

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

AGRONOMIA

**QUANTIFICAÇÃO DE TRIFENILFORMAZAN POR
ESPECTROFOTOMETRIA UV-Vis NA DETERMINAÇÃO DE
VIABILIDADE DE SEMENTES DE GRÃO-DE-BICO**

ANA CLÁUDIA FERNANDES DE JESUS

Montes Claros – MG
2025

Ana Cláudia Fernandes de Jesus

**QUANTIFICAÇÃO DE TRIFENILFORMAZAN POR ESPECTROFOTOMETRIA
UV-VIS NA DETERMINAÇÃO DE VIABILIDADE DE SEMENTES DE
GRÃO-DE-BICO**

Trabalho de Conclusão de Curso Apresentado
ao Curso de Agronomia da Universidade
Federal de Minas Gerais, como requisito parcial
à obtenção de título para o grau de Bacharel (a)
em Engenharia Agrônômica.

Orientador: Prof. Dr. Delacyr da Silva Brandão
Junior

Coorientadora: Dra. Josiane Cordeiro dos
Santos

Montes Claros

2025

Ana Cláudia Fernandes de Jesus. **QUANTIFICAÇÃO DE TRIFENILFORMAZAN POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS NA DETERMINAÇÃO DE VIABILIDADE DE SEMENTES DE GRÃO-DE-BICO**

Banca examinadora constituída por:

Cândido Alves da Costa - ICA/UFMG

Josiane Cordeiro dos Santos- ICA/UFMG

Documento assinado digitalmente
 DELACYR DA SILVA BRANDAO JUNIOR
Data: 06/02/2025 10:44:51-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Delacyr Silva Brandão Junior - Orientador ICA/UFMG

Montes Claros-MG

24 de janeiro de 2025

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, professor Delacyr, e à minha coorientadora, Josiane, que me ajudaram na realização deste trabalho com dedicação e carinho. Sou grata a todos os professores que ensinaram e orientaram, contribuindo para a minha formação acadêmica, e aos colegas que sempre me ajudaram nos trabalhos realizados.

Agradeço a Deus por esta vitória concedida, a meu esposo, Elias, que sempre me apoiou em tudo, e me deu ânimo para seguir em frente, ao apoio da minha mãe e da minha sogra, que sempre me ajudaram com meus filhos; aos meus filhos, que amo muito e a quem dedico todo o meu esforço, e aos amigos e parentes pelo apoio. Deus abençoe a todos!

Fonte: Elaborado pelos autores 2025

RESUMO

O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) tem-se destacado no mercado como uma importante fonte de proteína vegetal. A expansão das áreas de cultivo tem demandado sementes de elevada qualidade fisiológica. O teste de tetrazólio permite estimar a viabilidade de sementes por colorimetria, ao detectar a atividade respiratória nos tecidos, pela ação enzimática das desidrogenases, que propiciam a redução do trifeniltetrazólio em trifenilformazan, um composto vermelho e indifusível nas células. Nesse processo, há distinção entre os tecidos vivos, com atividade respiratória e coloração, e os tecidos mortos, que não apresentam alteração de coloração. A espectroscopia UV-Vis quantifica compostos com base na quantidade de luz absorvida pelas amostras (variações de absorbância). O objetivo deste estudo foi verificar a aplicabilidade da quantificação espectrométrica de trifenilformazan na determinação da viabilidade de sementes de grão-de-bico. Para tanto, 6 cultivares, dispostas em delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições de 25 sementes cada, foram embebidas em água, por 18 horas à 30°C, para ativação metabólica, seccionadas para exposição do tecido embrionário e, transferidas individualmente para tubos, contendo solução de tetrazólio 2%, permanecendo por 16 horas no escuro à 30°C. Posteriormente, foram embebidas em etanol 95%, por 8 horas para extração do trifenilformazan. A aplicabilidade da técnica foi mensurada pela análise de variações de absorbância a 500 nm, relacionadas às diferentes cultivares e à qualidade fisiológica das sementes, avaliada por testes de germinação e de tetrazólio convencional. A quantificação de trifenilformazan mostrou-se aplicável à determinação da viabilidade de sementes de cultivares de grão-de bico de alta qualidade, embora, como nos demais testes apresente ambiguidade para lotes de qualidade intermediária ou similar.

Palavras-chave: *Cicer arietinum* L., tetrazólio, colorimetria, *pulses*.

