

PRÉ-EMBEBIÇÃO: EFEITOS NA GERMINAÇÃO; CRESCIMENTO DE PLÂNTULAS E TEOR DE CAFEÍNA EM SEMENTES DE CAFEIEIRO

Sttela Dellyzete Veiga Franco da Rosa¹, Paulo Mazzafera², Renato Mendes Guimarães³,
André Delly Veiga⁴, Adriano Delly Veiga⁵

(Recebido: 26 de setembro de 2006; aceito: 27 de abril de 2007)

RESUMO: Sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) contêm de 1% a 2% de cafeína, um alcalóide altamente solúvel em água, que inibe a germinação de sementes de várias espécies. Para avaliar os efeitos de tratamentos de pré-embebição e de lavagem em água corrente sobre o desempenho fisiológico e o teor de cafeína das sementes de cafeeiro, este trabalho foi realizado com os seguintes tratamentos: pré-embebição em água sob agitação, por 6, 12 e 24 horas, seguida de lavagem rápida em água corrente; lavagem em água corrente por 6, 12 e 24 horas; pré-embebição em água por 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas, seguida de lavagem rápida em água corrente; e sementes secas sem pergaminho. Foram avaliados: porcentagem de protrusão radicular, de plântulas normais aos 30 dias, de folhas cotiledonares aos 45 dias e índice de velocidade de germinação. Os teores de cafeína, de aminoácidos e de açúcares solúveis totais presentes nas soluções de embebição, bem como os teores de cafeína nas sementes, foram também determinados. Não houve diferenças significativas nos valores de protrusão radicular aos quinze dias. Maiores valores de protrusão radicular aos sete dias e de índice de velocidade de germinação foram observados em sementes submetidas à pré-embebição em água por 48, 72 e 96 horas. Maiores porcentagens de plântulas com folhas cotiledonares aos 45 dias foram observadas em sementes pré-embebidas por 24 e 48 horas e nesses tratamentos houve reduções significativas de cafeína, entre 10% e 18%, respectivamente. No entanto, a ação detriminental da cafeína no desempenho fisiológico de sementes de cafeeiro associado aos tratamentos de pré-embebição deve ser mais bem investigada.

Palavras-chave: Qualidade fisiológica, *Coffea arabica*, cafeína, lixiviação, café.

PRE-IMBIBITION: EFFECTS IN THE GERMINATION, SEEDLING GROWTH AND CONTENT OF CAFFEINE IN COFFEE SEEDS (*Coffea arabica* L.)

ABSTRACT: Coffee seeds (*Coffea arabica* L.) contains from 1% to 2% of caffeine, a highly water-soluble alkaloid, which inhibits germination of several species. This work was undertaken to evaluate the effects of treatments of pre-imbibition and running water washing on physiological performance and caffeine content of coffee seeds, with the following treatments: pre-imbibition in water under stirring for 6, 12 and 24 hours, followed by fast washing in running water; washing in running water for 6, 12 and 24 hours; pre-imbibition in water for 6, 12, 24, 48, 72 and 96 hours, followed by fast washing in running water, and dry seeds without parchment. The percentage of root protrusion, of normal seedlings at 30 days, of cotyledonary leaves at 45 days and of the root protrusion velocity index were evaluated. The contents of caffeine, aminoacids and total soluble sugars present in the imbibition solution, as well as the caffeine contents in seeds were also determined. There were no significant differences in the root protrusion evaluation at fifteen days and the best treatments, evaluated by means of radicle protrusion at seven days and of index of germination velocity, were pre-imbibited in water for 48, 72 and 96 hours. As to the percentage of seedlings with cotyledonary leaves opened at 45 days, the pre-imbibition treatments for both 24 and 48 hours provided the best physiological performances of seeds, and in these treatments there were significant reductions of caffeine content between 10% and 18%, respectively. Nevertheless, the detrimental action of caffeine on the physiological performance of coffee seeds, associated with the pre-imbibition treatments should be better investigated.

Key words: Physiological quality, *Coffea arabica*, caffeine, leaching, coffee.

1 INTRODUÇÃO

Sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) apresentam germinação lenta, o que dificulta a obtenção das mudas em épocas apropriadas de plantio, principalmente na região centro-sul do Brasil. Não

se sabe ainda a verdadeira causa dessa lenta germinação, embora várias causas sejam apontadas, tais como a influência do endocarpo (pergaminho) (GUIMARÃES, 1995; RENA & MAESTRI, 1986; ROSA et al., 2006a; VÁLIO, 1976), a baixa absorção

¹Pesquisadora, Dra. – Embrapa Café – CEPECafé/DAG/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – sttelaveiga@ufla.br

²Pesquisador, Dr. – Universidade de Campinas – 13083-970 – Campinas, SP – paulo.mazzafera@pq.cnpq.br

