

## DETERMINAÇÃO DE INIBIDORES DA GERMINAÇÃO NO ESPERMODERMA DE SEMENTES DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.)<sup>1</sup>

CARLOS EDUARDO PEREIRA<sup>2</sup>, ÉDILA VILELA RESENDE VON PINHO<sup>3</sup>, DENILSON FERREIRA OLIVEIRA<sup>4</sup>  
E ANA LÚCIA PEREIRA KIKUTI<sup>5</sup>

RESUMO - Sementes de café apresentam germinação lenta, aumentando conseqüentemente o período de formação das mudas. A causa dessa germinação lenta, ainda não está elucidada. Aparentemente, a difusão de gases e da água tem papel secundário comparadas 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. Após concentração sob vácuo da fração ativa originou-se 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 tal 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.

Termos para indexação: sementes, café, germinação, inibidores.

### GERMINATION INHIBITORS DETERMINATION IN THE SPERMODERM OF COFFEE (*Coffea arabica* L.) 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 Agriculture Department 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. After concentration under vacuum, of 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 <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>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.

Index terms: seeds, coffee, germination, inhibitors.

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 01.03.2002.

<sup>2</sup> Graduando do Curso de Agronomia - UFLA; Cx. Postal 37, 37200-000, Lavras-MG; e-mail: kikuti@ufla.br

<sup>3</sup> Prof<sup>a</sup>., Dra. do Depto. Agricultura/UFLA; e-mail: edila@ufla.br

<sup>4</sup> Prof., Dr. do Depto. Química - UFLA; e-mail: denilson@ufla.br

<sup>5</sup> Eng<sup>a</sup> Agr<sup>a</sup>, MSc., Depto. de Agricultura - UFLA; e-mail: kikuti@ufla.br

## INTRODUÇÃO

A forma mais utilizada para propagação do cafeeiro é por meio de mudas provenientes de sementes. A semente é plana convexa, elíptica ou oval, sulcada longitudinalmente na face plana e é constituída por embrião, endosperma e um envoltório, representado por uma “película prateada” ou espermoderma constituído por células esclerenquimatosas (Dedecca, 1957 e 1958; Huxley, 1965 e Zamora & Soto, 1976, todos citados por Rena & Maestri, 1986). Segundo Castro et al. (2001) o espermoderma se forma nas sementes à partir de células remanescentes do tecido nucelar. Observaram ainda que o espermoderma envolve todo o endosperma e persiste como células viáveis até a maturação do fruto e da semente.

Sementes de café 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 de germinação, este pode não refletir o verdadeiro estado fisiológico da semente em tempo hábil (Dias & Silva, 1986); além da predisposição dessas ao ataque de patógenos, prejudicando seriamente a germinação. A causa da germinação lenta, ainda não está elucidada. Há evidência de que a presença do endocarpo (pergaminho) na semente exerça influência na sua germinação, por impedir a absorção de água e  $O_2$  pela semente (Bendanã, 1952 e Válio, 1980).

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 este 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, aliado ao aumento da temperatura até  $30^{\circ}C$ , propicia a germinação em períodos menores (Rena & Maestri, 1986). No entanto, aparentemente, a difusão de água e gases tem papel secundário comparado ao efeito de inibidores presentes em outras estruturas da semente.

Conforme, Válio (1976) a lenta germinação de sementes de café está relacionada com baixos teores de substâncias semelhantes ao ácido giberélico. Compostos fenólicos são também possíveis inibidores 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  $GA_3$  impedindo a dormência está relacionado ao metabolismo de carboidratos como sacarose e maltose (Cairns & de Villiers, 1982). A combinação do  $GA_3$  com esses açúcares produzem um efeito sinérgico para superar a dormência rapidamente. Em alguns estudos tem sido 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 a concentração de  $GA_3$  (Simpson & Naylar, 1962). O ácido giberélico promove a síntese de RNA e proteínas, ambos no embrião e tecidos do endosperma (Keng & Foley, 1987). Assim, pelos resultados dessas pesquisas o  $GA_3$  parece estimular a produção de açúcares (hexoses) à partir da degradação de amido, via mecanismos de glicólise, ciclo de Krebs e cadeia de transporte de elétrons. O que ainda não está claro é se os GAs possuem efeitos múltiplos ou se cada  $GA_3$  tem um efeito simples na parte central do sistema. A aplicação exógena do  $GA_3$  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  $GA_3$  pode aumentar a atividade da  $\alpha$  amilase na camada de aleurona. Alguns autores têm abordado que uma importante função do ácido giberélico na superação 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 e é 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 dessa substância na superação da dormência em diferentes genótipos (Hurt & 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 pelas mesmas (Toole et al, 1956). Esses autores abordaram 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  $O_2$  como depósitos de inibidores endógenos. Essa barreira à difusão de  $O_2$  pode controlar a germinação, impedindo a oxidação e subsequente eliminação 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 os mesmos fixam O<sub>2</sub> 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 e cumarina, as quais atuam como reguladoras, retardando os processos de crescimento e desenvolvimento das plantas, tais como o alongamento de raízes e caules, a germinação de sementes e o brotamento de gemas (Dietrich, 1986).

