

## DETERMINAÇÃO DE INIBIDORES DA GERMINAÇÃO NO ESPERMODERMA DE SEMENTES DE CAFÉ

PEREIRA, C.E.<sup>1</sup>; VON PINHO, É.V.R.<sup>1</sup>; OLIVEIRA, D.F.<sup>1</sup>, KIKUTI, A.L.P.<sup>1</sup>, ROSA, S.D.V.F.

(1- Universidade Federal de Lavras, Caixa Postal 37, CEP: 37200-000, Lavras - MG, <sementes@ufla.br> tel: 35 3829-1334).

**RESUMO:** Sementes de café apresentam germinação lenta, aumentando conseqüentemente o período de formação das mudas. A causa dessa germinação lenta ainda não foi elucidada. Aparentemente, a difusão de gases e água tem papel secundário, comparada ao efeito de inibidores presentes. A presente pesquisa foi desenvolvida no Setor de Sementes do Departamento de Agricultura e no Laboratório de Química da Universidade Federal de Lavras. Em uma pesquisa preliminar, utilizando sementes de alface como indicadora de inibidores e extrato aquoso de espermoderma ("película prateada"), ficou evidenciada a presença de inibidores nesse tecido. Em uma segunda etapa, o extrato aquoso da película prateada foi submetido a um fracionamento, em teste *in vitro*. Observou-se, por meio desse teste, que a fração ativa encontrava-se na fase metanólica, a qual foi concentrada sob vácuo e eluída através de coluna de sílica-gel com metanol, água destilada e HCl 0,1M. Ao ser concentrada sob vácuo, a fração ativa deu origem a um sólido branco, que se mostrou homogêneo, segundo análise por cromatografia em camada fina com placas de sílica-gel. Por meio de análise de espectrometria de infravermelho, de massas e de ressonância magnética nuclear de <sup>1</sup>H e de <sup>13</sup>C, atribuiu-se a esse sólido a estrutura da cafeína. Conclui-se que o espermoderma pode contribuir para a lenta germinação das sementes de café, possivelmente devido à presença de cafeína.

**Palavras-chave:** sementes, café, germinação, inibidores.

## DETERMINATION OF GERMINATION INHIBITORS IN THE SPERMODERM OF COFFEE SEEDS

**ABSTRACT:** Coffee seeds present slow germination, increasing hence the period of formation of seedlings. The cause that slow germination is not elucidated yet. Apparently, the diffusion of gases and water has a secondary role as compared with the effect of inhibitors present. The present research work was developed in the Seed Sector of the department of Agriculture and in the Chemistry department of the Universidade Federal de Lavras. In a previous research by utilizing lettuce seeds as an indicator of

inhibitors and aqueous extract of spermoderm (silvery film), the presence of inhibitors in this tissue was evidenced. In a second step, the aqueous step of the silvery film was submitted to a fractionating, in vitro test. It was observed by means of that test, that the active fraction was in the methanol phase, which was concentrated under vacuum and eluted through gel silica column with methanol, distilled water and 0.1M HCl. In being concentrated under vacuum, the active fraction gave rise to a white solid, which showed itself homogenous according to the thin layer chromatography analysis with gel silica plates. By means of the infrared, mass and  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  nuclear magnetic resonance spectrometry, the caffeine structure was ascribed to such a solid. It follows that spermoderm may contribute to the slow germination of coffee seeds, possibly due to the presence of caffeine

**Key words:** seeds, coffee, germination, inhibitors.

## INTRODUÇÃO

A forma mais utilizada para propagação do cafeeiro é por mudas provenientes de sementes. A semente é plana convexa, elíptica ou oval, sulcada longitudinalmente na face plana, sendo constituída por embrião, endosperma e um envoltório, representado por uma "película prateada", ou espermoderma, constituída por células esclerenquimatosas (Dedecca, 1957, 1958; Huxley, 1965; Zamora e Soto, 1976; citados por Rena e Maestri, 1986). Sementes de cafeeiro apresentam germinação lenta, aumentando consideravelmente o período de formação das mudas, além de apresentarem baixa longevidade. A lenta germinação das sementes de café, aliada à rápida perda do poder germinativo, chega a criar situações em que, quando se obtém o resultado do teste-padrão de germinação, este pode não refletir o verdadeiro estado fisiológico da semente em tempo hábil (Dias e Silva, 1986), além da predisposição destas ao ataque de patógenos, prejudicando seriamente a germinação.

