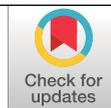


EFECTO DEL ALMACENAMIENTO EN LA VIABILIDAD, GERMINACIÓN Y VIGOR DE SEMILLAS DE *Coffea arabica* L.

Natalia Catalina Flechas Bejarano *, Rubén Darío Medina Rivera **

Flechas-Bejarano, N., & Medina-Rivera, R. (2021). Efecto del almacenamiento en la viabilidad, germinación y vigor de semillas de *Coffea arabica* L. *Revista Cenicafé*, 72(2), e72206. <https://doi.org/10.38141/10778/72206>



El almacenamiento de semillas de café bajo condiciones idóneas de temperatura y humedad relativa mantiene por largos períodos de tiempo la calidad fisiológica para su propagación. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto en la viabilidad de la semilla, de tres ambientes con temperatura y humedad relativa contrastantes, durante 14 meses de almacenamiento, mediante: la prueba topográfica con tetracloruro de tetrazolio; la germinación por la emergencia de la radícula en cajas plásticas y por conteo de plántulas en germinador de arena; y el vigor por mediciones morfométricas en plántulas de *Coffea arabica* L. var Castillo[®]. Para la viabilidad de la semilla, las categorías de tinción absoluta (A) y sin tinción (E) fueron diferentes, independientemente de los ambientes y del efecto de almacenamiento. La emergencia de la radícula y la germinación señalaron que la condición ambiental $10 \pm 2^\circ\text{C}$; $65 \pm 7\%$ HR favorece una mayor proliferación de semillas con radículas emergentes y plántulas ($>75\%$) en los 400 y 320 días, respectivamente. En cuanto a la medición de las variables morfométricas, sólo la longitud del hipocótilo y de la raíz pivotante mostraron una tendencia descriptiva por tratamiento y mes de almacenamiento. La condición ambiental $10 \pm 2^\circ\text{C}$; $65 \pm 7\%$ HR conservó la calidad fisiológica de las semillas para propagación durante cuatro meses.

Palabras clave: Tetrazolio, incubación, humedad relativa, temperatura, plántulas, almacenamiento, semilla, café.

EFFECT OF STORAGE ON THE VIABILITY, GERMINATION AND VIGOR OF SEEDS OF *Coffea arabica* L.

Storing coffee seeds under ideal conditions of temperature and relative humidity maintains the physiological quality for their propagation over extended periods of time. The objective of this research was to evaluate the effect of three environments with contrasting temperature and relative humidity on the viability of the seed, during 14 storage months, by means of: the topographic test with tetrazolium chloride; germination by the emergence of the radicle in plastic boxes and by counting the seedlings in a sand germinator; and vigor by morphometric measurements in seedlings of *Coffea arabica* L. var Castillo[®]. For the viability of the seed, the categories of absolute staining (A) and no staining (E) were different regardless of the environments and the storage effect. The emergence of the radicle and germination indicated that the environmental condition $10 \pm 2^\circ\text{C}$; $65 \pm 7\%$ RH favors greater proliferation of seeds with emerging radicles and seedlings ($>75\%$) in the 400 and 320 days, respectively. Regarding the measurement of the morphometric variables, only the length of the hypocotyl and the taproot showed a descriptive trend by treatment and storage month. The environmental condition $10 \pm 2^\circ\text{C}$; $65 \pm 7\%$ RH preserved the physiological quality of the seeds for propagation for four months.

Keywords: Tetrazolium, incubation, relative humidity, temperature, seedlings, storage, seed, coffee.

* Asistente de Investigación. Disciplina de Fisiología Vegetal, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. <https://orcid.org/0000-0002-3080-4988>

** Investigador Científico II. Disciplina de Biometría, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. <https://orcid.org/0000-0002-9753-9613>



El almacenamiento de las semillas ha sido una tecnología fundamental dentro de la producción de material de propagación, que ha demandado del conocimiento de la fisiología celular involucrada en la integridad de membranas y en la retención de la viabilidad de la semilla en interacción con la temperatura y la humedad relativa.

Las semillas de cultivos de interés agronómico, como los cereales y las legumbres, poseen una alta tolerancia a la desecación, pues mantienen la estructura celular intacta, aun cuando contienen menos de 0,1 g H₂O por gramo de peso seco (p.s.), siendo clasificadas como ortodoxas. Se ha distinguido otro grupo de semillas altamente sensibles a la deshidratación, cuyo margen de seguridad hídrica es superior a 0,25 g H₂O por gramo de peso seco, denominadas recalcitrantes, y en su mayoría provienen de especies vegetales forestales, que constantemente tienen recurso hídrico a su disposición (Marques et al., 2018). Una tercera categoría definida como intermedia, a la cual pertenecen las semillas del género *Coffea*, siendo *Coffea arabica* L. el modelo biológico (Dussert et al., 2018; Ellis et al., 1990). Estas semillas se caracterizan por tener un rango de tolerancia a la deshidratación entre 0,1-0,3 g H₂O por gramo de peso seco, lo cual se ha explicado a través de la formación de cristales de sacarosa que incrementan la viscosidad citoplasmática por la unión con glicoproteínas, manteniendo la fluidez de las membranas celulares, en ese margen de deshidratación, con la menor afectación fisiológica posible (Walters, 2015).

Se ha encontrado que las semillas de *C. arabica* de diferentes variedades son diversas en cuanto al margen de tolerancia a la deshidratación, como lo evidenciaron Huang et al. (2014), donde la variedad Blue Mountain fue la más tolerante a la desecación y al almacenamiento, en contraste con Catimor

y Jamaica, pues un contenido de humedad de 11,0%-12,0% a 15°C fue favorable para almacenar durante 18 meses las semillas de la variedad Blue Mountain.

