

# DETERMINAÇÃO DA VIABILIDADE DE SEMENTES DE CAFÉ ATRAVÉS DO TESTE DE TETRAZÓLIO<sup>1</sup>

MARIA CRISTINA LEME DE LIMA DIAS<sup>2</sup> e WALTER RODRIGUES DA SILVA<sup>3</sup>

RESUMO - As sementes de café (*Coffea arabica* L.) perdem rapidamente sua qualidade fisiológica, ao mesmo tempo em que exigem que o teste de germinação tenha duração mínima de 30 dias para o fornecimento dos seus resultados finais. Esses fatos, além de impedirem que a informação, proveniente do teste de germinação, reflita fielmente a viabilidade do lote analisado na ocasião de sua emissão, causam dificuldades na comercialização se considerado o curto intervalo de tempo disponível entre a colheita e a semeadura. Buscando contornar estes problemas, o presente trabalho foi conduzido no sentido de aprimorar a técnica empregada no teste de tetrazólio, visando a obtenção de resultados equivalentes aos de germinação e a facilitação de sua execução. Com a utilização de técnica que procurou evitar, ao máximo, os danos mecânicos sobre o embrião, durante o processo de seu preparo para a avaliação, os resultados obtidos não indicaram diferenças significativas entre as informações provenientes dos testes de germinação e de tetrazólio.

Termos para indexação: análise de sementes, qualidade fisiológica, *Coffea arabica*.

## THE TETRAZOLIUM TEST FOR VIABILITY EVALUATION OF COFFEE BEAN SEED

ABSTRACT - The physiological quality of coffee (*Coffea arabica* L.) bean seed is rapidly lost, and the minimal duration of the germination test is around thirty days which implies that the information of viability provided by this test can't be confident in relation to the seed lot analysed. From this point of view the marketing process encompasses a series of difficulties related to a short period available from harvest to seeding. In order to get a quick system of evaluation to supply information related to viability, the tetrazolium test was studied for coffee bean seed, looking for equivalent results to germination test and the practicalness in performing it. The results provided by the tetrazolium test are quite confident, and the technique developed through this research can be utilized for viability evaluation of coffee bean seed.

Index terms: seed analyses, *Coffea arabica*.

## INTRODUÇÃO

As sementes de café (*Coffea* spp.) são caracterizadas, em termos fisiológicos, como rapidamente perdedoras de viabilidade (Vargas 1955, Bendaña 1962, Popinigis 1977 e Silva & Dias 1985). Este atributo, quando associado à lentidão representada por 30 dias para a obtenção dos resultados no teste padrão de germinação (Brasil. Ministério da Agricultura 1976), leva ao problema de se chegar, num dado instante, a uma informação de viabilidade que apresenta pouca possibilidade de estar expressando, naquele mesmo momento, a real

qualidade do lote analisado. Outra dificuldade, decorrente da mesma característica, reflete-se sobre a comercialização das sementes que necessita ser realizada em curto espaço de tempo.

Diante desta situação, uma série de pesquisas foi conduzida procurando abreviar o prazo requerido, para a obtenção dos resultados de viabilidade, por intermédio de métodos indiretos passíveis de correlação com o teste padrão de germinação. Dentre as tentativas realizadas, a do teste de tetrazólio tem-se mostrado como das mais aceitáveis, não apenas pela rapidez proporcionada, mas também pelo fato de se constituir em técnica amplamente utilizada em um grande número de outras espécies.

No caso específico do café, a maior dificuldade na aplicação do teste de tetrazólio reside na definição da metodologia a ser adotada para a sua condução, uma vez que o embrião, além de necessitar de um íntimo contato com a solução (Vásquez & Morillo 1964), encontra-se em região de difícil

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 24 de março de 1986. Trabalho apresentado no IV Congresso Brasileiro de Sementes, Brasília, 1985.

<sup>2</sup> Enga. - Agra., Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR)/Área Técnica de Sementes, Caixa Postal 1331, CEP 86100 Londrina, PR.

<sup>3</sup> Eng. - Agr., IAPAR - atualmente, ESALQ/DAH, Caixa Postal 9, CEP 13400, Piracicaba, SP.

acesso para a sua exposição, durante a avaliação (Mondoñedo 1970), sem a ocorrência de danos mecânicos (Goldbach & Vizcarra 1980). Paralelamente, a idade de pós-colheita da semente pode exigir diferentes tempos de permanência na solução de tetrazólio, antes da interpretação do teste (Vásquez & Morillo 1966).