³Professor, Dr. – Departamento de Agricultura/DAG – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – renatomg@ufla.br

⁴Doutorando em Agronomia – Departamento de Fitotecnia – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – bolsista CNPq – adelly2@yahoo.com.br

⁵Mestrando em Agronomia – Departamento de Fitotecnia – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras, MG – bolsista CNPq – adarveiga@yahoo.com.br

de água e O₂ (BENDAÑA, 1962; VÁLIO, 1976; VELAZCO et al., 1974), o balanço hormonal (SILVA et al., 2004; VÁLIO, 1976) e a presença de inibidores naturais (FRIEDMAN & WALLER, 1983a,b; PEREIRA et al., 2002; ROSA et al., 2006b; WALLER et al., 1986).

Dos diversos componentes alelopáticos presentes em sementes de cafeeiro, a cafeína, um alcalóide termo-estável e altamente solúvel em água, é encontrada em maior quantidade e sua influência está bem documentada na literatura, seja inibindo a germinação de sementes ou o crescimento de plântulas de várias espécies (CHOU & WALLER, 1980; PEREIRA et al., 2002; SMYTH, 1992; WALLER et al., 1986), seja como agente pesticida natural (BOJO & MANTLE, 2000; CHAUFON et al., 2000; RIZVI et al., 1987). Em estudos sobre a inibição da germinação de sementes de cafeeiro por ação da cafeína exógena ou endógena (BAUMANN & GABRIEL, 1984; FRIEDMAN & WALLER, 1983a,b; ROSA et al., 2006b; SUZUKI & WALLER, 1987), foi observado que a cafeína pode atrasar ou mesmo impedir a germinação e o crescimento do embrião das sementes.

Segundo Friedman & Waller (1983a), durante a germinação, quase toda a cafeína inicialmente presente nas sementes quiescentes de cafeeiro é translocada para a plântula em desenvolvimento, aproximadamente 84% para os cotilédones, 14% para o hipocótilo e 2% para as radículas.

Por outro lado, Baumann & Gabriel (1984), estudando o metabolismo e a excreção de cafeína durante o processo de germinação de sementes de *Coffea arabica*, concluíram que, após sete dias de embebição, menos do que 1% da cafeína da semente é encontrada no substrato de germinação, indicando a existência de uma forte barreira à difusão na superfície da semente de café; contudo, mais tarde, após a germinação, uma considerável quantidade de cafeína (22%) é lixiviada para o meio.

Nos estudos de Friedman & Waller (1983a), concentrações exógenas de cafeína de 10 mM (quatro a seis vezes menor do que a concentração endógena nas sementes) inibiram o crescimento das radículas de *Coffea arabica* e também as divisões celulares durante a germinação. Esses autores concluíram que os embriões de café têm maneiras estratégicas para evitar a autotoxidez, uma vez que, em sementes que

germinam na ausência de cafeína exógena, as divisões celulares iniciam-se nas extremidades das radículas somente após a sua expulsão do endosperma, rico em cafeína, pela ação de simples alongamento celular do hipocótilo; a cafeína, inicialmente presente no endosperma, é introduzida nos cotilédones após o início da divisão celular na extremidade da raiz. Portanto, segundo os autores, sementes de cafeeiro podem escapar dos efeitos da autotoxidez de cafeína endógena, pela separação entre os locais onde a divisão celular está ocorrendo daqueles onde a cafeína está presente, o que é conseguido, na raiz, pela separação espacial e, nos cotilédones, pela separação temporal. Os autores sugerem, para a cafeína, uma função protetora contra agentes biológicos externos, como fungos, bactérias e plantas daninhas, durante o lento processo de crescimento. No entanto, muito embora sementes de cafeeiro possam escapar da autotoxidez, cafeína endógena poderia contribuir para a lenta germinação que essas sementes apresentam. Pereira et al. (2002) isolaram e identificaram como cafeína substância presente no espermoderma (película prateada) de sementes de cafeeiro, cujo extrato aquoso causou inibição significativa da germinação, durante bioensaio em sementes de alfaca. Os autores inferiram que esse constituinte alelopático poderia também contribuir para a lenta germinação de sementes de cafeeiro.

Substâncias inibidoras da germinação de *Didymopanax morototoni* (Aubl.) Decne & Planch. (FRANCO & FERREIRA, 2002) ou de *Beta vulgaris* L. (ROSSETO et al., 1998) foram removidas das sementes após lavagem em água corrente ou após pré-embebição das sementes em água, favorecendo a germinação. Segundo os autores, o melhor desempenho fisiológico das sementes se deu, provavelmente, porque as substâncias inibidoras foram removidas.