Se han realizado más estudios que dan evidencia de la respuesta característica de la germinación de *C. arabica* donde su naturaleza intermedia radica exclusivamente en el endospermo, pues los sistemas antioxidantes de reparación, la transcripción genética parcial de las proteínas de la embriogénesis tardía (LEA), la síntesis y la regulación del ácido abscísico (ABA), la regulación hormonal de las giberelinas, etileno, brasinosteroides, en sinergia con las trigonelinas, entre otros, son consecuencia del control del endospermo, el principal responsable de la modulación metabólica, de la adquisición de la tolerancia a la desecación y la integridad de los procesos bioquímicos de germinación y desarrollo de las plántulas de café (Dussert Stéphane et al., 2006; Eira et al., 2006; Shimizu and Mazzafera, 2008; Joët et al., 2009; Farias et al., 2015; Dussert et al., 2018).

En cuanto a la emergencia de las plántulas, se ha encontrado que es dependiente de la interacción del embrión y del endospermo, en la ruptura de la dormancia (Steinbrecher & Leubner-Metzger, 2017), en respuesta a condiciones ambientales óptimas para la germinación, el cual es un proceso fisiológico crítico que está regulado hormonalmente por moléculas primarias y antagonistas entre sí, como el ácido abscísico (ABA) y las giberelinas (GA), además de una intrincada red hormonal secundaria, en la que se destaca la acción de las auxinas en la retención de la dormancia bajo condiciones desfavorables (Shu et al., 2016) y de las moléculas involucradas en las respuestas por estrés oxidativo que favorecen la tolerancia ante condiciones perjudiciales, modulando las interacciones bioquímicas en la emergencia (Wojtyla et al., 2016).

El vigor de la plántula se define como la culminación morfológica y fisiológica del proceso germinativo y, así mismo, es la caracterización de la calidad de la semilla y describe la velocidad, la uniformidad de la germinación y el establecimiento de plántulas fuertes en ambientes específicos (Mahender et al., 2015). El vigor de la plántula es susceptible a las condiciones ambientales a lo largo del tiempo de almacenamiento de las semillas, que en algunos casos puede incrementar la longitud del epicótilo y la longitud de la raíz pivotante por un tiempo determinado por la especie vegetal (Beedi et al., 2018), o en su defecto, como sucede en trigo, las condiciones de almacenamiento prolongados disminuyen significativamente el vigor de las plántulas, dependiendo de las técnicas de almacenamiento (Cheyed, 2019).

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de tres condiciones ambientales contrastantes en la viabilidad de los embriones, germinación y vigor, a través de la medición de variables morfométricas de las plántulas de las semillas de *C. arabica* variedad Castillo[®], teniendo en cuenta la necesidad de estimar la relación entre estas variables con el tiempo y condición de almacenamiento, para describir el potencial fisiológico y la toma de decisiones sobre el manejo de las semillas para propagación a corto y mediano plazo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Se utilizaron 43 kg de semilla de *C. arabica* variedad Castillo[®], recién beneficiada con un contenido de humedad de 11%-12%, en presentación de bolsas de 1,0 kg (~4.200 semillas) en empaque de papel.

Tratamientos. En la sede Cenicafé - Planalto se desarrolló el experimento en tres ambientes de almacenamiento, en los cuales se controló la temperatura y la humedad relativa durante

un período de 14 meses. Los tratamientos de almacenamiento fueron el TTO1 [$7,5\pm 1,2^{\circ}\text{C}$; $90\pm 3,5\%$ Humedad relativa (HR)], el TTO2 [$10\pm 2^{\circ}\text{C}$; $65\pm 7\%$ HR] y el TTO3 [$25\pm 0,9^{\circ}\text{C}$; $55\pm 1\%$ HR]. La temperatura y humedad relativa fueron controlados con un termohigrógrafo de precisión, de cabello natural marca Lambrecht ($-20/+60^{\circ}\text{C}$ - $0/100\%$ HR), durante el tiempo que duró el experimento. La unidad experimental estuvo conformada por 1,0 kg de semilla.

Metodología. Por cada mes y tratamiento de almacenamiento se seleccionó aleatoriamente 1,0 kg de semilla el cual, a través del método del cuadrante, se distribuyó la totalidad de las semillas en una forma circular, teniendo cuidado de formar una monocapa, el círculo resultante fue dividido en cuatro partes iguales. De cada cuadrante se obtuvo un peso de 250 g, equivalente a 1.000 semillas, aproximadamente, para realizar los ensayos de viabilidad de los embriones, conteo de la emergencia de la radícula, y germinación en arena. Para la medición del vigor a través de las variables morfométricas, se seleccionaron aleatoriamente 200 plántulas de las 1.000 semillas sembradas en germinador de arena.

Viabilidad de la semilla. La prueba de viabilidad se realizó teniendo en cuenta la metodología descrita en la normatividad internacional ISTA (2005), que consiste en identificar o clasificar el estado de un embrión de semilla de café, de acuerdo con su tinción. Se preparó una solución de tetracloruro de tetrazolio (TZ) al 0,5% en búfer de fosfato de potasio ajustado a un pH de 6,5. Se trillaron manualmente 1.000 semillas, que fueron embebidas en agua destilada durante 48 horas (Clemente et al., 2012); posteriormente, se realizó la extracción de los embriones, los cuales fueron sumergidos en la solución TZ y se incubaron por cuatro horas a 40°C . Finalmente, se realizó el conteo y la discriminación de

los patrones de pigmentación conforme a lo expuesto en la Figura 1.