A causa da germinação lenta ainda não foi elucidada. Há evidência de que a presença do endocarpo (pergaminho) na semente exerça influência na sua germinação, por impedir a absorção de água e  $\text{O}_2$  pela semente (Bendanã, 1952; Válio, 1980). No entanto, alguns autores verificaram que fragmentos de pergaminho misturados às sementes inibem a germinação e que a difusão de gases e água é um fator secundário (Velazco e Gutierrez, 1974).

Válio (1976) observou que no solo o pergaminho é rapidamente decomposto pela flora microbiana, ocorrendo a germinação, e que em meio asséptico a presença do pergaminho inibe a germinação. Segundo o mesmo autor, essa inibição não se deve a insuficiência na absorção de água, mas sim a algum mecanismo de resistência imposto pelo pergaminho sobre o desenvolvimento do embrião. A

remoção do pergaminho, aliada ao aumento da temperatura até 30°C, propicia a germinação em períodos menores (Rena e Maestri, 1986). No entanto, aparentemente, a difusão de água e gases tem papel secundário, comparada ao efeito de inibidores presentes.

Conforme Válio (1976), a germinação de semente de cafeeiro está relacionada com baixos teores de substâncias semelhantes ao ácido giberélico. Compostos fenólicos são também possíveis inibidores naturais da germinação de sementes (Vieira, 1991). Sabe-se que a aplicação do ácido giberélico em sementes em desenvolvimento impede a indução da dormência em sementes maduras de algumas espécies (Simpson, 1990).

Uma das funções do GA<sub>3</sub> impedindo a dormência, está relacionada ao metabolismo de carboidratos, como sacarose e maltose (Caims e de Villiers, 1982). A combinação do GA<sub>3</sub> com esses açúcares produz efeito sinérgico, que quebra a dormência rapidamente. Estudos têm mostrado que o amido do endosperma de sementes dormentes não é quebrado pelas hidrolases  $\alpha$  e  $\beta$  amilase na ausência da enzima  $\alpha$  glucosidase (maltase). Esta enzima aumenta com o aumento da concentração de GA<sub>3</sub> (Simpson e Naylar, 1962). O ácido giberélico promove a síntese de RNA e proteínas, ambos no embrião e nos tecidos do endosperma (Keng e Fdey, 1987). Assim, várias pesquisas indicam que o GA estimula a produção de açúcares (hexoses) a partir das reservas de amido e de suas degradações via mecanismos de glicólise, ciclo de Krebs e cadeia de transporte de elétrons. O que não está ainda claro é se os GAs possuem efeitos múltiplos ou se cada GA tem efeito simples na parte central do sistema. A aplicação exógena do GA<sub>3</sub> parece não superar todas as expressões de dormência existentes em diferentes espécies. No entanto, em sementes de algumas espécies de gramíneas, a aplicação exógena do GA<sub>3</sub> pode aumentar a atividade da  $\alpha$  amilase no escutelo e da camada de aleurona. Alguns autores têm mencionado que uma importante função do ácido giberélico na quebra da dormência é modificar o potencial osmótico alcançado por meio da formação de moléculas com baixo peso molecular, como os mono e dissacarídeos, no embrião e em volta do endosperma.

As citocininas apresentam ação contrária àquela dos inibidores, sendo uma substância essencial para complementar a ação do ácido giberélico e induzir a germinação ou os processos enzimáticos, quando estes são bloqueados por inibidores como ABA e/ou cumarina (Fraga, 1982). A aplicação exógena de citocininas parece superar a dormência de sementes de algumas espécies. No entanto, existem diferenças quanto à resposta na superação da dormência em diferentes genótipos (Hurt e Taylorson, 1978).