Segundo Khan et al. (1991), substâncias inibidoras da germinação podem ser eliminadas por lavagem, permitindo que as sementes germinem mais rapidamente e, segundo os autores, a germinação é maior quando as sementes são lavadas e submetidas ao condicionamento fisiológico do que quando são apenas lavadas ou apenas submetidas ao condicionamento.

Condicionamento fisiológico ou envigoramento (*priming*) favorece também a germinação de

sementes de cafeeiro. Camargo (1998) e Lima et al. (2001), estudando o efeito do condicionamento osmótico sobre a qualidade fisiológica de sementes de cafeeiro sem o endocarpo, concluíram que os tratamentos que envolveram a embebição direta em água contribuíram para o envigoramento das sementes. Resultados semelhantes foram obtidos por Guimarães (2000), que concluiu que a imersão das sementes, sem endocarpo, em água por 8 dias a 30°C, aumenta a taxa e a velocidade de germinação. Lima et al. (2004), estudando os efeitos do condicionamento fisiológico de sementes de cafeeiro sem endocarpo e armazenadas por 9 meses, sobre a formação de mudas, concluiu que a embebição das sementes em água aerada por 12 dias a 25°C permitiu a formação de mudas para o plantio em dezembro.

Assim, no presente trabalho, foi avaliado o efeito de tratamentos de pré-embebição e de lavagem em água corrente sobre o desempenho fisiológico e sobre o teor de cafeína de sementes de cafeeiro.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Análises de Sementes da Universidade Federal de Lavras e no Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas, utilizando-se sementes de *Coffea arabica*, cultivar Rubi, colhidas no estádio cereja. Os frutos foram despolidos em despolidor manual, desmucilados por fermentação natural em água a 30°C por 24 horas, e as sementes lavadas e secas à sombra até 15% (bu) de teor de água.

Após o preparo, sementes sem pergaminho foram submetidas aos seguintes tratamentos: pré-embebição em água por 6, 12, 24, 48, 72 e 96 horas, seguida de lavagem rápida em água corrente; pré-embebição em água, sob agitação, por 6, 12 e 24 horas, seguida de lavagem rápida em água corrente; e lavagem em água corrente por 6, 12 e 24 horas. Em seguida, as sementes foram avaliadas quanto à qualidade fisiológica. Sementes secas e sem pergaminho, não submetidas aos tratamentos e com 15,5% de teor de água, foram utilizadas como testemunha.

As sementes foram submetidas às avaliações da qualidade fisiológica, por meio dos seguintes testes.

Teste de germinação - realizado com quatro subamostras de 50 sementes, distribuídas em papel-

toalha, umedecido com quantidade de água equivalente a duas vezes e meia o peso do substrato seco e, colocadas para germinar sob temperatura de 30°C; as avaliações foram realizadas aos trinta dias após a sementeira, segundo as Regras para Análise de Sementes-RAS (BRASIL, 1992), e os resultados expressos em porcentagem.

Protrusão radicular - aos sete e aos quinze dias a partir da sementeira, no teste de germinação, foram computadas as sementes que apresentaram emissão de radícula, com pelo menos dois milímetros de comprimento, com os resultados expressos em porcentagem.

Folhas cotiledonares abertas - a avaliação foi realizada aos quarenta e cinco dias a partir da sementeira, no teste de germinação, computando-se as plântulas que apresentaram folhas cotiledonares abertas e os resultados foram expressos em porcentagem.

Índice de velocidade de protrusão radicular - calculado segundo a fórmula proposta por Edmond & Drapala (1958), utilizando-se os resultados das avaliações diárias no teste de germinação, computando-se o número de sementes com protrusão de radículas com pelo menos dois milímetros de comprimento.

Análises químicas - foram determinados os teores de cafeína contidos nas sementes após os tratamentos, bem como os teores de cafeína, de açúcares solúveis totais e de aminoácidos presentes nas soluções de embebição das sementes (lixiviados). Após os tratamentos, amostras de sementes foram secas em estufa de circulação forçada sob 60°C até pesos constantes, moídas e extraídas para as análises por cromatografia de alto desempenho (MAZZAFERA, 1997). Os cálculos da redução de cafeína nas sementes foram baseados no teor de cafeína da testemunha.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições por tratamento. Foram avaliados 13 tratamentos por meio da Protrusão de radículas aos 7 dias, Protrusão de radículas aos 15 dias, Teste de germinação, Índice de velocidade de germinação, Folhas Cotiledonares aos 45 dias e Teor de cafeína nas sementes. Os tratamentos em que as sementes foram submetidas à água corrente para lixiviação da cafeína os teores não foram considerados quando as variáveis foram

Cafeína, Açúcares Solúveis e Aminoácidos, nas soluções de lixiviados. Para as comparações de médias, utilizou-se o Teste de Scott Knott a 5% de probabilidade, transformando-se os dados percentuais em $[(\text{arc sen } X.100^{-1/2}) + 0,5]$. A análise estatística dos dados foi realizada no programa Sisvar (FERREIRA, 2000).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos de lavagem em água corrente e de pré-embebição em água, com ou sem agitação, nos diversos períodos de tempo, causaram efeitos significativos no desempenho fisiológico das sementes de cafeeiro, para todas as variáveis de avaliação, exceto para a porcentagem de protrusão radicular aos quinze dias (Tabela 1).