Germinación. De acuerdo con el protocolo de evaluación de la germinación de semillas de Cenicafé, se trillaron manualmente 1.000 semillas, consecutivamente fueron sometidas a una desinfección con hipoclorito de sodio al 2,5% durante una hora, y posteriormente, se lavaron con abundante agua destilada. Las 1.000 semillas se sembraron en diez cajas de plástico, cuyo sustrato fue papel de germinación, y se incubaron en oscuridad a una temperatura de 25,5°C durante 30 días, con revisión periódica cada dos días. Al finalizar el período de incubación, se realizó el conteo de las semillas que mostraron una radícula de 2,0 mm, encorvada y rosada.

Emergencia de plántulas. Se sembraron 1.000 semillas en un germinador de arena, dispuestos dentro de un cuarto climatizado de la Disciplina de Fisiología Vegetal, con el manejo agronómico determinado por Cenicafé, en el Avance Técnico No. 368 (referencia bibliográfica). Las condiciones ambientales de 400 $\mu\text{mol m}^{-1}$ de fotones, fotoperíodo de 14 horas luz/ 10 horas de oscuridad, temperatura de 30/20°C y humedad relativa de 85% fueron constantes durante el desarrollo del experimento. El tiempo de incubación de las semillas fue de 120 días, al finalizar este período se hizo el conteo de las plántulas emergentes.

Vigor de la plántula. Con base en lo realizado por da Rosa et al. (2011) y Nasiro (2017), se seleccionaron 200 plántulas, se les midió el



Figura 1. Discriminación de patrones de pigmentación en embriones de café teñidos con la solución TZ al 0,5%. a. Tinción completa e intensa de la totalidad del embrión; b. Embriones de color rosado y/o decoloraciones en el contorno de los cotiledones o radícula; c. Despigmentación marcada en los cotiledones, radícula o ambos sin perder la conectividad en todo el embrión; d. Parches de despigmentación que superan el 50% del área total del embrión, o en su defecto, desconecta los cotiledones de la radícula; e. Embrión sin teñir.

área de las hojas cotiledonales, a través de la captura de imágenes y posterior procesamiento usando el software ImageJ®. La longitud del hipocótilo y de la raíz pivotante se midió con una regla de $\pm 0,1$ cm de incertidumbre. El diámetro de la base del hipocótilo se midió con un calibrador pie de rey de $\pm 0,05$ mm de incertidumbre, y el contenido de biomasa se determinó a través de la medición del peso seco de la plántula con una balanza analítica AB204S Mettler posterior a un período de secado en estufa a 65°C , durante 10 días.

Análisis estadístico de resultados. Se realizó un análisis de correspondencias múltiples de las categorías de tinción obtenidas de los embriones, en relación con los tratamientos y meses de almacenamiento de los resultados obtenidos en la prueba de viabilidad. En la emergencia de la radícula y germinación de las plántulas se realizó un análisis de supervivencia con censura tipo II a través del ajuste de las curvas por el método Kaplan-Meier. Para la evaluación del efecto de los tratamientos en la respuesta de las semillas almacenadas durante 14 meses, se realizó un análisis Log-Rank con una significancia del 5%. De cada una de las variables morfométricas, se realizaron intervalos de confianza de los valores obtenidos con la prueba *t* al 5%, para aquellos intervalos que no se cruzaron con el referente (el testigo) se valoró su incremento y/o disminución descriptivamente. El análisis de la información se realizó a través de la plataforma de programación R Core Team®.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Viabilidad de la semilla. En cuanto a las categorías de tinción de los embriones observadas en la Figura 1, sólo los patrones A y E manifestaron una asociación con el tiempo y tratamientos de almacenamiento, reuniendo un 70% de la variación ($\chi^2=28.146$, $gI=168$, $p=2,2 \times 10^{-16}$). En la Figura 2 se observa

la tendencia de los conteos a lo largo del tiempo en cada uno de los tratamientos, en contraste con los embriones de las semillas recién beneficiadas.

Con base en los resultados, se encontró que los criterios de tinción más informativos fueron las categorías A y E, mientras que las categorías B, C y D no aportaron información, indicando explícitamente que la categorización puede estar subestimando el grado de actividad metabólico de los embriones, ya que la actividad respiratoria de la enzima deshidrogenasa que en solución con TZ otorga una coloración roja carmesí, mostrando a través de una reacción colorimétrica la respiración del embrión y, por ende, su viabilidad. Sin embargo, no es el único componente involucrado en la activación metabólica, pues se desconoce el efecto de la estabilidad de la membrana celular que es fundamental para la comunicación hormonal y señalización molecular, y no es evaluada a través de esta prueba (Busso et al., 2015). Además, se ha encontrado en *C. arabica* que en los embriones con baja calidad fisiológica (germinación $<70\%$), las pruebas de tinción con la sal TZ no coinciden con la germinación de las semillas, de manera que la evaluación del desempeño fisiológico no puede restringirse sólo a la prueba de tetrazolio (Fantazzini et al., 2020).

