientes da face NF>900m apresentaram maior concentração de AR superior às sementes da face SQ<750m, mesmo comportamento apresentado pelas concentrações de ANR. Para esta última variável, as menores concentrações foram obtidas nas sementes oriundas da face SQ<750m (Fig. 5C), mesmo resultado obtido para a concentração de sacarose. Por outro lado, sementes obtidas na face NF>900 apresentaram a menor concentração de amido, comparado com os demais tratamentos avaliados que não apresentaram diferença entre si (Fig. 5D).

No café e outras sementes, a presença de sacarose, AST, AR e compostos como proteínas e lipídeos podem ter relação com a capacidade germinativa e o vigor (Fig. 4).

Pode-se observar que as sementes da face NF<750m apresentaram maior teor de amido, alto teor de AST e AR (Fig. 4A - 4F).



**Figura 5.** Teor de açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR), açúcares não redutores (ANR), sacarose e porcentagem de amido em sementes de café arábica colhidas em diferentes faces de exposição (NF e SQ) e diferentes altitudes. Letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa pelo Teste de Tukey ( $p > 0.05$ ). NF: Noruega Fria; SQ: Soalheira Quente.

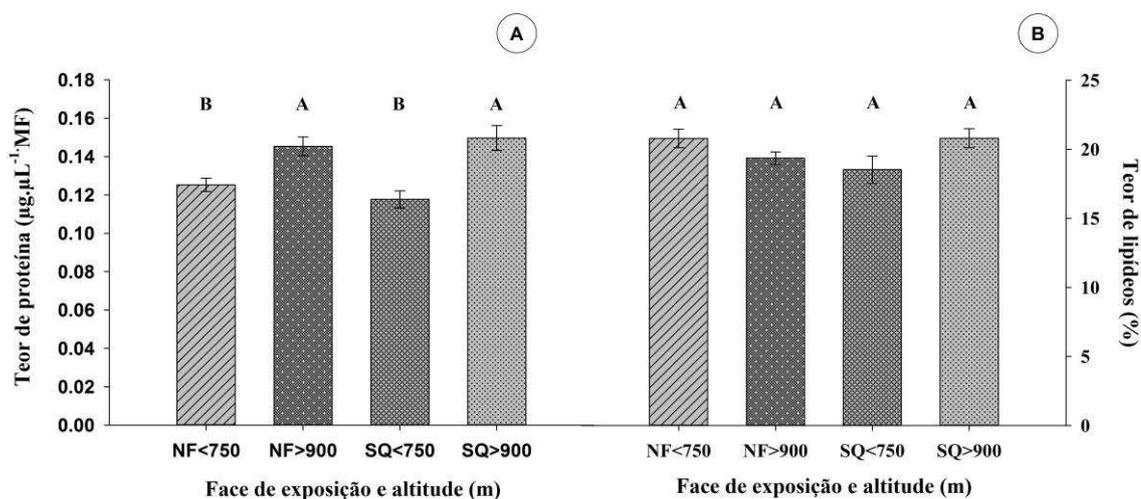
Coincidentemente foram as sementes cultivadas nessa face que apresentaram maiores valores de germinação, porcentagem de plântulas normais na primeira contagem e menor lixiviação de potássio (Fig. 4A - Fig. 4C). Durante a embebição o embrião necessita de energia para germinar, essa energia é fornecida pelo consumo de AR (NONOGAKI; BASSEL; BEWLEY, 2010).