Sementes dormentes de algumas espécies requerem altas tensões de oxigênio para a germinação, provavelmente devido à presença de inibidores no tegumento, os quais reduzem a absorção de gases, sem,

contudo, afetar a taxa de absorção de água por elas (Toole et al., 1956). Os mesmos autores mencionaram que a substância inibidora da germinação pode ocorrer tanto no tegumento como no embrião. Segundo Reis (1976), o tegumento pode agir tanto como barreira de  $O_2$  quanto como depósitos de inibidores endógenos. Essa barreira à difusão de  $O_2$  pode controlar a germinação, impedindo a oxidação e subsequente destruição dos inibidores (Karssen, 1950).

Alguns autores têm observado que a presença de compostos fenólicos no tegumento controla a entrada de oxigênio no interior da semente, pois estes fixam o  $O_2$  que a semente está absorvendo, impedindo a chegada deste no interior da semente (Edwards, 1973). Para alguns autores, os inibidores de crescimento são substâncias de natureza fenólica, como ácido salicílico, ácido cumárico, ácido clorogênico, cumarina, e aquelas que atuam como reguladoras, retardando os processos de crescimento e desenvolvimento das plantas, como o alongamento de raízes e caules, a germinação de sementes e o brotamento de gemas (Dietrick, 1986).

Existem indicações de que o ABA pode interferir na formação da enzima que estimula a produção do  $GA_3$  em tecidos do endosperma. Existem outros fatores limitantes da germinação das sementes, os quais têm influência na expressão da dormência. Disponibilidade de  $O_2$ , regime de temperatura, composição química, pH e nível da atividade de microrganismos podem influenciar a persistência da dormência, podendo induzir a dormência secundária.

Algumas sementes precisam de exposição a uma temperatura crítica antes da germinação. Essa temperatura não está relacionada com a temperatura ótima para a germinação, mas é requerida para quebra de dormência. Exposição das sementes a baixas temperaturas pode proporcionar aumento do peso seco do embrião e destruição de inibidores, como os glicosídeos cianogênicos. Alguns inibidores também podem ser lixiviados por água corrente (Metivier, 1985). Durante o resfriamento, os níveis endógenos de ácido abscísico (ABA) podem cair e os de ácido giberélico aumentar, promovendo a germinação. Oscilação entre temperaturas diferentes também pode iniciar a germinação; provavelmente este seja um mecanismo para assegurar a germinação próximo à superfície do solo, onde a temperatura é variável.

Na detecção de inibidores da germinação, o bioteste de inibição da germinação de sementes de alface tem sido apontado como um método eficiente (Dietrich, 1986). Sementes de alface têm elevada sensibilidade à ação de agentes químicos, fornecendo a capacidade de resposta ao agente em um tempo relativamente curto. Vários autores têm comprovado a eficiência deste teste na detecção de inibidores da germinação em diferentes espécies: Borges et al. (1987), em sementes de pimenteira; Braga (1986), em sementes de pandaíba (*Xylopiya brasiliensis* Sprengle); e Vieira (1991), em sementes de arroz.

Há relatos na literatura de que a semente do cafeeiro apresenta baixos teores de substâncias promotoras da germinação, como o ácido giberélico, e substâncias inibidoras da germinação. No entanto,

sementes de cafeeiro possuem considerável quantidade de cafeína, e esse alcalóide apresenta efeito alelopático (Chou e Waller, 1980; Shettel e Balke, 1983; Smyth, 1992; Waller et al., 1986; citados por Mazzafera, et al., 1996). Baumann e Gabriel (1984); Friedman e Waller (1983) e Suzuki e Waller (1987), citados por Mazzafera et al., 1996), demonstraram, em estudos realizados em laboratório, que sementes de café liberam cafeína durante a germinação, podendo isso causar auto-inibição da germinação.

No entanto às sementes de cafeeiro, pouco se conhece a respeito da germinação destas. A maioria dos pesquisadores afirma que elas apresentam germinação lenta, sem contudo discutir as causas, havendo conseqüentemente necessidade de pesquisas nessa área.