En café, el material de reserva es el mayor factor que incide en el deterioro del embrión a lo largo del tiempo, evidenciado a través de las pruebas de tinción con la sal TZ, como lo reportaron Guimarães et al. (2020), dado que se encontró que entre todos los componentes del tejido de reserva como proteínas, carbohidratos y lípidos, principalmente el ácido linoleico es el responsable de la disminución de la calidad fisiológica de las semillas durante el almacenamiento, pues su peroxidación progresiva en el endospermo, desencadenó una reacción que impulsó la degradación

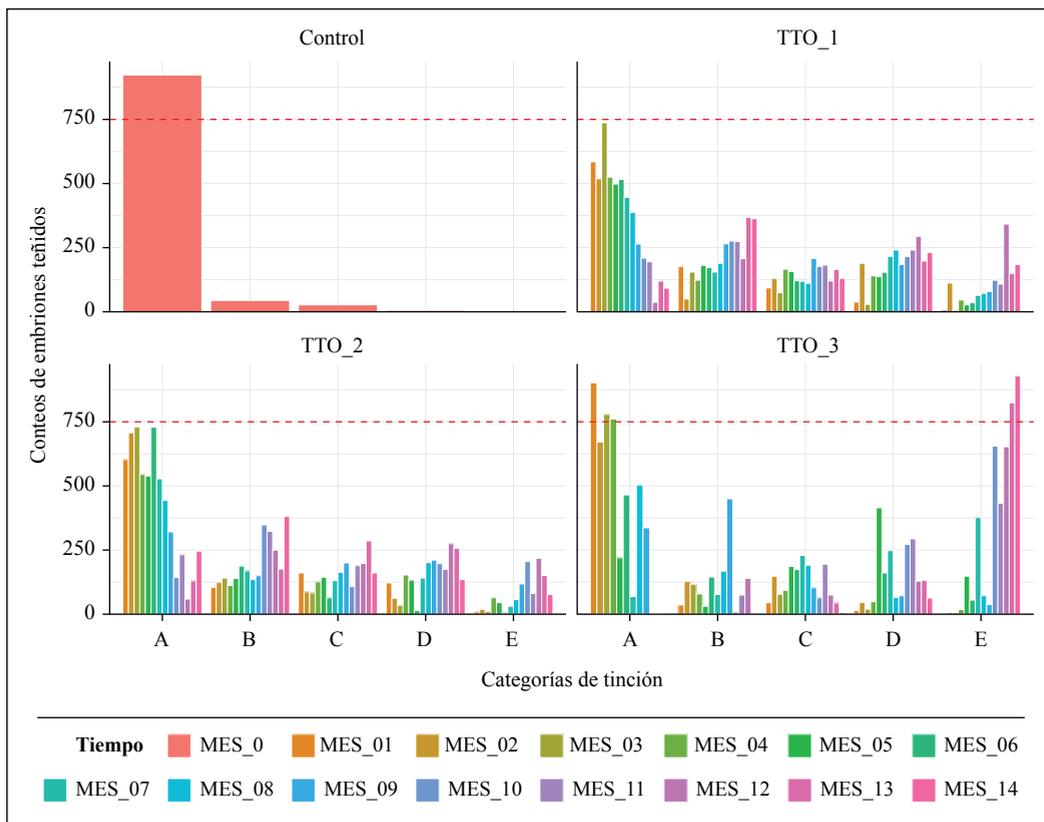


Figura 2. Frecuencia de conteos de las diferentes categorías de tinción en solución de TZ al 0,5% en los diferentes meses de almacenamiento y tratamientos, en contraste con los embriones de semillas recién beneficiadas. La línea roja horizontal indica el 75% de los conteos en general.

de los lípidos contenidos en los embriones, evidenciado a través del bajo conteo de embriones viables.

Germinación. Hay evidencia estadística que señaló diferencias significativas entre cada uno de los tratamientos de almacenamiento, estimados a través de la prueba Log-rank en las curvas de supervivencia obtenidas por el método Kaplan-Meier ($\chi^2=120$, $gl=2$, $p=2 \times 10^{-16}$), cuya tendencia se observa en la Figura 3. El tiempo medio estimado de dormancia en semillas para el TTO1 fue $311 \pm 8,81$ días, en el TTO2 de $402 \pm 5,27$ días y del TTO3 fue $243 \pm 9,78$ días.

El almacenamiento prolongado de las semillas indujo un deterioro en la capacidad germinativa para todos los tratamientos en diferente magnitud (Figura 3). De forma similar, da Rosa et al. (2011), reportan que en semillas de *C. arabica* var. Rubi con un contenido de humedad del 12%, almacenadas por nueve meses, en temperaturas de 10°C , mantuvieron un porcentaje de germinación del 80%, en contraste con semillas almacenadas a 20°C , cuyo porcentaje de germinación fue del 75%, señalando que las bajas temperaturas favorecen la emergencia radicular, mientras que las temperaturas elevadas tienen efectos nocivos en las semillas, favoreciendo un retraso en la

germinación como se observó en el TTO3, donde hubo mayor inhibición de emergencia radicular en contraste con los TTO1 y TTO2, durante el tiempo de almacenamiento.

La emergencia radicular es posible gracias a la acción de la enzima β -endo-mananasa, siendo los mananos y galactomananos de la pared celular los sustratos principales, cuya actividad es favorecida por la hidrólisis que tiene lugar en el endospermo (Ferreira et al., 2018), no obstante, se ha encontrado un incremento de la concentración de la enzima en semillas deterioradas (Freitas et al., 2017), sugiriendo que la calidad fisiológica de la germinación de las semillas de café es dependiente de la movilidad del agua a través del endospermo, pues el deterioro inhibe la actividad embrionaria durante la germinación, lo cual se ve reflejado en un bajo porcentaje de emergencia radicular a lo largo del tiempo en los tres tratamientos, y la coloración azul verdosa en almendras, al sumergirlas en solución de hipoclorito después del período de lavado.