ABSTRACT

Chickpeas (*Cicer arietinum* L.) have been gaining prominence in the market as an important source of vegetable protein. The expansion of cultivated areas has demanded seeds of high physiological quality. The tetrazolium test allows seed viability to be estimated by colorimetry, by detecting respiratory activity in the tissues, through the enzymatic action of dehydrogenases, which promote the reduction of triphenyltetrazolium into triphenylformazan, a red compound that is indiffusible in cells. In this process, there is a distinction between living tissues, with respiratory activity and coloration, and dead tissues, which do not present coloration changes. UV-Vis spectroscopy quantifies compounds based on the amount of light absorbed by the samples (absorbance variations). The objective of this study was to verify the applicability of spectrometric quantification of triphenylformazan in determining chickpea seed viability. For this purpose, 6 cultivars, arranged in a completely randomized design with 4 replicates of 25 seeds each, were soaked in water for 18 hours at 30°C for metabolic activation, sectioned to expose the embryonic tissue and individually transferred to tubes containing 2% tetrazolium solution, remaining for 16 hours in the dark at 30°C. Subsequently, they were soaked in 95% ethanol for 8 hours for triphenylformazan extraction. The applicability of the technique was measured by analyzing absorbance variations at 500 nm, related to the different cultivars and to the physiological quality of the seeds, evaluated by germination and conventional tetrazolium tests. The quantification of triphenylformazan was shown to be applicable to determining the viability of seeds of high-quality chickpea cultivars, although, as in the other tests, it presents ambiguity for batches of intermediate or similar

Keywords: *Cicer arietinum* L., tetrazolium, colorimetry, pulses.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	3
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.2.1 Cultivares de grão-de-bico.....	5
2.2.2 Importância do grão-de-bico no mercado mundial para o Brasil	6
2.2.3 Potencial fisiológico de sementes de grão-de-bico.....	7
2.2.4 Problemas na produção do grão-de-bico relacionados à germinação.....	8
2.2.5 Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de grão-de-bico pelos testes de vigor.....	9
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
4. RESULTADOS.....	13
5. CONCLUSÕES.....	16
6. REFERÊNCIAS.....	17

1.INTRODUÇÃO

O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) é uma planta anual, herbácea, da família Fabaceae, subfamília Papalionoideae, tribo Cicereae, gênero *Cicer* é importante recurso para pessoas de baixa renda, produzida em regiões áridas e semiáridas (DIAS E LEÃO ARAÚJO, 2020). Sendo uma excelente fonte de proteínas para pessoas com restrição na dieta em relação ao uso de alimentos de origem animal, além de ser uma ótima fonte de nutrientes com boa digestibilidade (CARVALHO *et al.*, 2016).

Para um melhor cultivo, devem-se utilizar sementes de qualidade, ou seja, variedades de grão-de-bico de alto rendimento, valor nutricional, e tolerante a estresses bióticos e abióticos (DIAS E LEÃO ARAÚJO, 2020). Sendo assim, o teste de tetrazólio, na análise da qualidade de sementes de grão-de-bico, é importante para qualificar as sementes para uma germinação eficiente, garantindo um estande de plantas adequado.

O teste de tetrazólio é um teste bioquímico que pode ser utilizado para estimar vigor e viabilidade, avaliar sementes que apresentam dormência, problemas no teste de germinação, avaliar vigor, danos oriundos de secagem, de insetos, da umidade e de danos mecânicos ocasionados pela colheita (FRANÇA-NETO E KRZYZANOWSKI, 2019). O sal de tetrazólio é uma solução incolor de 2,3,5 trifenil cloreto ou brometo de tetrazólio utilizado como indicador que revela o processo de redução que ocorre dentro das células vivas (BRASIL, 2017).

Os testes rápidos são importantes instrumentos na avaliação da qualidade fisiológica de lotes de sementes, auxiliando nas decisões relacionadas ao manejo de pré e pós-colheita. O teste de tetrazólio, portanto, apresenta a vantagem de ser rápido e fornece uma análise detalhada da viabilidade e vigor, podendo ser concluído em 24 horas. No teste de tetrazólio, as enzimas desidrogenases atuam no processo de respiração celular, produzindo uma substância vermelha, estável e não difusiva (EGIDO *et al.*, 2017). Este composto, chamado Trifenilformazan, é formado a partir da desidrogenação do cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio. Como resultado dessa reação, as partes vivas da semente, são tingidas de vermelho, enquanto os tecidos mortos mantêm sua cor original, permitindo distinguir os tecidos conforme sua condição (FRANÇA-NETO E KRZYZANOWSKI, 2019).