Existem indicações de que o ABA pode interferir na formação da enzima que estimula a produção do GA<sub>3</sub> em tecidos do endosperma. Existem outros fatores limitantes para a germinação das sementes os quais têm influência na expressão da dormência. A disponibilidade de O<sub>2</sub>, regime de temperatura, composição química, pH e nível da atividade de microrganismos podem influenciar na 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 superar a dormência. Exposição das sementes a baixas temperaturas pode proporcionar aumento do peso seco do embrião, eliminação de inibidores como os glicosídeos cianogênicos. Alguns inibidores, também podem ser lixiviados por água corrente (Metivier, 1986). Durante o resfriamento, os níveis endógenos de ácido abscísico (ABA) podem cair e os de ácido giberélico aumentar, promovendo a germinação.

Referente às sementes de café, pouco se conhece a respeito da germinação destas. A maioria dos pesquisadores descreve que as mesmas apresentam germinação lenta, sem contudo discutir as causas, havendo consequentemente necessidade de pesquisas nesta área.

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 desse teste, para detecção de inibidores da germinação em diferentes espécies: Borges et al. (1987) em sementes de *Xylopiya sericea* St.Hill., 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 café apresenta baixos teores de substâncias promotoras da germinação

como o ácido giberélico e substâncias inibidoras da germinação. No entanto, sementes de café possuem considerável quantidade de cafeína e esse alcalóide pode apresentar efeito alelopático (Chou & Waller, 1980; Shettel & Balke, 1983; Smyth, 1992 e Waller et al., 1986, todos citados por Mazzafera et al. (1996). Os últimos autores citam Baumann & Gabriel (1984), Friedman & Waller (1983) e Suzuki & Waller (1987) que em estudos, realizados em laboratório, com sementes de café liberam cafeína durante a germinação, podendo a mesma causar autoinibição da germinação.

Assim, a pesquisa teve como objetivo verificar a presença de inibidores da germinação em sementes de café, no pergamino e espermoderma, bem 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 café, cv. Mundo Novo, produzidas na safra 1999, por meio de bioteste de inibição da germinação de sementes de alface. Para a condução desse ensaio, os frutos destinados à produção de sementes, foram despulpados e em seguida cerca de 2000 sementes foram colocadas em tanques de fermentação por 48 horas, à temperatura média de 14,8°C para a retirada do mesocarpo, com posterior secagem à sombra, até 13% de umidade. Após a obtenção das sementes, foram removidos separadamente o endocarpo e espermoderma de 100 sementes. Os endocarpos e espermodermas foram triturados em moinho, para posterior obtenção dos extratos aquosos com base no seu teor de matéria seca. 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 quatro repetições de 100 sementes de alface (*Lactuca sativa* L.), conforme Medeiros (1989), que foram semeadas em caixas plásticas do tipo gerbox, sobre duas folhas de papel de filtro, previamente umedecido com 2,5 vezes o seu peso com os respectivos extratos aquosos. A testemunha constou da semeadura de quatro repetições de 100 sementes de alface, sobre duas folhas de papel de filtro umedecido com água, 2,5 vezes o seu peso. Após a semeadura, as sementes foram colocadas para germinar em aparelho do tipo BOD regulado a 20°C cons-

tantes, com luz branca e fria, segundo recomendações de Brasil (1992). As avaliações foram realizadas diariamente à partir do início da germinação, até um período de 120 horas. Após este período foram calculados o percentual de germinação e o índice de velocidade de germinação, de acordo com Edmond & Drapalla (1958). Foram consideradas sementes germinadas, aquelas que atingiram comprimento da radícula superior a 1,5cm e que apresentavam pêlos absorventes nas radículas.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados, com quatro repetições. Os dados foram analisados estatisticamente e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Cada parcela foi constituída por uma caixa gerbox, contendo 100 sementes. Os tratamentos foram: testemunha; extrato com concentração de 5% do endocarpo; extrato com concentração de 10% do endocarpo; extrato com concentração de 20% do endocarpo; extrato com concentração de 20% do espermoderma.