O efeito dos açúcares sobre a qualidade da bebida já foi amplamente relatado. As maiores concentrações de sacarose foram obtidas nas sementes produzidas na face SQ, independente da altitude de cultivo (Fig. 4D). O teor de sacarose do grão de café é um componente importante do sabor. Quanto maior o teor de sacarose no fruto cru, mais intenso o sabor (SOMPORN et al., 2012). Acredita-se que a sacarose seja completamente degradada durante a torrefacção, produzindo açúcares menores, precursores de ácidos e aldeídos responsáveis pelo aroma do café (SILVA et al., 2002). Os açúcares redutores também são importantes precursores do sabor no café, as maiores concentrações deste açúcar, foram, encontradas nas sementes da face NF, independente da altitude (Fig. 5B). Isso porque os cafés dessa face foram os que receberam os menores atributos de qualidade sensorial, no entanto, a face NF<750 tiveram os maiores valores de germinação e PC da germinação (Fig. 4A e Fig. 4B). Este comportamento é facilmente compreendido, uma vez que, as quantificações realizadas aqui foram feitas no grão cru, e as sementes da face SQ apresentaram maior quantidade de sacarose nestas condições. Porém após a torra, este açúcar, é um dos principais contribuintes para o total de açúcares redutores livres no café, além do aroma e do sabor, portanto, gerando cafés de melhor qualidade. Estes açúcares redutores, provenientes da quebra da sacarose, estão implicados nas reações de Maillard que ocorrem durante o processo de torrefacção (SOMPORN et al., 2012).

#### **4.3. Conteúdo de Proteínas totais e teor de Lipídeos**

Com relação a concentração de proteínas, as maiores concentrações foram obtidas nas sementes colhidas em altitudes superiores a 900 m, independente da face de exposição solar. Ou seja, NF>900m e SQ>900m, e as menores concentrações nas sementes colhidas em altitudes inferiores a 750 m (Fig. 6A). A maior concentração de proteínas nessas sementes pode se relacionar as menores temperaturas encontradas em altitudes mais elevadas. A presença destes compostos pode estar associada também a qualidade da bebida produzida e possivelmente estão relacionadas com a qualidade da semente. Além disso, em maiores altitudes há menos oxigênio e menor temperatura,

essas condições possibilitam um alongamento do ciclo de maturação do fruto do café, dando mais tempo para o acúmulo de compostos como as proteínas (SRIDEVI; PARVATAM, 2013). Após a germinação, inicia-se a hidrólise enzimática organizada destas reservas e os péptidos / aminoácidos são translocados para utilização pelo embrião em crescimento (CALLIS, 1995). O maior acúmulo de proteínas pode estar relacionado à formação de plântulas de maior vigor, como obtido neste trabalho, onde sementes cultivadas em altitudes superiores a 900 m originaram plântulas que apresentaram maior desenvolvimento do sistema radicular (Fig. 4)



**Figura 6.** Teor de proteína e lipídeos em sementes de café arábica colhidas em diferentes faces de exposição (NF e SQ) e diferentes altitudes (<750m e >900m). Letras diferentes acima das barras indicam diferença significativa pelo Teste de Tukey ( $p > 0.05$ ). NF: Noruega Fria; SQ: Soalheira Quente.