Assim, a pesquisa teve como objetivo verificar a presença de inibidores da germinação no pergaminho e espermoderma de sementes de cafeeiro, assim como isolar a substância responsável por essa inibição.

## MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida nos Laboratórios de Análise de Sementes e de Química da Universidade Federal de Lavras. No primeiro ensaio foi avaliada a presença de inibidores da germinação no endocarpo e no espermoderma de sementes do cafeeiro, por meio de bioteste de inibição da germinação de sementes de alface.

Após a colheita, os frutos destinados à produção de sementes foram despulpados e, em seguida, as sementes foram colocadas em tanques de fermentação por 48 horas, com uma temperatura média de 14,8°C, para a retirada do mesocarpo, com posterior secagem à sombra, até um grau de umidade de 13%.

Após obtenção das sementes, foram removidos separadamente o endocarpo e o espermoderma de parte dessas sementes. Após a remoção, os endocarpos e espermodermas foram triturados em moinho, para posterior obtenção dos extratos aquosos.

A obtenção dos extratos aquosos foi feita com base no teor de matéria seca do endocarpo e espermoderma. Foram preparadas soluções de concentração em peso volume de 5, 10 e 20% de matéria seca de endocarpo e 20% de espermoderma em água deionizada. Após duas horas, o material foi filtrado em papel-toalha, obtendo-se os extratos.

Para o teste de sensibilidade, foram utilizadas sementes de alface (*Lactuca sativa* L.), conforme Medeiros (1989). Sementes de alface foram semeadas em caixas gerbox, sobre papéis de filtro previamente umedecidos com os respectivos extratos aquosos. A testemunha constou da semeadura de sementes de alface sobre papel umedecido em água. Após a semeadura, as sementes foram colocadas para germinar em aparelho regulado à temperatura constante de 20°C, sob luz branca e fria.

As avaliações foram realizadas diariamente, a partir do início da germinação até um período de 120 horas. Após esse período foram calculados o percentual de germinação e o índice de velocidade de germinação, de acordo com Maguire (1962). Foram consideradas plântulas normais aquelas que atingiram comprimento superior a 1,5 cm e apresentaram pêlos absorventes nas radículas.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com 4 repetições. Cada parcela foi constituída de uma caixa gerbox, contendo 100 sementes. Os tratamentos foram: 1. testemunha; 2. extrato com concentração de 5% do endocarpo; 3. extrato com concentração de 10% do endocarpo; 4. extrato com concentração de 20% do endocarpo; e 5. extrato com concentração de 20% do espermoderma.

No segundo ensaio, o extrato a 20% do espermoderma foi submetido a um fracionamento biodirecionado pelos testes *in vitro* com sementes de alface, conforme descrito no primeiro ensaio. Para isso 1.700 mL do referido extrato foram liofilizados e, em seguida, o resíduo obtido foi lavado sucessivamente com 10 mL de acetato de etila, 10 mL de metanol e 10 mL de água destilada. Pelo teste *in vitro* observou-se que a atividade inibidora se encontrava na fase metanólica, que foi concentrada sob vácuo e eluída através de coluna de sílica-gel com metanol, água destilada e HCl 0,1 M, confirmando que a fração metanólica era a ativa. A fração metanólica foi novamente concentrada sob vácuo e eluída através de coluna de sílica-gel com acetato de etila, acetato de etila/metanol (9:1, 7:3 e 1:1) e metanol. A fração ativa (acetato de etila/metanol 9:1) foi concentrada sob vácuo para realizar mais um fracionamento em coluna de sílica-gel. Neste caso, empregaram-se diclorometano e diclorometano/metanol (20:1, 15:1 e 10:1) como eluentes. Concentrou-se a fração ativa sob vácuo, sendo esta eluída através de coluna de sílica-gel com hexano/álcool etílico (2:1 e 1:1). Ao ser concentrada sob vácuo, a fração ativa deu origem a um sólido branco (87 mg), que se mostrou homogêneo, segundo análise por cromatografia em camada fina com placas de sílica-gel. Esse sólido foi analisado através de espectrometria de infravermelho (IV), de massas (EM) e de ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No ensaio 1, menores valores de germinação de sementes de alface foram observados na presença do extrato contendo 20% de espermoderma e valores intermediários foram observados na presença do extrato contendo pergaminho (Tabela 1). Desse modo, pelos resultados observados, há indícios da presença de substâncias inibidoras principalmente no espermoderma, considerando que a germinação das sementes de alface foi quase nula.