Observa-se que, à medida que se aumenta o tempo de pré-embebição em água, sob agitação ou não, ou o tempo de lavagem das sementes em água corrente, o seu desempenho fisiológico melhora, indicado pelos aumentos nos valores de protrusão radicular aos sete dias e de folhas cotiledonares abertas aos 45 dias (Tabela 2). Ocorre também ganho no vigor, avaliado pelo índice de velocidade de

protrusão radicular, segundo fórmula proposta por Edmond & Drapala (1958), cujos valores indicam o médio tempo gasto para a germinação das sementes. Portanto, quanto menor o valor desses índices, melhor é o desempenho fisiológico das sementes após os tratamentos.

Os menores valores de protrusão radicular aos sete dias e IVE foram observados para as sementes lavadas em água corrente por 6 horas (9%) e em sementes secas (testemunha) com 15,5% de teor de água, seguidas das sementes pré-embebidas em água sob agitação por 6 horas (28%) e lavadas em água corrente por 12 horas (22%). Os teores de água atingidos nas sementes, após os tratamentos de pré-embebição ou de lavagem em água corrente, variaram de 37,5% (bu), nas sementes lavadas em água corrente por 6 horas, até 54,7%, nas sementes embebidas em água por 96 horas. Optou-se por não secar as sementes porque danos de dessecação podem ocorrer após embebição, cuja extensão varia, entre outros fatores, com a espécie e com o teor de água atingido pelas sementes. Sementes de cafeeiro são sensíveis à dessecação e danos devidos à secagem poderiam ocorrer principalmente naquelas

Tabela 1 – Resumo da análise de variância dos resultados das avaliações fisiológicas das sementes de *Coffea arabica* L., cv. Rubi, submetidas aos diferentes tratamentos de pré-embebição e lavagem em água. Lavras (MG), 2006.

Variável avaliada	GL		Quadrados Médios		CV
	Tratamentos	Resíduos	Tratamentos	Resíduos	
Protr. radic. 7 dias	12	39	950,6468 **	63,2821	16,39
Protr. radic. 15 dias	12	39	19,0256 ns	26,3590	5,44
Germinação	12	39	136,5641	36,1026	6,97
IVG	12	39	16,7761 **	0,5462	6,73
Folhas cotil. 45 dias	12	39	1179,4359 **	157,6410	17,45
Cafeína nas sementes	12	39	950,6468 **	63,2821	16,39
Cafeína nas soluções de lixiviados	8	23	634825,1444 **	61086,5290	44,14
Açúcares. solúveis nas soluções de lixiviados	8	23	10382,9469 **	602,4434	20,15
Aminoácidos nas soluções de lixiviados	8	23	4,6509 **	0,0411	14,22

ns = não-significativo; **significativo a 1%, pelo teste F.

Tabela 2 – Resultados médios de germinação e de vigor das sementes de *Coffea arabica* L., cv. Rubi, submetidas a diferentes tratamentos de lavagem e embebição em água. Lavras (MG), 2006.

Tratamentos	Teores de água nas sementes (%)	Protrusão radicular aos 7 dias (%)	Germinação (%)	Índice de velocidade de germinação (dias)	Folhas cotiledonares aos 45 dias (%)
Embebição em água, sob agitação por 6 horas	38,37	28 D	82B	12,69 C	36 C
Embebição em água, sob agitação por 12 horas	40,06	56 B	86 A	10,46 B	43 C
Embebição em água, sob agitação por 24 horas	45,06	68 A	83 B	9,27 A	39 C
Lavagem em água corrente por 6 horas	32,89	9E	92 A	14,37D	40 C
Lavagem em água corrente por 12 horas	33,42	22 D	86 A	13,13 C	43 C
Lavagem em água corrente por 24 horas	39,89	61 B	85 A	9,88 B	47 C
Embebição em água por 6 horas	37,47	48 B	95 A	11,05 B	40 C
Embebição em água por 12 horas	39,13	38 C	87 A	11,88 C	57 B
Embebição em água por 24 horas	45,17	62 B	93 A	9,99 B	82 A
Embebição em água por 48 horas	52,45	70 A	87 A	9,23 A	79 A
Embebição em água por 72 horas	53,56	80 A	91 A	8,47 A	67 B
Embebição em água por 96 horas	54,67	76 A	75 B	8,34 A	56 B
Testemunha - Semente seca e sem pergaminho	15,50b	13E	78 B	13,95 D	24 C

Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

sementes cujo processo de embebição tivesse atingido estágios mais avançados, em direção à germinação. Danos adicionais e não atribuídos aos tratamentos impostos às sementes poderiam influenciar nos efeitos desses tratamentos. O desempenho da testemunha, representada por sementes secas, e sem pergaminhos, com 15,5% de umidade, foi inferior a todos os demais tratamentos em todas as avaliações.