A aplicabilidade do método de quantificação do Trifenilformazan por espectrofotometria UV-Vis para a determinação da viabilidade das sementes de grão-de-bico demanda estudos, no que diz respeito à confiabilidade e eficiência dos testes. O que confere ao produtor o uso de sementes vigorosas para garantir um estande de plântulas uniformes, obtendo um retorno financeiro do capital investido em sua produção.

Com isso, sabendo da importância de testes rápidos e seguros na determinação da viabilidade de sementes, este trabalho foi realizado com o objetivo de verificar a aplicabilidade do método de quantificação do Trifenilformazan por espectrofotometria UV-Vis para determinação da viabilidade de sementes de cultivares de grão-de-bico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) é uma planta anual, herbácea, da família Fabaceae, subfamília Papilionoideae, tribo Cicereae, gênero *Cicer*. É diplóide ($2n=16$), autógama possui polinização com fenômeno da Cleistogamia (realiza polinização antes da abertura floral), (DIAS E LEÃO ARAÚJO, 2020). É um importante recurso para pessoas de baixa renda, sendo produzida em regiões áridas e semi-áridas. Sendo uma fonte barata de proteínas para pessoas com restrição na dieta em relação ao uso de alimentos de origem animal, além de ser uma ótima fonte de nutrientes e de boa digestibilidade (SOUZA *et al.*, 2021).

Existem diferentes variedades do grão-de-bico de dois grupos distintos (Desi e Kabuli) cada um com suas próprias características, sendo associado a uma melhor digestibilidade, controle do açúcar no sangue, saúde cardíaca e controle de peso (DIAS E LEÃO ARAÚJO, 2020). São utilizados principalmente por pessoas que aderem a uma dieta vegetariana e vegana pelo seu alto teor de proteínas (CARVALHO *et al.*, 2016).

O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) é cultivado desde os tempos antigos pelos egípcios. É a segunda espécie de leguminosa mais comum no mundo e constituem aproximadamente 18 % da produção global de leguminosas, área de 15 milhões/ha e produção anual de 16 milhões de toneladas (COMEX STAT, 2022). Grande parte da produção de grãos está concentrada na Ásia; (Índia, Turquia, Paquistão) têm sido os principais produtores (FAO, 2023).

2.2.1 Cultivares de grão-de-bico

O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) é a segunda leguminosa mais cultivada no mundo ficando atrás somente da soja (NASCIMENTO, 2016). Pode ser cultivada em climas variados desde subtropicais até semi-áridos o que permite que a planta suporte déficit hídrico e temperaturas mais altas. Foi trazida para o Brasil pelos imigrantes espanhóis e do Oriente médio; havendo uma diminuição da área plantada, porém sua produtividade aumentou em torno de 37% (QUEIROGA, 2021). Isso se deve ao desenvolvimento de

novas cultivares com melhor rendimento e tecnologias de produção, com o Brasil importando quase tudo quase toda produção, principalmente da Argentina e do México. (NASCIMENTO, 2016).

O gênero *Cicer* possui 43 espécies incluindo o grão-de-bico com dois grupos principais distintos: (Kabuli e Desi) sua germinação é do tipo hipógea, ou seja, as plântulas crescem acima do nível do solo, enquanto os cotilédones permanecem sob o solo. A raiz primária se ramifica rapidamente e, suas hastes apresentam ramificações (CARVALHO, BIANCHETTI, SILVA, NASCIMENTO, 2021).

O tipo Kabuli, caracteriza-se por plantas de tamanho médio, sem mancha púrpura nas hastes, flores grandes de cor branca e sementes grandes, de formato arredondado, com, e coloração bege ou creme claro. Já o tipo Desi, as plantas são pequenas com manchas púrpuras nas hastes, com flores de cor púrpura e folíolos pequenos, sementes de coloração marrom, amarelo, verde e preto de tamanho pequeno, formato angular e rugosa (FONTÃO, 2019).

O tipo Kabuli, possui maior teor de sacarose e menos fibras do que do tipo Desi, sendo consumido na forma de farinhas e grãos partidos, representando cerca de 20% da produção. O tipo Desi, é consumido como grãos inteiros, representando cerca de 80% da produção mundial (COMEX STAT, 2022).

A Embrapa (Empresa brasileira de pesquisa agropecuária) tem desenvolvido e disponibilizado no mercado várias cultivares de grão-de-bico, como a cultivar Cícero, do tipo Kabuli: BRS Aleppo, BRS Cristalino, BRS Toro e mais recente a cultivar Kalifa (NASCIMENTO, 2021).