Nesse mesmo experimento, sementes de alface na presença de extrato contendo 20% de espermoderma germinaram lentamente, gastando em média 10 dias para germinar, comparado com um período de 6 dias na testemunha (Tabela 2). Válio (1980) relatou que o pergaminho influencia a germinação de sementes de café, principalmente por impedir a absorção de água e O<sub>2</sub> pela semente. No entanto, Velazco e Gutierrez (1974) verificaram presença de substâncias inibidoras da germinação em fragmentos de pergaminho de sementes de café. Vale ressaltar que a presença de substâncias inibidoras no espermoderma de sementes de café ainda não foi discutida na literatura.

**Tabela 1** - Resultados médios de germinação de sementes de alface, obtidos sob soluções de película prateada 20% (PP 20%), pergaminho 5%, 10%, 20% (PER 5%, PER 10%, PER 20%, respectivamente), pelo teste-padrão de germinação. UFLA, Lavras - MG, 1997<sup>1/</sup>

Tratamentos	Germinação em 400 Sementes(3 leituras)	Média (%)
PP 20%	8	02,00 d
PER 5%	334	83,50 a
PER 10%	293	73,25 b
PER 20%	216	54,00 c
Testemunha	337	84,25 a
CV(%)= 5,71		

<sup>1/</sup> As médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

**Tabela 2** - Resultados médios do teste de velocidade de emergência em sementes de alface, obtidos sob soluções de película prateada 20% (PP 20%), pergaminho 5%, 10%, 20% (PER 5%, PER 10%, PER 20%, respectivamente), pelo teste-padrão de germinação. UFLA, Lavras - MG, 1997<sup>1/</sup>

Tratamentos	Total de dias	Médias (dias)
PP 20%	40,60	10,15 c
PER 10%	24,32	6,08 ab
PER 5%	23,76	5,94 a
PER 20%	26,80	6,70 b
TESTEMUNHA	23,68	5,92 a
CV(%)= 4,37		

<sup>1/</sup> As médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Quanto à identificação do sólido isolado, tem início a partir das análises por espectrometria de infravermelho e de massas. Em ambos os casos obtiveram-se espectros idênticos àqueles encontrados na literatura para a cafeína (Moffat, 1986). Além disso, também se fez uso da espectrometria de ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . No RMN  $^1\text{H}$ , os picos em 3,40; 3,58 e 4,00 também correspondiam aos três grupos  $\text{CH}_3$ , enquanto aquele em 7,53 era devido ao único grupo  $\text{CH}$  da molécula. Já no RMN  $^{13}\text{C}$ , os picos em 27,8; 29,6 e 33,5 ppm foram atribuídos aos três grupos  $\text{CH}_3$ ; os carbonos  $\text{sp}^2$  ligados a N e C absorviam em 107,5; 141,3 e 148,6 ppm; e os carbonos das carbonilas proporcionaram picos em 148,6 e 151,6 ppm. Assim, foi possível confirmar todos os dados anteriores e atribuir, sem qualquer dúvida, a estrutura da cafeína ao sólido branco.

IV (KBr):  $\nu = 3115$  (fraca), 2955 (fraca), 1701 (forte), 1657 (forte), 1551 (média), 1488 (média), 1238 (média), 746 (média)  $\text{cm}^{-1}$ .

EM:  $m/z$  (%) = 55(16), 67(8), 109 (9), 193 ( $\text{M}^+ - \text{H}$ ; 24), 194 ( $\text{M}^+$ , 100), 195 ( $\text{M}^+ + 1,12$ ).