No segundo ensaio o extrato com 20% do espermoderma foi submetido a um fracionamento biodirecionado. Para tanto 1700ml do referido extrato foram liofilizados e, em seguida, o resíduo obtido foi lavado sucessivamente com 10ml de acetato de etila, 10ml de metanol e 10ml de água destilada. Pelo teste *in vitro* observou-se que a substância inibidora se encontrava na fase metanólica. A fração metanólica 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. Nesse 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). Após concentração sob vácuo, da fração ativa originou-se 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 teste de sensibilidade, realizado no primeiro ensaio, 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 houve indícios da presença de substâncias inibidoras principalmente no espermoderma, considerando que a germinação das sementes de alface foi quase nula.

**TABELA 1. Resultados médios de germinação (%) e de velocidade de emergência (dias para emergência) de sementes de alface, obtidos em soluções aquosas de película prateada (PP) e pergaminho (PER) de sementes de café em diferentes concentrações. UFLA, Lavras - MG, 2001.**

Tratamentos	Germinação (%)	Velocidade de emergência (dias)
PP 20%	02,00 d	10,15 c
PER 5%	83,50a	6,08a b
PER 10%	73,25 b	5,94a
PER 20%	54,00 c	6,70 b
Testemunha	84,25a	5,92a
CV(%) = 5,71		

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5%.

Nesse mesmo experimento, sementes de alface submetidas ao teste de germinação na presença de extrato contendo 20% de espermoderma germinaram aproximadamente em 10 dias, enquanto que, aquelas submetidas ao substrato contendo água (testemunha) germinaram em apenas seis dias (Tabela 1). Válio (1980) relatou que o pergaminho influencia a germinação de sementes de café, principalmente, por impedir a absorção de água e  $\text{O}_2$  pela semente. Vale ressaltar que a presença de substâncias inibidoras no espermoderma de sementes de café ainda não foi discutido na literatura.

No segundo ensaio, por meio do fracionamento biodirecionado, do extrato contendo 20% do espermoderma, observou-se que a substância inibidora se encontrava na fase metanólica. Esse fato foi confirmado posteriormente quando a fração metanólica foi concentrada sob vácuo e eluída por meio da coluna de sílica gel com metanol, água destilada e HCl 0,1M. Após concentração da fração ativa com hexano e álcool etílico observou-se um sólido branco, que se mostrou homogêneo segundo análise por cromatografia em camada com placas de sílica gel.

A identificação do sólido isolado foi feita a partir das análises por espectrometria de infravermelho (KBr): n = 3115 (fraca), 2955 (fraca), 1701 (forte), 1657 (forte), 1551 (média),

1488 (média), 1238 (média, 746 (média)  $\text{cm}^{-1}$ ; e de massas  $m/z$  (%) = 55(16), 67(8), 109 (9), 193 ( $\text{M}^+ - \text{H}$ ; 24), 194 ( $\text{M}^+$ , 100), 195 ( $\text{M}^+ + 1$ , 12). Em ambos os casos obtiveram-se espectros idênticos aqueles encontrados na literatura para a cafeína (Moffat, 1986). Além disso, também se fez uso da espectrometria de ressonância magnética nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) e  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz). No RMN  $^1\text{H}$ , os picos em 3,40 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 3,58 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ) e 4,00 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ) também corresponderam aos três grupos  $\text{CH}_3$ , enquanto aquele em 7,53 (s, 1H, CH) foi devido ao único grupo 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 sendo, foi possível confirmar a presença da cafeína no sólido branco, reforçando todos os dados obtidos anteriormente. Assim, pelos resultados observados nessa pesquisa, a lenta germinação da semente de café parece estar mais relacionada à presença de cafeína e não aos baixos teores de substâncias semelhantes ao ácido giberélico, como proposto por Válio (1976). No entanto, os resultados obtidos reforçam aqueles observados por Suzuki & Waller (1987), ficando demonstrado que sementes de café liberam cafeína durante o processo de germinação, podendo causar auto inibição da germinação.