Por sua vez, o presente trabalho foi conduzido com o objetivo de auxiliar na resolução dos problemas encontrados para a aplicação do teste do tetrazólio, visando a obtenção de resultados equivalentes aos do de germinação e a facilitação de sua execução.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado com sementes provenientes de quatro lotes de café (*Coffea arabica* L.) Catuaí Amarelo, linhagem H.2077-2-5-39 (Lotes A e B) e Mundo Novo, linhagem LCP 376-4 (Lotes C e D). Estes materiais foram obtidos em campos de produção de sementes situados em Londrina, Paraná.

A colheita, efetuada manualmente em maio de 1983, foi conduzida para o aproveitamento exclusivo dos frutos maduros no estágio de cereja (sete a oito meses após a antese) que, após serem descascados mecanicamente, tiveram as suas sementes degomadas por fermentação natural durante 24 horas.

Após a lavagem, foi realizada a secagem à sombra até o ponto em que as sementes atingiram, aproximadamente, 18% de umidade em base úmida (% B.U.). Nesta ocasião, cada lote foi homogeneizado e dividido em 24 amostras de trabalho, com o objetivo de serem conseguidas as quatro repetições estatísticas usadas, em cada uma das seis épocas bimestrais estudadas, durante o armazenamento. As amostras, acondicionadas em sacos de papel, foram mantidas em condições ambientais de laboratório durante o período experimental.

As análises, realizadas entre julho de 1983 e maio de 1984, foram representadas pela aplicação dos seguintes procedimentos:

1. Determinação do teor de umidade - seguindo as prescrições de Brasil. Ministério da Agricultura (1976), foi realizada em estufa a  $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , durante 24 horas, com o cálculo baseado no peso úmido (% B.U.).

2. Teste de germinação - após a retirada manual dos pergaminhos das sementes, foi conduzido em substrato de papel toalha umedecido, na forma de rolo, sob temperatura de  $20^{\circ}\text{C}$  -  $30^{\circ}\text{C}$ , durante 30 dias, conforme as prescrições de Brasil. Ministério da Agricultura (1976).

3. Teste de tetrazólio - duas frações com 50 sementes, retiradas de cada amostra de trabalho, tiveram os seus pergaminhos removidos e foram submetidas à embebição, sob a temperatura de  $30^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. Em seguida, conforme pode ser observado na Fig. 1, o endosperma das

sementes foi eliminado ao máximo, com o uso de um bisturi, de tal forma que fossem evitados os danos ou a exposição dos embriões; a porção portadora do embrião foi submersa em solução, a 0,1% de 2, 3, 5 Trifenil Cloreto de Tetrazólio, em ausência de luz e a  $35^{\circ}\text{C}$ , por um período que variou de 14 a 16 horas. Terminado este tempo de coloração, os embriões foram cuidadosamente extraídos da parte remanescente do endosperma e avaliados. Os resultados, apresentados em percentagem, expressaram a ocorrência de sementes viáveis que, por sua vez, eram assim consideradas quando encerravam embriões coloridos de rosa claro ou vermelho, segundo os seguintes critérios (Fig. 2):

- a - Embrião totalmente colorido.
- b - Embrião com a extremidade da radícula descolorida.
- c - Embrião com as extremidades dos cotilédones descoloridas.
- d - Embrião com as extremidades da radícula e dos cotilédones descoloridas.
- e - Embrião com coloração intensa, indicadora de deterioração fisiológica ou de danificação superficial, em área total ou circunscrita em pequenas regiões.

O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso. Os dados foram analisados estatisticamente por intermédio da aplicação do teste de Cochran seguido pela análise de variância.