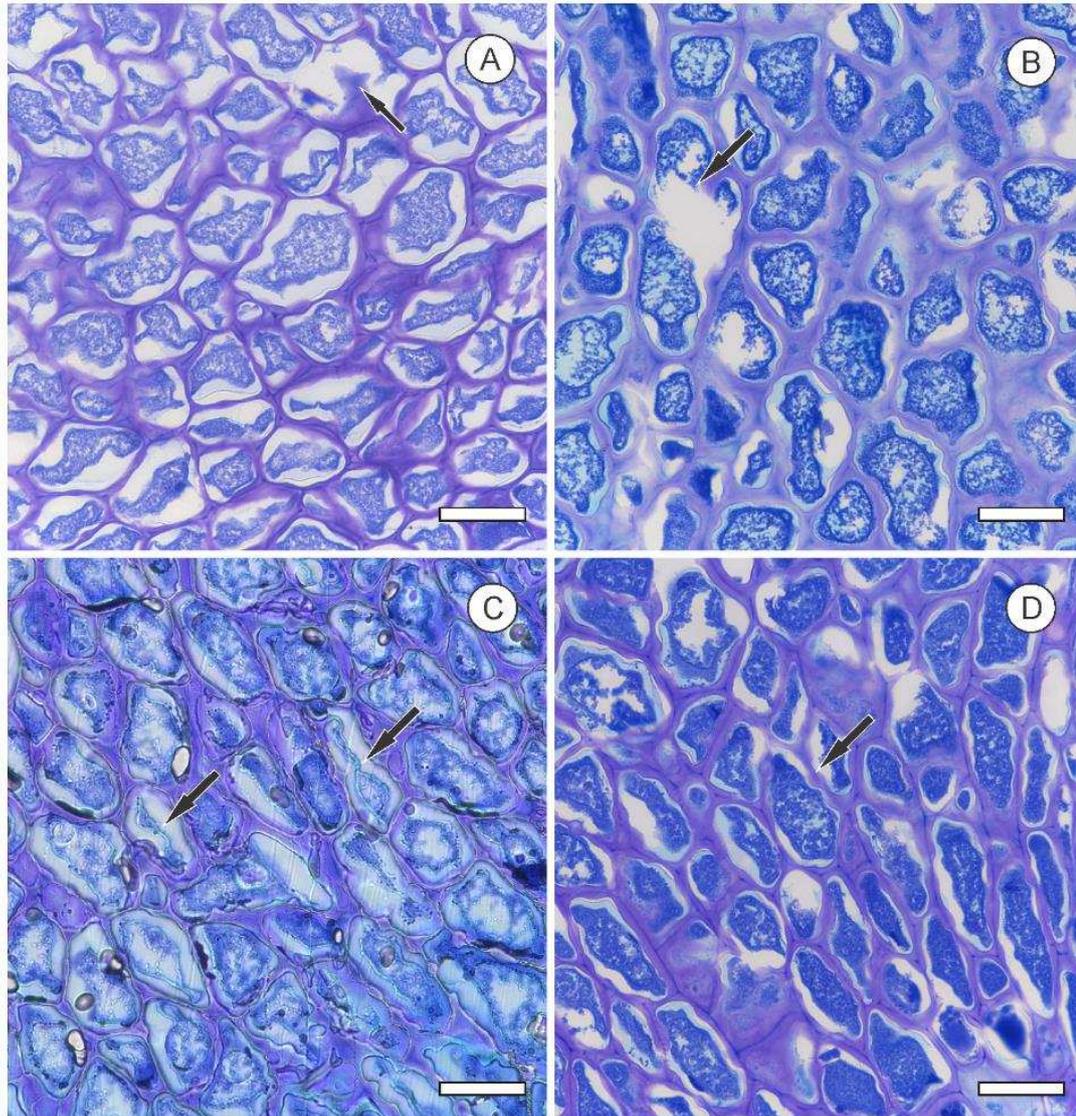
Em algumas sementes, os lipídeos presentes no endosperma, são a principal fonte de energia durante a germinação e crescimento da plântula (GRAHAM, 2008). O ponto de vista da qualidade de semente, não foi observado que a mobilização dos lipídeos de reserva seja essencial para a germinação, pois não foram encontradas diferenças estatísticas no teor de lipídeos (Fig. 6B). No entanto, foram encontradas diferenças significativas nos valores da massa seca total de plântulas e comprimento de raiz principal nas faces SQ e NF>900 (\*dados não mostrados e Fig. 4D), o que provavelmente mostraria que os lipídeos estão relacionados ao crescimento e estabelecimento da plântula, como foi observado em Macaúba (BICALHO et al., 2016).

#### 4.4. Alterações anatômicas no endosperma

As avaliações anatômicas realizadas no endosperma das sementes de café, mostram que as sementes produzidas na face NF<750m apresentavam menor integridade estrutural em relação as demais (Fig. 7A). A degradação da parede celular é associada com a redução da qualidade da bebida sensorial (GOULART et al., 2007). Segundo estes mesmos autores alterações na parede celular permite que haja perda do conteúdo citoplasmático, conseqüentemente da qualidade da bebida produzida. A degradação da parede é menos intensa nas demais faces (Fig. 7B a Fig. 7D), tendo como consequência maior qualidade da bebida. Assim, mostrasse a degradação da parede celular nas sementes, com exceção das células das sementes produzidas na face SQ>900m (Fig. 7D). Sementes oriundas dessa face apresentaram parede celular intacta e boa conformação do conteúdo citoplasmático. Outros resultados das avaliações histoquímicas também reforçam a quantificação de proteínas nas sementes (Fig. 6A). É possível observar maior presença deste composto no protoplasto das células do endosperma das sementes produzidas em altitudes superiores a 900m independentemente da face (Fig. 8B e 8D).