Foram observadas poucas diferenças entre os tratamentos, na avaliação de porcentagem de plântulas normais aos 30 dias; porém, os menores valores foram observados nas sementes da testemunha e nas pré-embebidas por 96 horas. Diferenças altamente significativas foram observadas, entre os tratamentos, nos resultados de folhas cotiledonares abertas aos

45 dias, os quais variaram de 24% nas sementes da testemunha, até 82% e 79% nas sementes pré-embebidas por 24 e 48 horas, respectivamente.

Melhor desempenho fisiológico nas sementes de cafeeiro, com aumentos nos tempos de pré-embebição ou de lavagem, foi observado com os valores crescentes de protrusão radicular aos sete dias e decrescentes de índice de velocidade de germinação. É sabido que tratamentos pré-germinativos, que envolvem a hidratação controlada de sementes, propiciam o início do metabolismo e podem possibilitar uma germinação mais rápida e sincronizada (PERTEL, 2000). Tais efeitos, conhecidos como condicionamento fisiológico, envigoramento ou *priming*, (HEIDECKER et al.,

1975), podem ser atribuídos à reestruturação da integridade dos sistemas de membranas e ao aumento na disponibilidade de metabólitos prontos para serem utilizados na retomada do crescimento do embrião viável e quiescente.

As sementes de cafeeiro submetidas aos tratamentos de pré-embebição, com melhores resultados de germinação e vigor, provavelmente beneficiaram-se dos efeitos do condicionamento fisiológico. Lima et al. (2001) concluíram que a embebição de sementes de cafeeiro em água por 34 horas contribuiu para o envigoramento das sementes e Camargo (2004) verificou melhores resultados do condicionamento fisiológico em sementes de cafeeiro embebidas em água destilada por nove dias, embora sem diferenças significativas para seis e três dias. Guimarães (2000) concluiu que a imersão das sementes de cafeeiro em água por oito dias a 30°C aumenta a taxa de velocidade de germinação e Lima et al. (2004), trabalhando com sementes com pergaminho armazenadas por nove meses, verificaram que o condicionamento em água aerada a 25°C por 12 dias foi o mais eficiente para incrementar a germinação e o vigor das sementes. Para Pertel (2000), o condicionamento fisiológico em água, por dois e quatro dias, foi efetivo para promover a melhoria da qualidade das sementes de cafeeiro, e os efeitos da técnica variaram de acordo com o vigor do lote de sementes.

Embora a indicação do melhor tempo de embebição em água para o condicionamento fisiológico de sementes de cafeeiro seja variável, provavelmente em razão de diferenças em qualidade dos lotes das sementes avaliados ou mesmo devido a diferenças nas metodologias adotadas, pode-se inferir que, no presente trabalho, houve efeitos benéficos às sementes pré-embebidas em água, efeitos esses crescentes com o tempo de pré-embebição. Vale ressaltar que, nas sementes pré-embebidas em água por períodos de 72 e 96 horas, foi observada tendência de queda no desempenho fisiológico, o que pode ter sido causado por níveis inadequados de oxigênio, uma vez que não havia dispositivo de suprimento de oxigênio durante a embebição. Segundo Heydecker & Coolbear (1977), a manutenção de níveis adequados de oxigênio é um dos principais fatores que interferem no condicionamento fisiológico de sementes. Camargo (1998) observou que, em razão

do maior tempo de condicionamento exigido para sementes de cafeeiro, em relação a outras espécies, os cuidados com o suprimento de ar na solução de imersão são de grande importância.

A pré-embebição em água por 96 horas não propiciou o melhor desempenho fisiológico das sementes, comprovado pelos resultados de germinação e de folhas cotiledonares, embora essas sementes tenham também apresentado o melhor resultado de índice de velocidade de germinação (8,34). Vale ressaltar que o índice de velocidade de germinação é calculado com os dados de protrusão radicular, representando um dado de vigor das sementes, mas nem sempre uma semente que emite radícula irá gerar uma plântula normal. Portanto, os resultados dos diversos testes de avaliação da qualidade devem ser analisados conjuntamente. Por outro lado, maiores quantidades de açúcares totais (164,06 $\mu\text{g mL}^{-1}$) e de aminoácidos (1.296,05 $\mu\text{g mL}^{-1}$) foram observadas em sementes embebidas por 96 horas. É possível, portanto, que tais substâncias, as quais também são importantes na germinação das sementes de cafeeiro, sendo lixiviadas, poderiam causar a restrição da germinação).