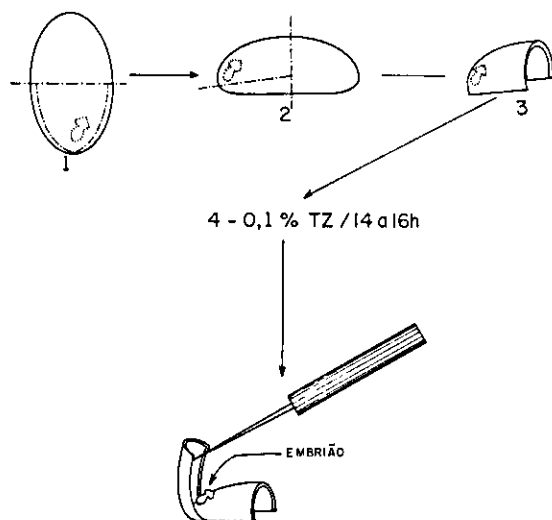
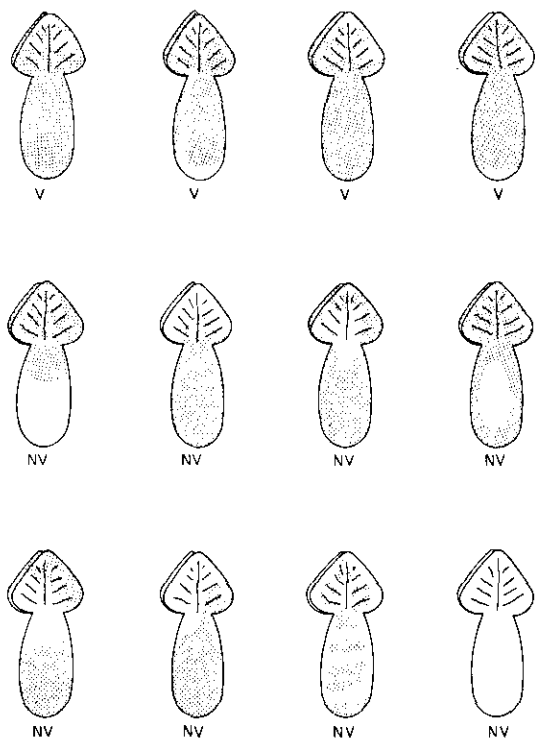


FIG. 1. Esquema representando os procedimentos usados nos cortes efetuados nas sementes de café (1, 2, 3), para colocá-los em solução a 0,1% de 2, 3, 5 Trifenil Cloreto de Tetrazólio (4), e a extração de um embrião, após a sua coloração (5), para a avaliação do teste.



LEGENDA: V = VIÁVEL  
NV = NÃO VIÁVEL

FIG. 2. Teste de Tetrazólio. Representação esquemática dos critérios adotados para a avaliação dos embriões na interpretação do teste. As áreas hachuradas indicam as regiões de tecidos vivos que no teste aparecem coloridos com tonalidades de rosa claro a vermelho.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A escolha das cultivares utilizadas (Catuaí Amarelo e Mundo Novo) buscou recair sobre materiais amplamente cultivados pelos cafeicultores brasileiros.

A determinação do teor de umidade das sementes indicou os valores apresentados na Tabela 1. Estes resultados mostraram, para o parâmetro estudado, variações desprezíveis entre os lotes durante

TABELA 1. Percentagens médias de umidade (% B.U.) dos quatro lotes de sementes de café, obtidas em seis épocas bi-mestrais durante o período de armazenamento.

Lote/cultivar	Épocas					
	1	2	3	4	5	6
A/Catuaí Amarelo	16,4	12,5	11,7	11,1	9,6	12,7
B/Catuaí Amarelo	17,9	12,5	12,1	11,1	10,0	12,3
C/Mundo Novo	18,0	12,4	11,9	11,8	10,4	12,2
D/Mundo Novo	17,5	11,7	12,5	11,7	10,2	11,9

o armazenamento e sugerem a ausência de sua interferência nas informações coletadas durante as diferentes épocas de estudo.

A graduação de qualidade fisiológica das sementes, necessária para a realização da comparação proposta nesta pesquisa, foi induzida com a aplicação de um período de armazenamento suficiente para reduzir a viabilidade a valores próximos de zero.

A Fig. 3 apresenta a distribuição espacial dos dados, independentemente de cultivares e lotes, e destaca as concentrações de pontos encontrados nos dois testes de avaliação da viabilidade. Esta mesma figura indica que, apesar da tentativa de se trabalhar com uma ampla variação de qualidade fisiológica das sementes, o intervalo de viabilidade entre 15% e 60% não contou com o número de pontos desejado, como consequência de uma velocidade de deterioração superior à esperada pela metodologia empregada. Talvez, intervalos mensais de análise, em lugar dos bimestrais utilizados no trabalho, pudessem ter evitado esta ocorrência.