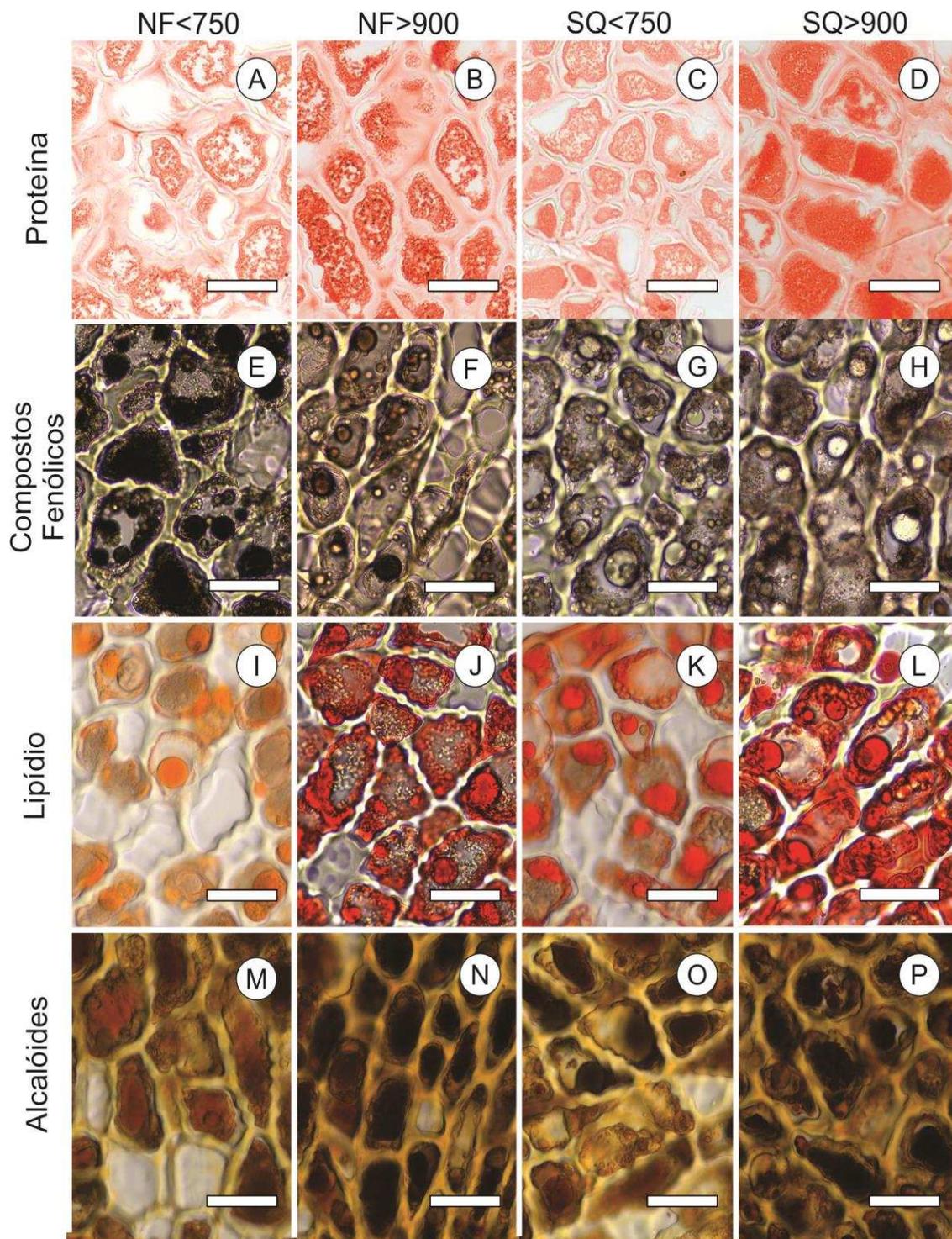
Lipídeos e compostos fenólicos se relacionam com a qualidade da bebida, assim, em cafés especiais menores quantidades de compostos fenólicos são liberados do vacúolo para o citosol (CLEMENTE et al., 2015). Nos resultados desta pesquisa, é possível observar maior presença de compostos fenólicos no endosperma das sementes da face NF<750m (Fig. 8E), nesta face também apresenta os maiores valores da PPO, GT e PC. Os compostos fenólicos dão contribuição significativa à atividade antioxidante a defesa vegetal, dentro destes compostos estão os ácidos clorogênicos, largamente encontrado em grãos de café verde (ESQUIVEL; JIMÉNEZ, 2012).