O conteúdo de cafeína contido nas sementes secas, sem tratamento, foi de 11,94 $\mu\text{g/g}$ (aproximadamente 1,2% do peso seco das sementes) e houve redução nos demais tratamentos, com diferenças significativas entre os valores (Tabela 1). Observa-se que embora não tenha havido diferenças nos teores de cafeína das sementes embebidas por períodos de 6 até 96 horas em água (Tabela 3), nas sementes embebidas por 48 e 72 horas ocorreram as maiores reduções, ou seja, de 18,5 e 16,1%, respectivamente, sendo também detectada cafeína nas soluções de embebição dessas sementes. Nessas sementes, também foram observados os melhores desempenhos fisiológicos (Tabela 2).

O período de pré-embebição das sementes em água, compreendido entre 24 e 72 horas, parece ter propiciado o melhor desempenho fisiológico e estatisticamente superior aos demais tratamentos. Nas sementes pré-embebidas por 48 horas, observou-se maior redução no conteúdo de cafeína, tendo sido observado também melhor resultado em todos os testes, inclusive na avaliação de folhas cotiledonares aos 45 dias, cujo valor foi superior aos demais tratamentos.

Tabela 3 – Conteúdos médios de cafeína nas sementes e de lixiviados nas soluções de embrição das sementes de *Coffea arabica* L., cv. Rubi, submetidas aos diferentes tratamentos de lavagem e embrição em água. Lavras (MG), 2006.

Tratamentos	Teor de cafeína nas sementes (mg/g)	Redução de cafeína nas sementes (%)	Teor de cafeína nas soluções de lixiviados (µg/ml)	Teor de açúcares solúveis totais nas soluções de lixiviados (µg/ml)	Teor de aminoácidos nas soluções de lixiviados (µg/ml)
Embrição em água, sob agitação por 6 horas	12,34 B	-3,35	0,00 B	67,28 C	438,01 C
Embrição em água, sob agitação por 12 horas	11,82 B	1,01	0,00 B	130,01 B	684,69 B
Embrição em água, sob agitação por 24 horas	12,03 B	-0,75	0,00 B	194,34 A	721,19 B
Lavagem em água corrente por 6 horas	11,60 B	2,85	-	-	-
Lavagem em água corrente por 12 horas	12,41 B	-3,94	-	-	-
Lavagem em água corrente por 24 horas	11,49 B	3,77	-	-	-
Embrição em água por 6 horas	10,20 A	14,57	0,00 B	79,11 C	0,00 D
Embrição em água por 12 horas	10,10 A	15,41	0,00B	81,30 C	0,00 D
Embrição em água por 24 horas	10,68 A	10,55	0,00 B	114,92 B	599,88C
Embrição em água por 48 horas	9,73 A	18,51	7,50 A	73,56 C	534,99 C
Embrição em água por 72 horas	10,01 A	16,16	6,96 A	190,90 A	765,07 B
Embrição em água por 96 horas	10,68 A	10,55	8,92 A	164,05 A	1296,05 A
Semente seca e sem pergaminho (Test.)	11,94 B				

Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

(1) Reduções nos teores de cafeína nas sementes em relação à testemunha.

Em estudos sobre tratamentos pré-germinativos de outras espécies, substâncias inibidoras da germinação, presentes nas sementes, foram removidas por meio de tratamentos de lavagem de sementes da espécie florestal *Didymopanax morototoni* (FRANCO & FERREIRA, 2002) ou de lavagem em água corrente associado ao condicionamento fisiológico de sementes de *Beta vulgaris* (ROSSETO et al., 1998). Segundo os autores, os tratamentos que proporcionaram a

remoção dos inibidores também favoreceram a germinação das sementes.

Segundo alguns autores, em grãos de café, a cafeína encontra-se livre no citoplasma sob a forma de cristais, mas principalmente complexada a ácidos clorogênicos (DENTAN, 1985; HORMAN & VIANI, citados por CHAVES et al., 2004; WALDEHAUSER & BAUMANN, 1996), sendo, portanto, de difícil lixiviação. Neste trabalho, foram observadas reduções nos teores de cafeína entre 10%

e 18% em sementes de cafeeiro embebidas em água por períodos de 24 a 72 horas, as quais apresentaram os melhores desempenhos fisiológicos. Baumann & Gabriel (1984), estudando o metabolismo e a excreção da cafeína em sementes de cafeeiro durante a germinação, observaram que até sete dias do início do processo, menos que 1% da cafeína foi encontrada no substrato da germinação (0,6% de ágar) e, após a germinação, quando a radícula já estava em contato com o substrato, uma considerável quantidade (22%) foi lixiviada para o meio. Esses autores atribuíram à cafeína um papel ecológico, atuando com função protetora contra predadores e agentes biológicos externos, como fungos, bactérias e plantas daninhas, durante o tempo relativamente longo, de formação das mudas de cafeeiro.