A análise estatística dos dados obtidos foi realizada em duas etapas. A primeira delas constou da aplicação do teste de Cochran para a verificação da homogeneidade da variância existente entre os dois testes; o seu resultado (0,5008), indicou a ausência de variabilidade entre os tratamentos estudados. Em uma segunda fase, os dados foram submetidos a uma análise de variância em blocos ao acaso (dois tratamentos e 96 repetições), com efeito similar ao do teste T com valores pareados, e o teste F não detectou diferenças significativas. Estas informações confirmaram a equivalência, que pode ser graficamente observada nas Fig. 4, 5, 6 e 7, entre os

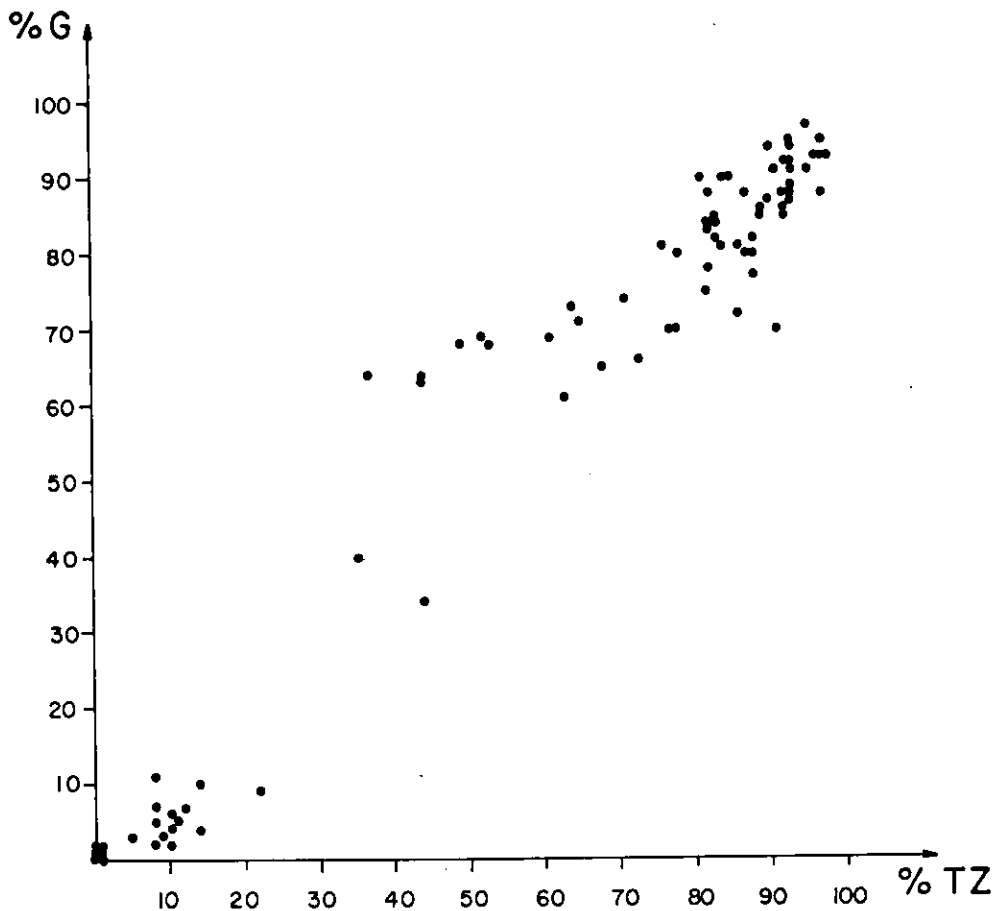


FIG. 3. Distribuição espacial correlacionando o conjunto dos dados obtidos nos testes de germinação e de tetrazólio sem a separação por lotes, cultivares ou épocas.

resultados fornecidos pelos testes de tetrazólio e de germinação.