Por outro lado, as amostras tratadas com o reagente Sudan Red mostraram a presença de lipídeos nas células do endosperma dos grãos em todas as faces e altitudes avaliadas. Em cafés de bebida mole, os corpos lipídicos apresentam-se de forma globular (GOULART et al., 2007), como é possível verificar na Fig. 8I -8L, indicando que todas as amostras avaliadas aqui tinham potencial para gerar bebida de boa qualidade. Os lipídeos junto com os carboidratos e as proteínas nas sementes compõem os compostos de reserva básicos para o processo de germinação. Os lipídeos são reservas energéticas inertes e que necessitam de maior número de etapas metabólicas para se tornarem energia pronta para a utilização da célula (BEWLEY et al., 2013).



**Figura 7.** Corte transversal no endosperma de sementes de café produzidas em diferentes condições de altitude e face de insolação. NF<750m, (A); NF>900m, (B); SQ<750m, (C) e SQ>900m (D), coradas com azul de toluidina. As setas indicam ruptura na parede celular ou perda da integridade citoplasmática. Barras = 50µm.

Os principais lipídeos da semente de café estão localizados no endosperma, e é composto principalmente pelos triglicerídios como os ácidos graxos numa proporção de 75.2 % MS e de ésteres de álcoois diterpênicos e ácidos graxos (18.5% MS) (MAIER, 1981; WILSON; PETRACCO; ILLY, 1997; SPEER; KÖLLING-SPEER, 2006).



**Figura 8.** Cortes transversais em endosperma de sementes de café, produzidas em diferentes condições de altitude e face de insolação. Os cortes foram corados com XP, para proteínas; SF em formalina neutra, para compostos fenólicos; Sudan red, para lipídeos e reagente de Wagner para alcaloides. Barras= 50µm.

A presença dos lipídeos nas bordas dos grãos funciona, na torrefação, como peneira seletiva, retendo os compostos aromáticos que são formados pela pirólise durante o aquecimento (GOULART et al., 2007). Foi possível observar que as amostras que receberam as melhores notas de qualidade de bebida apresentaram maior distribuição dos corpos lipídicos nas células do endosperma (Fig. 8J e 8L). Especialmente as produzidas na face SQ>900m onde é possível observar corpos lipídicos arredondados de diversos tamanhos distribuídos em toda célula (Fig. 8L). Enquanto que no endosperma das amostras produzidas na face NF<750m é facilmente observada menor presença de corpos lipídicos bem distribuídos (Fig. 8I). Mesmo resultado encontrado por Goulart et al. (2007), em endosperma de sementes de café de diferentes qualidades. Estes autores relacionaram a distribuição dos corpos lipídicos, a forma globular bem distribuída com a melhor qualidade de bebida produzida após a torra. Quanto aos alcalóides, observamos sua presença em todas as amostras testadas (Fig. 8M-8P), dentre estes a cafeína é o mais comumente encontrado nos grãos de café. A cafeína, 1,3,7-trimetil-xantina, é o composto mais popular por excelência reconhecido nos produtos a base de café. As maiores quantidades de cafeína são extraídas das cascas do fruto de café (TELLO; VIGUERA; CALVO, 2011).

Estes resultados junto com os resultados das avaliações bioquímicas e fisiológicas mostram que a face, a altitude a radiação solar e possivelmente a temperatura, podem influir na qualidade fisiológica da semente e sensorial do grão. Isso mostra, a importância de selecionar cuidadosamente o local da implantação do cafezal e o objetivo produtivo dele (produção de sementes ou grão para bebida de alta qualidade).