RMN $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz):  $\delta = 3,40$  (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 3,58 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 4,00 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ), 7,53 (s, 1H, CH).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz):  $\delta = 27,8$  ( $\text{CH}_3$ ), 29,6 ( $\text{CH}_3$ ), 33,5 ( $\text{CH}_3$ ), 107,5 (C), 141,3 (CH), 148,6 (C), 151,6 (C), 155,3 (C).

## CONCLUSÕES

O espermoderma contribui para a lenta germinação das sementes de café, possivelmente devido à presença de cafeína.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, F. R.; PEREIRA, M. R.; FIGUEIREDO JR., W. P.; VON PINHO, E. V.R. & GUIMARÃES, R. J. **Avaliação da presença de inibidores da germinação no espermoderma de sementes de café (*Coffea arabica* L.)** In : X Congresso Brasileiro de Sementes (Resumos), Foz do Iguaçu - PR, v.7, n°1/2, p.114, Julho/Agosto 1997.

**ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO CAFÉ.** 1995. (S.1), v.1, n.1, p.1-57.

BENDAÑA, F.E. Fisiologia de los semillos de café I. Problemas relativos al almacenamiento. **Turrialba**, Turrialba, 4(15): 93-6, 1962.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília:LANARV/SNAD/MA, 1992. 365p.

CARVALHO, A., & SALLES, F.J.M. A influência do tamanho da semente de café na germinação e crescimento de mudas. **Boletim da Superintendência dos serviços do café**, São Paulo, 32(370):11-20, 1957.

DEDECCA. Anatomia de Coffea. **Bragantia**, Campinas, 16(23):315-55, 1957.

DIAS, M.C.L. de L. & SILVA, W.R. da. Determinação da viabilidade de sementes de café através do teste de tetrazólio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 21(11):1139-45, nov. 1986.

FRAGA, A.C. Dormência de sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.8, n.91, p.62-64, jul. 1982.

FRANCO, C.M. Fisiologia do cafeeiro. In: Instituto Brasileiro da Potassa. Cultura e adubação do cafeeiro. São Paulo, 1963. p.63-80.

FRIEDMAN, J. e WALLER, G.R. Caffeine hazards and their prevention in germinating seeds of coffee (*Coffea arabica* L.). **Journal of Chemical Ecology**, 9: 1099-1106, 1983.

GUIMARÃES, R.J. **Formação de Mudanças de Cafeeiro: (*Coffea arabica* L.): Efeitos de reguladores de crescimento e remoção do pergaminho na germinação de sementes e do uso de N e K em cobertura, no desenvolvimento de mudas**. Lavras: ESAL, 1995, 133p. (Dissertação - Doutorado em Fitotecnia).

KARSSSEN, C.M. Hormonal regulation of seed development, dormancy and germination studied by genetic control. In: KIGEL, J. & GALILI, G. **Seed Development and Germination**. New York, 1995. p.333-350.

MAZZAFERA, P.; YAMAOKA-YANO, D.M. e VITÓRIA, A.P. Para que serve a cafeína em plantas? **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. Brasília, v.8, n.1, p.67-74, jan/abr. 1996.

METIVIER, J.R. Dormência e germinação. In: FERRI, M.G. **Fisiologia Vegetal 2**. São Paulo, 1985. p.343-392.

MOFFAT, A.C. **Clarke's isolation and identification of drugs**. Second edition, the Pharmaceutical Press, London. 1986. 1223 p.

RENA, A.B.; MAESTRI, M. Fisiologia do cafeeiro. In: Simpósio sobre fatores que afetam a produtividade do cafeeiro. Poços de Caldas, 1986. Anais... Piracicaba, 1986. p.13-85.

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

VIEIRA, A.R. **Efeitos de compostos fenólicos na dormência de sementes de arroz (*Oriza sativa* L.) e eficiência de tratamentos pré-germinativos**. Lavras: ESAL, 1991, 58p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia).

**WEIKERT, M.J.B. Comparação e aprimoramento de metodologia do teste padrão de germinação e tetrazólio na determinação da viabilidade de sementes de café (*Coffea arabica* L. cv. Catuaí).** Lavras: ESAL, 1991, 58p. (Dissertação - Mestrado em Fitotecnia).