Dessa forma, as informações obtidas indicam amplas possibilidades de utilização do teste de tetrazólio para estimar a germinação das sementes de café, concordando com o observado por Golbach & Vizcarra (1980). Convém, contudo, ressaltar a validade desta afirmação para o intervalo de viabi-

lidade situado entre 15% e 60%, que não pôde ser devidamente estudado no presente trabalho. Paralelamente, a técnica empregada, para a extração dos embriões no teste de tetrazólio, mostrou-se inócua quanto aos efeitos da danificação mecânica em sua avaliação; esta ocorrência pode ser explicada pelo fato do embrião só haver sido totalmente isolado do endosperma após a exposição à solução encarregada de promover a sua coloração.

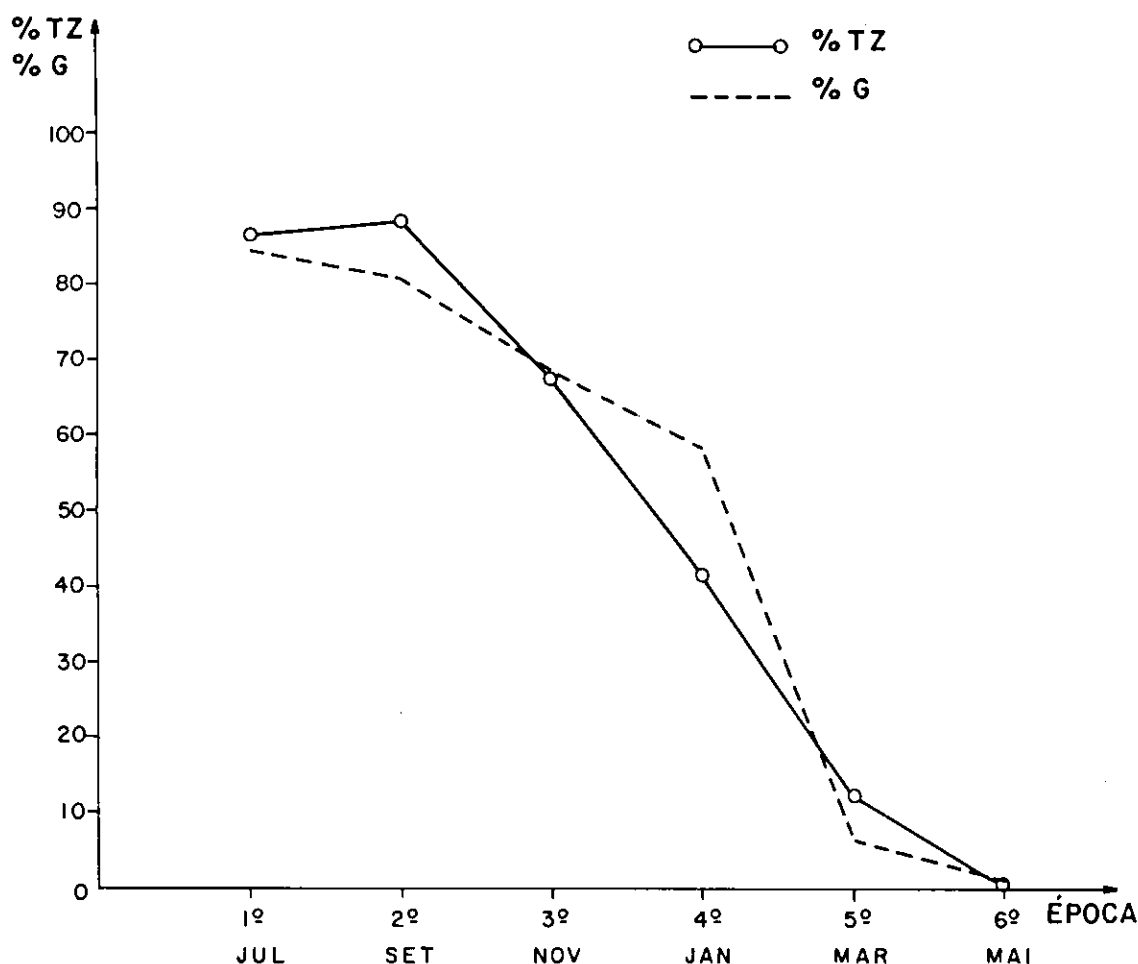


FIG. 4. Resultados médios obtidos nos testes de germinação e de tetrazólio, nas seis épocas de análise, para as sementes de café Catuaí Amarelo, lote A.