### CONCLUSÕES

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

### REFERÊNCIAS

- BENDAÑA, F.E. Fisiologia de los semillos de café I. Problemas relativos al almacenamiento. **Turrialba**, Costa Rica, v.4, n.15, p.93-96, 1962.
- BORGES, E.E.L.C.; BRUNE, W.; BORGES, R.C.G. & OLIVEIRA, J.S. Avaliação de substância inibidora em sementes de pimenteira (*Xylopiya sericea* St.Hill.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.9, n.3, p.87-90, 1987.
- BRAGA, F.A. **Inibidores de germinação em frutos e sementes de pindaíba (*Xylopiya brasiliensis* Sprengle)**. Lavras: ESAL/UFLA, 1986. 30p. (Monografia).
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.
- CAIRNS, A.L.P. & VILLIERS, O.T. Effect of aluminium phosphide fumigation on the dormancy and viability of *Avena fatua* seed. **South African Journal of Science**, v.76, p.323, 1980.
- CASTRO, R.D.; ESTANISLAU, W.T.; MESQUITA, P.R. & HILHORST, H.W.M. A semente de café: desenvolvimento e perspectivas genômicas. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2, Vitória, 2001. **Resumo**. Brasília: Embrapa Café, 2001. p.27.
- DIAS, M.C.L.L. & SILVA, W.R. Determinação da viabilidade de sementes de café através do teste de tetrazólio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.21, n.11, p.1139-1145, 1986.
- DIETRICH, S.M.C. Inibidores de crescimento. In: FERRI, M.G. (coord.). **Fisiologia vegetal**. 2.ed. São Paulo: EPU/EDUSP, 1986. v.2, cap.7, p.193-212.
- EDMOND, J.B. & DRAPALLA, W.J. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seeds. **Proc. Am. Soc. Hort. Sci.**, Itahaca, v.71, p.428-434, 1958.
- EDWARDS, M.M. Seed dormancy and seed environmental-internal oxygen relationship. In: HEYDECKER, W. (ed.). **Seed ecology**. Miyage-Ken: The Pennsylvania State University Press/University Park, 1973. p.169-188.
- FRAGA, A.C. Dormência de sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.8, n.91, p.62-64, 1982.
- HURTT, W. & TAYLORSON, R.B. Greenhouse studies of chemical effects on wild oat seed shedding and germination. **Proceeding**. Itahaca: Northeastern Weed Science Society, 1978. v.32, p.114.
- KARSSSEN, C.M. Hormonal regulation of seed development, dormancy and germination studied by genetic control. In: KIGEL, J. & GALILI, G. (eds.). **Seed development and germination**. New York: Marcel Dekker, 1995. p.333-350.
- KENG, J. & FOLEY, M.E. Effect of gibberellin on protein and non-structural carbohydrate in dormant *Avena fatua* caryopses. **Plant Science**, Shannon, v.51, n.1, p.37-41, 1987.
- MAZZAFERA, P.; YAMAOKA-YANO, D.M. & VITÓRIA, A.P. Para que serve a cafeína em plantas? **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v.8, n.1, p.67-74, 1996.
- MEDEIROS, R.M. **Determinação de potencialidades alelopáticas em agrossistemas**. Piracicaba: ESALQ/USP, 1989. 92p. (Tese Doutorado).
- METIVIER, J.R. Dormência e germinação. In: FERRI, M.G. (coord.). **Fisiologia vegetal**. 2.ed. São Paulo, EPU/EDUSP, 1986. v.2, cap.12, p.343-392.
- MOFFAT, A.C. **Clarke's isolation and identification of drugs**. 2.ed. London: The Pharmaceutical Press, 1986. 1223p.
- REIS, G.G. **Estudo sobre a dormência de sementes de sucupira (*Pterodon pubescens* Benth.)**. Viçosa: UFV, 1976. 41p. (Dissertação Mestrado).
- RENA, A.B. & MAESTRI, M. Fisiologia do cafeeiro. In: SIMPÓSIO SOBRE FATORES QUE AFETAM A PRODUTIVIDADE DO CAFEIEIRO, 1, Poços de Caldas, 1986. **Anais**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1986. p.13-85.

- SIMPSON, G.M. & NAYLOR, J.M. Dormancy studies in seed of *Avena fatua*. 3. A relationship between maltase, amylase and gibberellin. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.40, p.1659-1673, 1962.
- SIMPSON, G.M. **Seed dormancy in grasses**. Cambridge: Cambridge Press, 1990. 297p.
- SUZUKI, T. & WALLER, G.R. Allelopathy due to purine alkaloids in tea seeds during germination. **Plant Soil**, Dordrecht, v.98, n.1, p.131-136, 1987.
- TOOLE, E.H.; HENDRICKS, S.B.; BORTHWICK, H.A. & TOOLE, V.K. Physiology of seed germination. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v.7, p.299-324, 1956.
- 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.
- VÁLIO, I.F.M. Inhibition of germination of coffee seeds (*Coffea arabica* L. cv. Mundo Novo) by the endocarp. **Journal of Seed Technology**, East Lansing, v.5, n.1, p. 32-39, 1980.
- VIEIRA, A.R. **Efeitos de compostos fenólicos na dormência de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.) e eficiência de tratamentos pré-germinativos**. Lavras: ESAL/UFLA, 1991, 58p. (Dissertação Mestrado).