Friedman & Waller (1983a) também sugeriram uma função protetora para a cafeína e constataram que concentrações exógenas de cafeína de quatro a seis vezes menores do que as concentrações endógenas inibiram o crescimento de radículas de *Coffea arabica*. Os autores concluíram que as sementes de cafeeiro têm maneiras estratégicas para escapar da toxidez pela cafeína endógena, já que praticamente todo o conteúdo, inicialmente presente no endosperma da semente quiescente, é mais tarde encontrado no embrião, sendo a maior quantidade nas radículas.

Inibidores da germinação ou do crescimento de plântulas podem agir de maneiras diversas segundo as condições externas, podendo prevenir prematura germinação, quando as sementes ainda estão na planta-mãe, estender a germinação por um período maior de tempo, ou permitir que a germinação ocorra somente quando as condições externas sejam propícias, garantindo o estabelecimento da plântula. Contudo, lenta germinação de sementes, seja ela causada por qualquer tipo de restrição, pode apresentar um problema considerável, acarretando atraso e desuniformidade da emergência das plântulas e, em condições de laboratório, pode levar à avaliação incorreta da qualidade fisiológica das sementes.

Entre os vários fatores que provavelmente concorrem para a lenta e desuniforme germinação de sementes de cafeeiro, a presença de inibidores, tal como a cafeína, pode ser uma causa provável, e ganhos no desempenho das sementes pela sua

redução podem estar associados aos benefícios da técnica do condicionamento fisiológico por meio da embebição das sementes em água, muito embora essa ação deva ser mais bem investigada.

4 CONCLUSÕES

A embebição de sementes de café em água por períodos de 48 ou 72 horas afeta positivamente seu desempenho fisiológico

Os teores de cafeína em sementes de café são diminuídos pela pré-embebição em água

Sementes de café embebidas por 48, 72 e 96 horas têm teores de cafeína aumentados em seus lixiviados.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAUMANN, T. W.; GABRIEL, H. Metabolism and excretion of caffeine during germination of *Coffea arabica* L. **Plant and Cell Physiology**, [S.l.], v. 25, p. 1431-1436, 1984.

BENDAÑA, F. E. Fisiología de las semillas de café: problemas relativos al almacenamiento, café. **Turrialba**, Turrialba, v. 4, p. 99-106, 1962.

BOJO, A.; MANTLE, P. G. Caffeine: also a fungal metabolite. **Phytochemistry**, Oxford, v. 54, p. 937-939, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.

CAMARGO, R. **Condicionamento fisiológico de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 1998. 108 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1998.

CHAUFON, S. M.; PEREIRA, M. C.; ANGÉLICO, C. L. Efeito da cafeína (1,3,7-trimetilxantina) sobre o crescimento micelial de fungos associados ao café. **Revista Brasileira de Armazenamento**, Viçosa, n. 1, p. 50-53, 2000. Edição especial.

CHAVES, J. C. D.; MIYAZAWA, M.; BLOCH, M. F. M.; YAMAKAMI, J. K. Estimativa do teor de cafeína nas sementes de café, baseada na sua concentração nas folhas de mudas e de plantas adultas. **Acta Scientiarum Agronomy**, [S.l.], v. 26, p. 287-292, 2004.