Emergencia de las plántulas. Se encontró evidencia estadística de diferencias significativas entre los tres tratamientos de almacenamientos evaluados ($\chi^2=1930$, $gl=2$, $p=2 \times 10^{-16}$) como puede observarse en la Figura 4. El tiempo medio de dormancia calculado para el TTO1 fue de $409,24 \pm 0,97$ días, TTO2: $426,46 \pm 1,1$ días y TTO3: $374,57 \pm 0,95$ días.

Las curvas de supervivencia reportaron que las semillas almacenadas en los TTO1 y TTO2 mantuvieron su probabilidad de emergencia mayor al 75% durante los primeros seis meses, mientras que el TTO3 sólo por cuatro meses, lo cual ha sido observado en otras variedades de *C. arabica* como el cultivar 74110 de Etiopía, donde las temperaturas mayores de 15°C favorecieron el deterioro de las semillas en su almacenamiento, inhibiendo a futuro la

emergencia de plántulas vigorosas (Nasiro et al., 2017).

Vigor de la plántula. El TTO2 mostró un incremento en la longitud del hipocótilo durante los primeros ocho meses de almacenamiento, este mismo comportamiento se obtuvo en las plántulas emergentes del TTO1, en donde la disminución se observó en el séptimo mes. En el TTO3 hubo un incremento durante los primeros cuatro meses de almacenamiento, y a partir del quinto mes hubo una disminución sostenida en el tiempo hasta el décimo mes.

La longitud de la raíz fue variable para los TTO1 y TTO3, encontrándose fluctuaciones entre los meses de evaluación; en el caso del TTO2 se encontró un incremento constante de la longitud de la raíz durante los primeros ocho meses, a partir del noveno mes, los valores fueron indeterminados hasta el final de las evaluaciones.

Los valores obtenidos de diámetro del hipocótilo, contenido de materia seca y área cotiledonar oscilaron a lo largo del experimento, sin indicar una tendencia definida en el tiempo.

Pocos son los estudios que se han realizado en *C. arabica* en los que se evalúe el efecto de diferentes tratamientos de almacenamiento de las semillas en relación con variables morfométricas. Sin embargo, el estudio realizado en *C. arabica* por Nasiro (2017), describe una tendencia de disminución proporcional de las dimensiones de la longitud del hipocótilo, diámetro del hipocótilo, longitud de la raíz pivotante, área foliar y del contenido de materia seca durante los primeros seis meses de almacenamiento, independientemente de los tratamientos de temperatura (15 y 25°C). En otro estudio realizado en *C. arabica* variedad Rubi, se encontró que el área foliar,

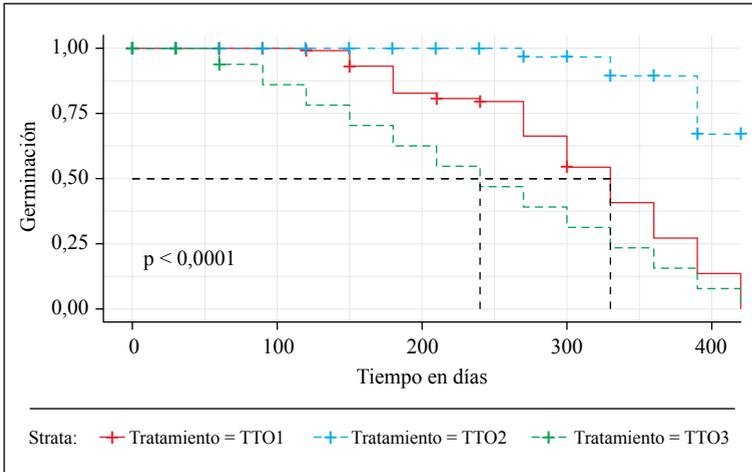


Figura 3. Curvas de supervivencia estimadas para la germinación de las “almendras” de *C. arabica* var. Castillo® en los 15 meses de evaluación. Strata señala los tratamientos de evaluación como corresponde: TTO1 color rojo, TTO2 color azul y TTO3 color verde.

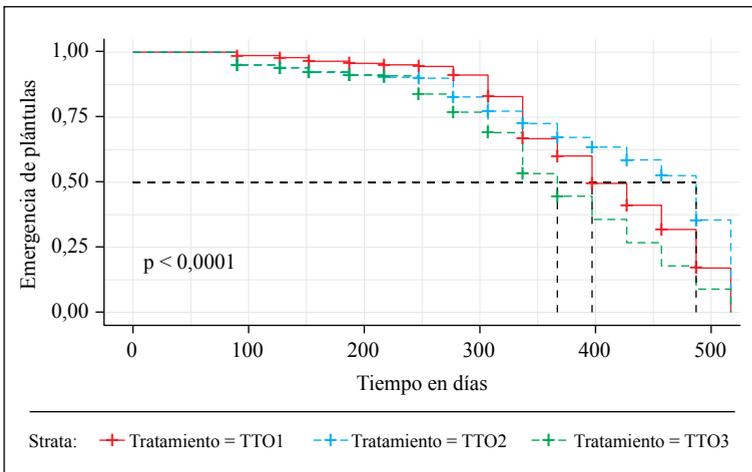


Figura 4. Curvas de supervivencia estimadas para la emergencia de las plántulas de *C. arabica* var. Castillo® en los 15 meses de evaluación. Strata señala los tratamientos de evaluación como corresponde: TTO1 color rojo, TTO2 color azul y TTO3 color verde.

la longitud del hipocótilo, el diámetro del hipocótilo y el contenido de materia seca, no presentaron variación significativa a pesar de las temperaturas evaluadas, 10°C y 20°C (da Rosa et al., 2011). Otros estudios realizados en *C. arabica* se limitan a la detección de la radícula y sus dimensiones como indicadores tempranos de vigor, dado el período de tiempo prolongado para obtener una plántula completa (Trujillo et al., 2019),

sin embargo, no discriminan entre estados fenológicos tempranos y posibles plántulas germinadas, sobrestimando la proporción de semillas vigorosas. Hasta la fecha es limitada y diversa en respuestas, la información sobre el efecto de las condiciones de almacenamiento en algunos parámetros morfométricos, limitando la comprensión de estos fenómenos y sus implicaciones en el desarrollo de plantas de café a futuro.