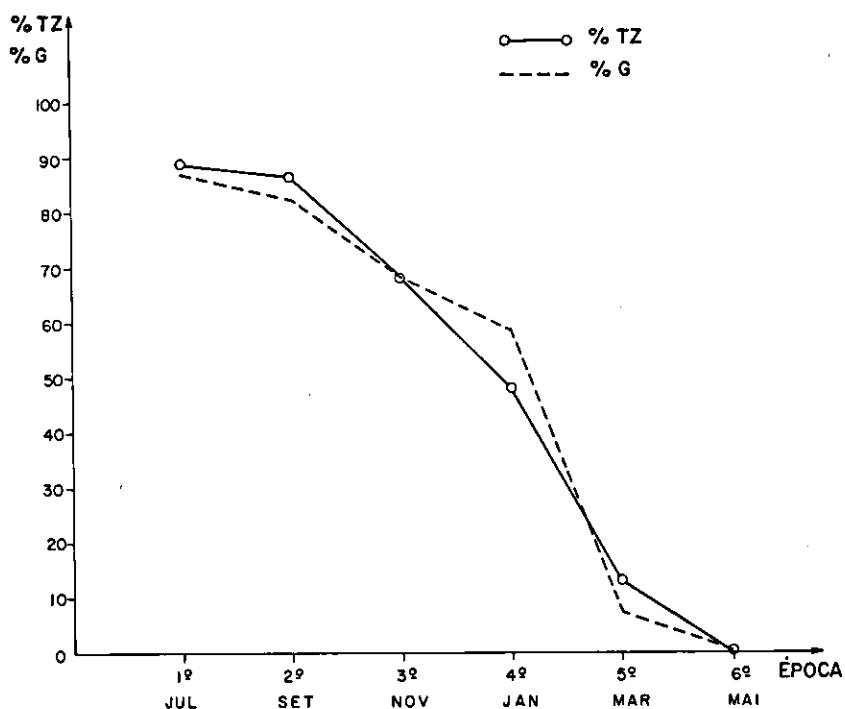


FIG. 5. Resultados médios obtidos nos testes de germinação e de tetrazólio, nas seis épocas de análise, para as sementes de café Catuaí Amarelo, lote B.

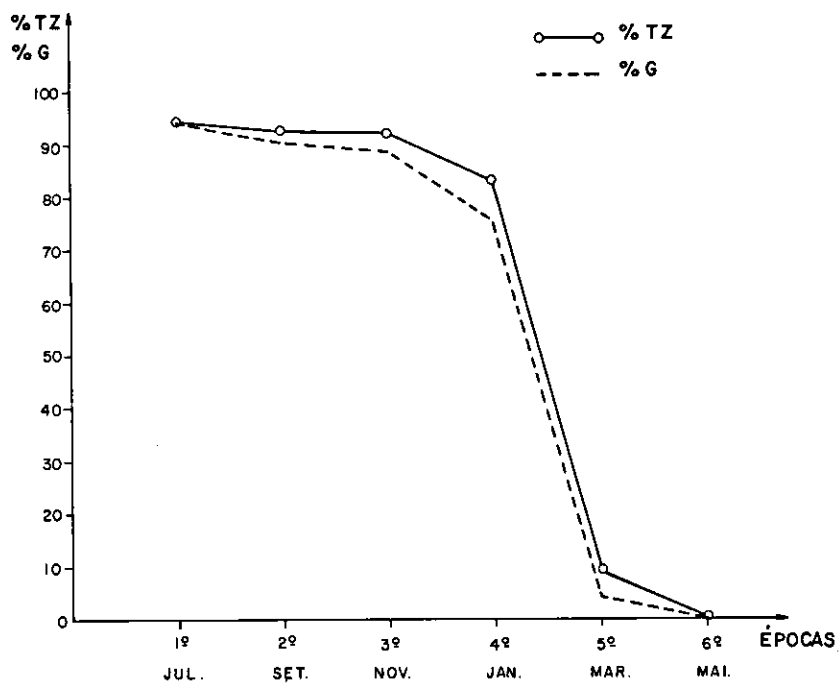


FIG. 6. Resultados médios obtidos nos testes de germinação e de tetrazólio, nas seis épocas de análise, para as sementes de café Mundo Novo, lote C.