- CHOU, C. H.; WALLER, G. R. Possible allelopathic constituents of *Coffea arabica* L. **Journal Chemical Ecology**, New York, v. 6, p. 643-639, 1980.
- DENTAN, E. The microscopic structure of the coffee bean. In: CLIFFORD, M. N.; WILLSON, K. C. **Coffee, botany, biochemistry and production of beans and beverage**. London: Croombelm, 1985. p. 284-304.
- EDMOND, J. B.; DRAPALA, W. S. The effects of temperature, sand and acerone on germination of okra seed. **Proceedings of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 71, p. 428-434, 1958.
- FERREIRA, D. F. **Sistema de análise estatística- SISVAR**. Lavras: UFLA, 2000.
- FRANCO, E. T. H.; FERREIRA, A. G. Tratamentos pré-germinativos em sementes de *Didymopanax morototoni* (Aubl.) Dcne et Planch. **Ciência Florestal**, [S.l.], v. 12, p. 1-10, 2002.
- FRIEDMAN, J.; WALLER, G. R. Caffeine hazards and their prevention in germinating seeds of coffee (*Coffea arabica* L.). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 9, p. 1099-1106, 1983a.
- FRIEDMAN, J.; WALLER, G. R. Seeds as allelopathic agents. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 9, p. 1107-1117, 1983b.
- GUIMARÃES, R. J. **Formação de mudas 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**. 1995. 133 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1995.
- GUIMARÃES, R. M. **Tolerância à dessecação e condicionamento fisiológico em sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2000. 180 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.
- HEYDECKER, W.; COOLBEAR, P. Seed treatments for improved performance: survey and attempted prognosis. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 5, p. 353-425, 1977.
- HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; TURNER, Y. J. Invigoration of seeds? **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 3, p. 881-888, 1975.
- KHAN, A. A.; ABAWI, G. S.; MAGUIRE, J. D. Osmotic and matric conditioning to improve stand establishment and yield. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 1, p. 97-112, 1991.
- LIMA, S. M. P.; GUIMARÃES, R. M.; OLIVEIRA, J. A.; VIEIRA, M. G. G. C. Efeitos de tempos e temperaturas de condicionamento sobre a qualidade fisiológica de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) sob condições ideais e de stresse térmico. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 3, p. 505-514 maio/jun. 2004.
- LIMA, W. A. A.; DIAS, D. C. F. S.; ALVARENGA, E. M.; REIS, M. S.; CECON, P. R. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 29, n. 3, p. 549-555, 2001.
- MAZZAFERA, P. Mate drinking: caffeine and phenolic acids intake. **Food Chemistry**, London, v. 60, n. 1, p. 67-71, 1997.
- PEREIRA, C. E.; PINHO, E. V. R. von; OLIVEIRA, D. F.; SUZUKI, A. L. P. Determinação de inibidores da germinação no espermoderma de sementes de café. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 24, n. 1, p. 306-311, 2002.
- PERTEL, J. **Efeito do condicionamento fisiológico na germinação, no vigor e nas alterações enzimáticas em sementes (*Coffea arabica* L.)**. 2000. 68 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia/Produção Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.
- RENA, A. B.; MAESTRI, M. Fisiologia do cafeeiro. In: SIMPÓSIO SOBRE FATORES QUE AFETAM A PRODUTIVIDADE DO CAFEIEIRO, 1986, Poços de Caldas, MG. **Anais...** Piracicaba: Potafós, 1986. p. 13-85.
- RIZVI, S. J. H.; RIZVI, V.; MUKERJEE, D. 1,3,7-Trimethylxantine an allelochemical from seeds of *Coffea arabica*: some aspects of its mode of action as a natural herbicide. **Plant and Soil**, The Hague, v. 98, p. 81-91, 1987.

- ROSA, S. D. V. F. da; MELO, L. de; VEIGA, A. D.; OLIVEIRA, S.; SOUZA, C. A. S.; AGUIAR, V. A.; VEIGA, A. D. Formação de mudas de *Coffea arabica* L., cv. Rubi, utilizando sementes e frutos em diferentes estádios de desenvolvimento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, 2006a. No prelo.
- ROSA, S. D. V. F. da; SANTOS, C. G.; PAIVA, R.; MELO, L. Q.; VEIGA, A. D.; VEIGA, A. D. Cafeína exógena inibe o desenvolvimento in vitro de embriões de *coffea*. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, 2006b. No prelo.
- ROSSETO, C. A. V.; KEIGO, M.; NAKAGAWA, J. Efeito do condicionamento fisiológico de sementes na emergência e na produtividade. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, p. 112-117, 1998.
- SILVA, E. A. A.; TOOROP, P. E.; AELST, A. C. van; HILHORST, H. W. M. Abscisic acid controls embryo growth potential and endosperm cap weakening during coffee (*Coffea arabica* L. cv. Rubi) seed germination. **Planta**, New York, v. 220, p. 251-261, 2004.
- SMYTH, D. Effect of Methylxanthine treatment on rice seedling growth. **Journal Plant Growth Regul.**, [S.l.], v. 11, p. 125-128, 1992.
- SUZUKI, T.; WALLER, G. R. Allelopathy due to purine alkaloids in tea seeds during germination. **Plant and Soil**, The Hague, v. 98, p. 131-136, 1987.
- VALIO, I. F. M. Germination of coffee seeds (*Coffea arabica* L.), cv. Mundo Novo. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 27, p. 983-991, 1976.
- VELAZCO, J. R.; GUTIERREZ, J.; PHILIP, P. **Journal Science**, [S.l.], v. 103, p. 1-11, 1974.
- WALDHAUSER, S. S. M.; BAUMANN, T. W. Compartmentation of caffeine and related purine alkaloids depends exclusively on the physical chemistry of their vacuolar complex formation with chlorogenic acids. **Phytochemistry**, Oxford, v. 42, p. 985-996, 1996.
- WALLER, G. R.; KUMARI, D.; FRIEDMAN, J.; FRIEDMAN, N.; CHOU, C. H. Caffeine autotoxicity in *Coffea arabica* L. In: _____. **The science of allelopathy**. New York: J. Wiley and Sons, 1986. p. 243-263.