Tabla 1. Diagrama de medianas y desviaciones estándar (\pm DE) de los parámetros morfométricos medidos en las plántulas (longitud del hipocótilo, diámetro del hipocótilo, longitud de la raíz, peso seco de la plántula [PS. Plántula] y área de los cotiledones). En color amarillo se encuentran los valores derivados de las plántulas obtenidas de semillas recién beneficiadas (control), en contraste con las plántulas emergentes de los tratamientos de almacenamiento en los 14 meses posteriores de evaluación. En color verde se resaltan los valores en los que hubo un incremento y en rojo se resaltan los valores en los que hubo disminución, en contraste con los valores control de acuerdo con la prueba t al 5% de intervalos de confianza. No se resaltan los valores iguales a los iniciales. SG indica “sin germinación”. N=4,200.

Parámetros	Ttos	Mes_0	Mes_1	Mes_2	Mes_3	Mes_4	Mes_5	Mes_6	Mes_7	Mes_8	Mes_9	Mes_10	Mes_11	Mes_12	Mes_13	Mes_14	
Longitud del hipocótilo (cm)	TTO1	5,80	8,00	8,00	7,00	8,00	8,00	7,50	6,50	6,50	4,50	5,50	4,50	5,50	5,20	SG	
	\pm DE	0,67	1,24	1,09	1,00	1,24	1,16	1,48	0,93	0,93	0,57	0,75	0,63	0,63	1,51	0,54	SG
Longitud de la raíz (cm)	TTO2	5,80	7,50	7,50	7,00	6,50	8,00	7,50	6,25	8,00	5,50	5,50	5,50	5,50	5,50	5,84	SG
	\pm DE	0,67	1,04	1,13	1,08	0,90	1,49	1,07	1,14	1,18	0,98	0,67	1,07	1,07	1,64	0,68	SG
Diámetro del hipocótilo (mm)	TTO3	5,80	7,00	8,50	6,00	7,00	5,50	5,00	4,50	5,50	4,00	3,50	SG	SG	SG	SG	SG
	\pm DE	0,98	0,98	1,22	0,94	0,90	0,79	1,20	0,87	0,93	0,76	0,80	SG	SG	SG	SG	SG
Longitud de la raíz (mm)	TTO1	0,18	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,17	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,21	SG
	\pm DE	0,03	1,12	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,01	SG
Longitud de la raíz (mm)	TTO2	0,18	0,17	0,17	0,16	0,16	0,17	0,17	0,17	0,17	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,19	SG
	\pm DE	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,03	0,02	0,03	0,02	SG
Longitud de la raíz (mm)	TTO3	0,18	0,18	0,18	0,16	0,16	0,17	0,16	0,16	0,17	0,18	0,18	0,16	SG	SG	SG	SG
	\pm DE	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	0,02	0,02	0,03	0,05	0,04	SG	SG	SG	SG
Longitud de la raíz (cm)	TTO1	9,50	11,50	9,80	11,50	9,00	8,00	9,30	9,30	9,30	9,00	7,00	9,00	9,00	7,00	9,50	SG
	\pm DE	1,99	2,67	2,33	2,69	1,96	1,91	2,16	2,04	1,99	1,50	1,71	2,17	2,17	2,25	1,84	SG
Longitud de la raíz (mm)	TTO2	9,50	11,50	11,00	12,50	12,00	11,00	12,00	10,50	10,50	9,00	8,00	10,00	10,00	8,00	9,45	SG
	\pm DE	1,99	2,45	2,36	2,56	2,45	2,31	2,33	2,33	1,98	2,36	2,03	2,35	2,35	2,15	1,93	SG
Longitud de la raíz (mm)	TTO3	9,50	11,25	7,25	13,00	8,50	10,00	8,00	8,50	10,00	9,00	9,00	9,00	SG	SG	SG	SG
	\pm DE	1,99	2,59	2,23	2,03	2,03	2,28	1,92	2,28	2,34	1,80	1,57	SG	SG	SG	SG	SG

Continúa...

...continuación.