## **5. CONCLUSÕES**

As sementes colhidas na face Noruega Fria abaixo de 750 m apresentaram os maiores teores de açúcares redutores e açúcares não redutores e maior atividade das enzimas PPO, APX e MDA, refletindo em maior velocidade de germinação e vigor.

Na SQ>900m os grãos apresentaram melhor qualidade sensorial de bebida e verificou-se alta atividade das enzimas antioxidantes POX, APX e a baixa atividade da PPO.

A atividade da PPO, pode estar relacionada com a altitude pois nos grãos da face NF independentemente da altitude é semelhante qualidade sensorial verificou-se alta atividade desta enzima, enquanto baixa atividade da PPO foi constatada nos grãos produzidos na face SQ, com alta qualidade sensorial na face SQ>900m.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGÉLICO, C. L.; PIMENTA, C. J.; CHALFOUN, S. M.; DE RESENDE CHAGAS, S. J.; PEREIRA, M. C.; CHALFOUN, Y. Diferentes estádios de maturação e tempos de ensacamento sobre a qualidade do café. **Coffee Science**, v. 6, n. 1, p. 8–19, 2011.
- BAILLY, C.; EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; CORBINEAU, F. From intracellular signaling networks to cell death: the dual role of reactive oxygen species in seed physiology. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, n. 10, p. 806–814, 2008.
- BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K. J.; HILHORST, H. W. M.; NONOGAKI, H. **Seeds Physiology of Development, Germination and Dormancy**. 3. ed. New York, NY: Springer New York, 2013.
- BICALHO, E. M.; MOTOIKE, S. Y.; LIMA E BORGES, E. E. de; ATAÍDE, G. da M.; GUIMARÃES, V. M. Enzyme activity and reserve mobilization during Macaw palm (*Acrocomia aculeata*) seed germination. **Acta Botanica Brasilica**, v. 30, n. 3, p. 438–444, 2016.
- BIENERT, G. P.; MØLLER, A. L. B.; KRISTIANSEN, K. A.; SCHULZ, A.; MØLLER, I. M.; SCHJOERRING, J. K.; JAHN, T. P. Specific aquaporins facilitate the diffusion of hydrogen peroxide across membranes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 282, n. 2, p. 1183–1192, 2007.
- BOO, Y. C.; JUNG, J. Water deficit—induced oxidative stress and antioxidative defenses in rice plants. **Journal of Plant Physiology**, v. 155, n. 2, p. 255–261, 1999.
- CALLIS, J. Regulation of protein degradation. **The Plant Cell**, v. 7, n. 7, p. 845, 1995.
- CARVALHO, V. D. de; CHALFOUN, S. M. S.; CHAGAS, S. J. de R. Fatores que afetam a qualidade do café. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 18, n. 183, p. 5-20, 1997.
- CECAFE Relatório mensal agosto 2016 disponível em <http://www.cecafe.com.br/publicacoes/noticias/relatorio-mensal-de-exportacoes-de-agosto-2016-atualizado-em-06102016-20161006/>
- CLEMENTE, J. M.; MARTINEZ, H. E. P.; ALVES, L. C.; FINGER, F. L.; CECON, P. R. Effects of nitrogen and potassium on the chemical composition of coffee beans and on beverage quality. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 37, n. 3, p. 297–305, 2015.