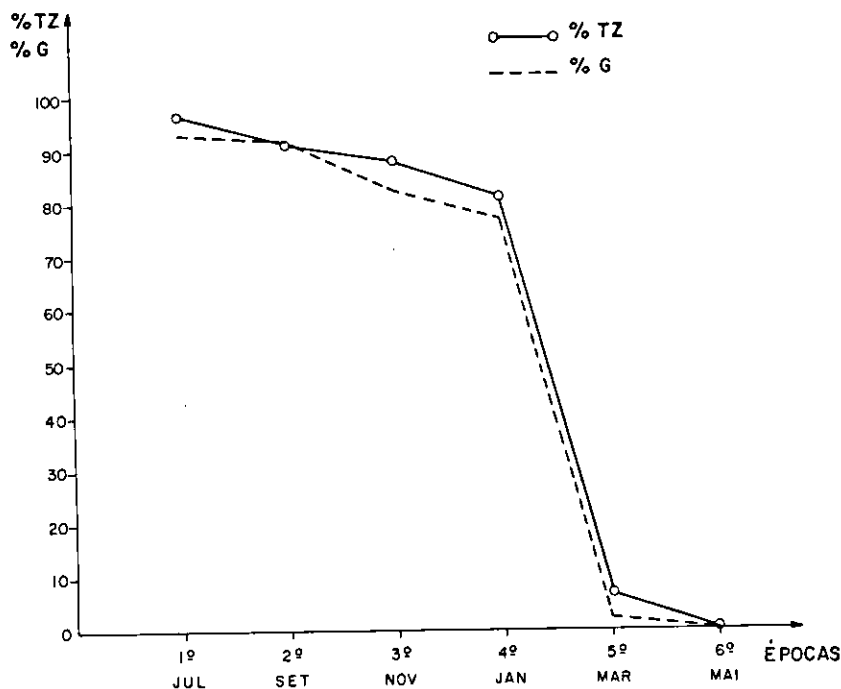


FIG. 7. Resultados médios obtidos nos testes de germinação e de tetrazólio, nas seis épocas de análise, para as sementes de café Mundo Novo, lote D.

### CONCLUSÕES

1. Os testes de tetrazólio e de germinação propiciaram, de forma mais marcante nos intervalos percentuais de 0-15 e de 60-100, resultados considerados equivalentes.

2. A técnica empregada na extração de embriões não provocou danos mecânicos perceptíveis em sua estrutura.

### AGRACEDIMENTOS

Os autores agradecem aos laboratoristas Celso Shizuo Mizubuti e Aluizio Xavier de Moraes e à secretária Vilma Neide Alves as colaborações recebidas.

### REFERÊNCIAS

BENDAÑA, F.E. Fisiología de las semillas de café. I. Problemas relativos al almacenamiento. *Café*, Turrialba, 4(15):93-6, 1962.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Regras para análise de sementes. Rio de Janeiro, 1976. 188p.

GOLDBACH, H. & VIZCARRA, H.A. Some observations on tetrazolium-testing of coffee seed (*Coffea arabica* and *C. canephora*). *Turrialba*, 30(2):223-6, 1980.

MONDOÑEDO, J.R. Quick test with tetrazolium chloride on coffee seed viability. *J. Agric. Univ. P.R.* 54(2): 370-6, 1970.

POPINIGIS, F. Fisiologia da semente. Brasília, MA/AGIPLAN, 1977. 289p.

SILVA, W.R. & DIAS, M.C.L.L. Interferência do teor de umidade das sementes de café na manutenção de sua qualidade fisiológica. *Pesq. agropec. bras.*, 20(5): 551-60, 1985.

VARGAS, E.V. Como conservar la semilla del café. *Rev. Agric. Comer. Ind.*, Panamá, 13(26):44, 1955.

VÁSQUEZ, A.R. & MORILLO, A.R. Duración de la prueba de germinación en semillas de café de tres edades diferentes tratadas com tetrazolium. *Agron. Trop.*, 16(3):205-8, 1966.

VÁSQUEZ, A.R. & MORILLO, A.R. Uso del tetrazolium en la determinación del poder germinativo de la semilla de café. *Agron. Trop.*, 14(1):25-32, 1964.