Parámetros	Ttos	Mes_0	Mes_1	Mes_2	Mes_3	Mes_4	Mes_5	Mes_6	Mes_7	Mes_8	Mes_9	Mes_10	Mes_11	Mes_12	Mes_13	Mes_14
TTO1		0,13	0,09	0,11	0,10	0,09	0,09	0,10	0,12	0,12	0,09	0,11	0,10	0,12	0,18	SG
	±DE	0,03	0,02	0,02	0,03	0,02	0,03	0,03	0,04	0,06	0,02	0,09	0,09	0,05	0,20	SG
TTO2		0,13	0,10	0,10	0,11	0,10	0,09	0,10	0,11	0,09	0,10	0,11	0,12	0,10	0,11	SG
	±DE	0,03	0,03	0,02	0,03	0,02	0,03	0,02	0,03	0,05	0,02	0,04	0,10	0,04	0,08	SG
TTO3		0,13	0,10	0,09	0,10	0,08	0,10	0,09	0,09	0,17	0,14	0,15	SG	SG	SG	SG
	±DE	0,03	0,02	0,02	0,06	0,03	0,03	0,02	0,07	0,06	0,04	0,07	SG	SG	SG	SG
TTO1		895,01	951,80	952,50	893,40	779,79	861,61	811,53	997,23	794,36	744,79	894,53	829,01	1734,27	2458,57	SG
	±DE	123,15	156,09	171,74	134,30	141,80	153,21	146,66	165,79	157,39	142,00	175,82	190,30	372,44	601,20	SG
TTO2		895,01	944,60	912,98	846,35	797,37	722,33	786,75	759,43	763,21	847,91	897,18	871,27	1255,24	2188,94	SG
	±DE	123,15	145,71	165,40	141,46	133,49	131,90	115,40	188,11	122,22	148,37	195,55	132,69	323,00	459,41	SG
TTO3		895,01	896,67	880,69	853,93	820,11	861,00	670,81	758,28	947,90	888,05	987,20	SG	SG	SG	SG
	±DE	123,15	204,06	118,82	139,19	161,46	173,10	114,40	118,60	159,27	33,22	177,07	SG	SG	SG	SG

Puede concluirse que:

- Los criterios de pigmentación derivados de la tinción con el cloruro de tetrazolio al 0,5%, que aportaron más información de la viabilidad de las semillas, fueron la categoría A Tinción completa e intensa de la totalidad del embrión y la categoría E Embrión sin teñir.
- El TTO2 (10±2°C; 65±7% HR) fue el ambiente que presentó mayores valores de emergencia radicular y germinación de las plántulas, durante el tiempo de evaluación.
- La emergencia de las plántulas se mantuvo sobre el 75% de germinación en el TTO1

7,5±1,2°C; 90±3,5% HR] y TTO2 [10±2°C; 65±7% HR] hasta el cuarto mes de almacenamiento.

AGRADECIMIENTOS

A la Disciplina de Experimentación, en especial a Carlos Gonzalo Mejía, por su colaboración y aportes en la logística de la ejecución del experimento. A los integrantes de la Disciplina de Fisiología, por la colaboración en la ejecución de todas las evaluaciones involucradas, y en especial al doctor Ricardo Acuña por su atento acompañamiento en el desarrollo de esta investigación.

LITERATURA CITADA

- Beedi, S., Macha, S. I., Gowda, B., Savitha, A. S., & Kurnallikar, V. (2018). Effect of seed priming on germination percentage, shoot length, root length, seedling vigour index, moisture content and electrical conductivity in storage of kabuli chickpea cv., MNK-1 (*Cicer arietinum* L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(1), 2005-2010.
- Busso, C., Torres, Y., Ithurrart, L., & Richards, J. H. (2015). The TTC-technique might not appropriately test the physiological stage of plant tissues. *Russian Journal of Plant Physiology*, 62(4), 551–556. <https://doi.org/10.1134/S1021443715040068>
- Castro, A. M., Rivillas, C. A., Serna-Giraldo, C., & Mejía, C. G. (2008). Germinadores de café: construcción, manejo de *Rhizoctonia solani* y costos. *Avances Técnicos Cenicafé*, 368, 1–12. <http://hdl.handle.net/10778/4176>
- Cheyed, S. H. (2019). Field emergence and seedling vigour of bread wheat as influenced by method and longevity of storage. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*, 50(6), 1495–1500 <https://doi.org/10.36103/ijas.v50i6.837>
- da Rosa, S. D. V. F., Carvalho, A. M., McDonald, M. B., von Pinho, E. R. V., Silva, A., P., & Veiga, A. D. (2011). The effect of storage conditions on coffee seed and seedling quality. *Seed Science and Technology*, 39(1), 151–164. <https://doi.org/10.15258/sst.2011.39.1.13>
- Dussert, S., Serret, J., Bastos-Siqueira, A., Morcillo, F., Déchamp, E., Rofidal, V., Lashermes, P., Etienne, H., & JOët, T. (2018). Integrative analysis of the late maturation programme and desiccation tolerance mechanisms in intermediate coffee seeds. *Journal of Experimental Botany*, 69(7), 1583–1597. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx492>
- Dussert, S., Davey, M. W., Laffargue, A., Doubeau, S., Swennen, R., & Etienne, H. (2006). Oxidative stress, phospholipid loss and lipid hydrolysis during drying and storage of intermediate seeds. *Physiologia Plantarum*, 127(2), 192–204. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00666.x>
- Eira, M. T. S., da Silva, E. A., de Castro, R. D., Dussert, S., Walters, C., Bewley, D., & Hilhorst, H. W. M. (2006). Coffee seed physiology. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1), 149–163. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202006000100011>
- Ellis, R. H., Hong, T. D., & Roberts, E. H. (1990). An Intermediate Category of Seed Storage Behaviour?. *Journal of Experimental Botany*, 41(9), 1167–1174. <https://doi.org/10.1093/jxb/41.9.1167>
- Fantazzini, T. B., Franco da Rosa, S. D. V., Carvalho, G. R., Liska, G. R., de Carvalho, M. L. M., Coelho, S. V. B., Cirillo, M. Á., & Ribeiro, F. A. S. (2020). Correlation between historical data of the germination test and of the tetrazolium test in coffee seeds by GAMLSS. *Seed Science and Technology*, 48(2), 179–188. <https://doi.org/10.15258/sst.2020.48.2.05>
- Farias, E. T., da Silva, E. A. A., Toorop, P. E., Bewley, J. D., & Hilhorst, H. W. M. (2015). Expression studies in the