- CONAB, Companhia nacional de Abastecimento, Acompanhamento da safra Brasileira: Café. Safra 2016 Segundo levantamento. [Online]. Brasília, Brasil (2016). Disponível:  
[http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/levantamento/Boletim\\_cafe\\_mai\\_2016.pdf](http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/levantamento/Boletim_cafe_mai_2016.pdf) [15 July 2016]
- DEMIRKAYA, M.; DIETZ, K. J.; SIVRITEPE, H. O. Changes in antioxidant enzymes during ageing of onion seeds. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 38, n. 1, p. 49–52, 2010.
- EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; BAILLY, C. Oxidative signaling in seed dormancy and germination. **Plant Signal Behav**, v. 3, p. 1–8, 2008.
- ESQUIVEL, P.; JIMÉNEZ, V. M. Functional properties of coffee and coffee by-products. **Food Research International**, v. 46, n. 2, p. 488–495, 2012.
- FARNEZI, M. M. D. M.; SILVA, E. D. B.; GUIMARÃES, P. T. G.; PINTO, N. A. V. D. Levantamento da qualidade da bebida do café e avaliação do estado nutricional dos cafeeiros do Alto Jequitinhonha, Minas Gerais, através do DRIS. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 5, p. 1191–1198, 2010.
- FERREIRA, W. P. M.; RIBEIRO, M. de F.; FERNANDES, E. I. F.; SOUZA, C. de F.; CASTRO, C. C. R. de. As Características Térmicas das Faces Noruega e Soalheira como Fatores Determinantes do Clima Para a Cafeicultura de Montanha. **Embrapa Café**, v. Documentos, p. 34, 2012.
- FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context. **Plant, Cell & Environment**, v. 28, n. 8, p. 1056–1071, 2005.
- GOMES, M.; GARCIA, Q. Reactive oxygen species and seed germination. **Biologia**, v. 68, n. 3, p. 351–357, 2013.  
Disponível em: <<http://www.degruyter.com/view/j/biolog.2013.68.issue-3/s11756-013-0161-y/s11756-013-0161-y.xml>>.
- GRAHAM, I. A. Seed storage oil mobilization. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 115–142, 2008.
- 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. 662–667, 2007.

- HEFNY, M.; ABDEL-KADER, D. Z. Antioxidant-enzyme system as selection criteria for salt tolerance in forage sorghum genotypes (*Sorghum bicolor* L. Moench). In: **Salinity and Water Stress**. Springer, 2009. p. 25–36.
- HEYNO, E.; MARY, V.; SCHOPFER, P.; KRIEGER-LISZKAY, A. Oxygen activation at the plasma membrane: relation between superoxide and hydroxyl radical production by isolated membranes. **Planta**, v. 234, n. 1, p. 35–45, 2011.
- JOËT, T.; LAFFARGUE, A.; DESCROIX, F.; DOULBEAU, S.; BERTRAND, B.; DUSSERT, S. Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green Arabica coffee beans. **Food Chemistry**, v. 118, n. 3, p. 693–701, 2010.
- KWAK, J. M.; NGUYEN, V.; SCHROEDER, J. I. The role of reactive oxygen species in hormonal responses. **Plant Physiology**, v. 141, n. 2, p. 323–329, 2006.
- LAVIOLA, B. G.; MARTINEZ, H. E. P.; SALOMÃO, L. C. C.; CRUZ, C. D.; MENDONÇA, S. M.; ROSADO, L. D. S. Acúmulo de nutrientes em frutos de cafeeiro em duas altitudes de cultivo: micronutrientes. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, n. 6, p. 212–221, 2007.
- LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 3, p. 293–303, 2001.
- MAIER, H. G. **Kaffee**. Parey, 1981. v. 18
- MATHUR, R.; NAVYA, P. N.; BASAVARAJ, K.; MURTHY, P. S. Bioprocess of robusta cherry coffee with polyphenol oxidase and quality enhancement. **European Food Research and Technology**, v. 240, n. 2, p. 319–325, 2015.
- NOCTOR, G.; DE PAEPE, R.; FOYER, C. H. Mitochondrial redox biology and homeostasis in plants. **Trends in Plant Science**, v. 12, n. 3, p. 125–134, 2007
- NONOGAKI, H.; BASSEL, G. W.; BEWLEY, J. D. Germination—Still a mystery. **Plant Science**, v. 179, n. 6, p. 574–581, dez. 2010. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168945210000403>>. Acesso em: 18 jul. 2014.
- ORACZ, K.; EL-MAAROUF-BOUTEAU, H.; KRANNER, I.; BOGATEK, R.; CORBINEAU, F.; BAILLY, C. The mechanisms involved in seed dormancy alleviation by hydrogen cyanide unravel the role of reactive oxygen species as key factors of cellular signaling during germination. **Plant Physiology**, v. 150, n. 1, p. 494–505, 2009.