- embryo and in the micropylar endosperm of germinating coffee (*Coffea arabica* cv. Rubi) seeds. *Plant Growth Regulation*, 75(2), 575–581. <https://doi.org/10.1007/s10725-014-9960-6>
- Ferreira, V. F., Ricaldoni, M. A., Rosa, S. D. V. F. da, Figueiredo, M. A. de, Coelho, S. V. B., & Fantazzini, T. B. (2018). Endo- β -mannanase enzyme activity in the structures of *Coffea arabica* L. seeds under different types of processing and drying. *Ciência Rural*, 48(12). e20170839. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20170839>
- Freitas, M. N., Rosa, S. D., Clemente, A. C. S., & Pereira, C. C. (2017). Relevance of endo- β -mannanase enzyme in coffee seed deterioration process. *African Journal of Agricultural Research*, 12(15), 1253–1258. <https://doi.org/10.5897/AJAR2016.10949>
- Guimarães, C. C., Franco da Rosa, S. D. V., de Carvalho, M. H., Malta, M. R., & Evangelista Oliveira, R. M. (2020). Total lipid and fatty acid profiles of *Coffea arabica* endosperm and embryo tissues and their relationship to seed desiccation sensitivity. *Seed Science and Technology*, 48(2), 209–219. <https://doi.org/10.15258/sst.2020.48.2.08>
- Huang, Y., Lan, Q. Y., Hua, Y., Luo, Y. L., & Wang, X. F. (2014). Desiccation and storage studies on three cultivars of Arabica coffee. *Seed Science and Technology*, 42(1), 60–67. <https://doi.org/10.15258/sst.2014.42.1.06>
- International Seed Testing Association. (2005). *International rules for seed testing 2005*. ISTA.
- Joët, T., Laffargue, A., Salmona, J., Doubeau, S., Descroix, F., Bertrand, B., de Kochko, A., & Dussert, S. (2009). Metabolic pathways in tropical dicotyledonous albuminous seeds: *Coffea arabica* as a case study. *The New Phytologist*, 182(1), 146–162. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02742.x>
- Mahender, A., Anandan, A., & Pradhan, S. K. (2015). Early seedling vigour, an imperative trait for direct-seeded rice: An overview on physio-morphological parameters and molecular markers. *Planta*, 241(5), 1027–1050. <https://doi.org/10.1007/s00425-015-2273-9>
- Marques, A., Buijs, G., Ligterink, W., & Hilhorst, H. (2018). Evolutionary ecophysiology of seed desiccation sensitivity. *Functional Plant Biology*, 45(11), 1083–1095. <https://doi.org/10.1071/FP18022>
- Nasiro, K. (2017). The Interaction Effects of Storage Condition, Storage Time and Initial Seed Moisture Content on Seedling Growth Performances of Coffee (*Coffea arabica* L.). *Food Science and Quality Management*, 70(1), 1–8. <https://www.iiste.org/Journals/index.php/FSQM/article/view/40238>
- Nasiro, K., Shimber, T., & Mohammed, A. (2017). Germination and seedling growth rate of coffee (*Coffea arabica* L.) seeds as influenced by initial seed moisture content, storage time and storage condition. *International Journal of Agriculture and Biosciences*, 6(6), 304–310. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20183083796>
- Rasband, W. (2018). *ImageJ* [Java plugins]. National Institute of Mental Health. <https://imagej.nih.gov/ij/docs/intro.html>
- RStudio Team (2020). *RStudio: Integrated Development for R*. <http://www.rstudio.com/>
- Selmar, D., Bytof, G., & Knopp, S. E. (2008). The Storage of Green Coffee (*Coffea arabica*): Decrease of Viability and Changes of Potential Aroma Precursors. *Annals of Botany*, 101(1), 31–38. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm277>
- Shimizu M. M., & Mazzafera P. (2008). A Role for Trigonelline During Imbibition and Germination of Coffee Seeds. *Plant Biology*, 2(6), 605–611. <https://doi.org/10.1055/s-2000-16645>.
- Shimizu, M. M., & Mazzafera, P. (2000). A Role for Trigonelline During Imbibition and Germination of Coffee Seeds. *Plant Biology*, 2(6), 605–611. <https://doi.org/10.1055/s-2000-16645>
- Shu, K., Liu, X., Xie, Q., & He, Z. (2016). Two Faces of One Seed: Hormonal Regulation of Dormancy and Germination. *Molecular Plant*, 9(1), 34–45. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.08.010>
- Steinbrecher, T., & Leubner-Metzger, G. (2017). The biomechanics of seed germination. *Journal of Experimental Botany*, 68(4), 765–783. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw428>
- Trujillo, H. A., Gomes-Junior, F. G., & Cicero, S. M. (2019). Digital images of seedling for evaluating coffee seed vigor. *Journal of Seed Science*, 41(1), 60–68. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v41n1204651>
- Walters, C. (2015). Orthodoxy, recalcitrance and in-between: Describing variation in seed storage characteristics using threshold responses to water loss. *Planta*, 242(2), 397–406. <https://doi.org/10.1007/s00425-015-2312-6>
- Wojtyła, L., Lechowska, K., Kubala, S., & Garnczarska, M. (2016). Different Modes of Hydrogen Peroxide Action During Seed Germination. *Frontiers in Plant Science*, 7(1), 66. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00066>