- PERGO, É. M.; ISHII-IWAMOTO, E. L. Changes in energy metabolism and antioxidant defense systems during seed germination of the weed species *Ipomoea triloba* L. and the responses to allelochemicals. **Journal of Chemical Ecology**, v. 37, n. 5, p. 500–513, 2011.
- PIMENTA, C.J.; VILELA, E.R. Efeito do tipo e época de colheita na qualidade do café (*Coffea arabica* L.). **Acta Scientiarum: Agronomy**, v.25, p.131-136, 2003
- PIGEOLET, E.; CORBISIER, P.; HOUBION, A.; LAMBERT, D.; MICHIELS, C.; RAES, M.; ZACHARY, M. D.; REMACLE, J. Glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and catalase inactivation by peroxides and oxygen derived free radicals. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 51, n. 3, p. 283–297, 1990.
- RESENDE, M. L. de. **Alterações fisiológicas e bioquímicas durante a germinação de sementes de café (*Coffea arabica* L.) cv. Rubi**. Lavras, 2006. 108 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras
- RHOADS, D. M.; UMBACH, A. L.; SUBBAIAH, C. C.; SIEDOW, J. N. Mitochondrial reactive oxygen species. Contribution to oxidative stress and interorganellar signaling. **Plant Physiology**, v. 141, n. 2, p. 357–366, 2006.
- RODRÍGUEZ-SERRANO, M.; ROMERO-PUERTAS, M. C.; PAZMIÑO, D. M.; TESTILLANO, P. S.; RISUEÑO, M. C.; LUIS, A.; SANDALIO, L. M. Cellular response of pea plants to cadmium toxicity: cross talk between reactive oxygen species, nitric oxide, and calcium. **Plant Physiology**, v. 150, n. 1, p. 229–243, 2009.
- SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Ascorbate peroxidase from rice seedlings: properties of enzyme isoforms, effects of stresses and protective roles of osmolytes. **Plant Science**, v. 167, n. 3, p. 541–550, 2004.
- SHARMA, P.; DUBEY, R. S. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. **Plant Growth Regulation**, v. 46, n. 3, p. 209–221, 2005.
- SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, v. 2012, 2012.
- SRIDEVI, V.; PARVATAM, G. Influence of altitude variation on trigonelline content during ontogeny of *Coffea canephora* fruit. **Journal of Food Studies**, v. 2, n. 1, p. 62–74, 2013.

- SRIVASTAVA, S.; DUBEY, R. S. Manganese-excess induces oxidative stress, lowers the pool of antioxidants and elevates activities of key antioxidative enzymes in rice seedlings. **Plant Growth Regulation**, v. 64, n. 1, p. 1–16, 2011.
- SPEER, K.; KÖLLING-SPEER, I. The lipid fraction of the coffee bean. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 201–216, 2006.
- SOMPORN, C.; KAMTUO, A.; THEERAKULPISUT, P.; SIRIAMORNPUN, S. Effect of shading on yield, sugar content, phenolic acids and antioxidant property of coffee beans (*Coffea arabica* L. cv. Catimor) harvested from north-eastern Thailand. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 9, p. 1956–1963, 2012.
- TELLO, J.; VIGUERA, M.; CALVO, L. Extraction of caffeine from Robusta coffee (*Coffea canephora* var. Robusta) husks using supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 59, p. 53–60, 2011.
- VILELA, P. S.; RUFINO, J. L. dos S. Caracterização da cafeicultura de montanha de Minas Gerais. **Belo Horizonte: Instituto Antônio Ernesto de Salvo**, 2010.
- WANG, J.; ZHANG, H.; ALLEN, R. D. Overexpression of an Arabidopsis peroxisomal ascorbate peroxidase gene in tobacco increases protection against oxidative stress. **Plant and Cell Physiology**, v. 40, n. 7, p. 725–732, 1999.
- WILSON, A. J.; PETRACCO, M.; ILLY, E. Some preliminary investigations of oil biosynthesis in the coffee fruit and its subsequent re-distribution within green and roasted beans. In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFE, **Anais**. ASIC ASSOCIATION SCIENTIFIQUE INTERNATIONALE, 1997.