2.2.2 Importância do grão-de-bico no mercado mundial para o Brasil

Pulses são sementes comestíveis secas de leguminosas. O termo vem do latim “*Pulses*”, significando sopa grossa com capacidade de promover saciedade e, alto teor de proteínas (FONTÃO, 2019). O Brasil tem sido um grande consumidor do grão-de-bico, embora o país tenha aumentado sua produção, a maior parte do consumo ainda é suprida por importação do produto (QUEIROGA, 2021).

O volume importado, principalmente do México e da Argentina em 2021, foi de 11,3 mil toneladas do grão-de-bico, com total de 9 milhões. Já na exportação do produto, o Brasil exportou 500 toneladas do grão, com total de US\$ 238 mil, para a Índia, Paquistão, Egito e Paraguai (COMEX STAT, 2022).

O Brasil enfrenta competição com os países exportadores do grão-de-bico, embora sua participação no mercado não seja significativa como no mercado de commodities. No entanto, o grão-de-bico se destaca como uma excelente alternativa, pois requer menos água e demanda uma menor utilização de insumos agrícolas, como fungicidas e inseticidas, em comparação com outras culturas (NASCIMENTO, 2022).

As leguminosas são uma fonte acessível de proteínas nutritivas, contribuindo para o combate a fome e desnutrição no mundo. Com isso, para abastecimento do mercado mundial de *pulses*, é necessário aumentar a produção, especialmente à Índia, que apesar de sua boa produção, ainda importa *Pulses*, devido à sua grande população vegetariana (CARVALHO, BIANCHETTI, SILVA, NASCIMENTO, 2016).

No Brasil, o mercado tem crescido na oferta de produtos mais acessíveis, impulsionado pelo aumento da população vegetariana que busca alimentos vegetais ricos em proteínas de qualidade (SOUZA *et al.*, 2021).

Espera-se que o Brasil, seja um mercado milionário de grão-de-bico nas exportações brasileiras, suprimindo a demanda do Brasil e sendo um interveniente na produção e comercialização de *Pulses* (FONTÃO, 2019).

2.2.3 Potencial fisiológico de sementes de grão-de-bico

O potencial fisiológico das sementes é determinado através de testes de vigor, por meio da avaliação da emergência rápida, saudável e uniforme das plântulas em diversas condições ambientais (FRANÇA-NETO E KRZYZANOWSKI, 2019). Embora não haja uma metodologia padronizada para testes de vigor em todas as culturas, a combinação desses testes com o teste de germinação pode aumentar a confiabilidade dos resultados, simulando as condições adversas do campo, ajudando no controle da qualidade das sementes (DIAS E LEÃO-ARAÚJO, 2020).

O armazenamento é essencial para manter a qualidade fisiológica das sementes, preservando seu vigor e viabilidade até a semeadura. Embora a deterioração das sementes seja um processo irreversível, seus efeitos podem ser mitigados por meio de práticas de armazenamento adequadas, que ajudam a retardar a perda de qualidade das sementes (NASCIMENTO, 2021).

Além da qualidade das sementes, outro fator importante a ser analisado, é a degradação dos solos, que afeta negativamente a cultura (CALIA *et al.*, 2024). Para a restauração desses solos, é indicada uma consorciação e rotação de culturas, que não só restaura a saúde do solo, como aumenta o teor de matéria orgânica do solo melhorando a estrutura do solo aumentando a atividade microbiana do solo, esses benefícios melhoram a fertilidade do solo diminuindo os riscos de erosões por longo tempo (PHIRI, NJIRA E CHITEDZE, 2023).

Algumas leguminosas da família Fabaceae tem a disponibilidade de nutrientes mais do que em outra família, com a capacidade de enriquecer o solo com compostos de nitrogênio e fosfatos solúveis, pois possuem bactérias específicas do solo que são capazes de fixarem nitrogênio (CALIA *et al.*, 2024).

Cerca de 5 a 7 milhões de toneladas de nitrogênio no mundo são adquiridos das leguminosas, o sistema radicular é profundo adquirindo uma melhor infiltração de água obtendo assim uma maior tolerância à seca (CARVALHO *et al.*, 2016).

2.2.4 Problemas na produção do grão-de-bico relacionados à germinação

A germinação compreende na formação de plântulas normais, ou seja, que apresenta características morfológicas e fisiológicas adequadas como: sistema radicular saudável e bem desenvolvido, caule ereto e folhas bem formadas (DIAS E LEÃO-ARAÚJO, 2020). A parte genética garante que a cultivar escolhida pelo produtor chegue ao campo e obtenha êxito, a parte sanitária garante que as sementes não sofram danos causados por pragas e doenças, por isso é importante o tratamento de sementes (PARAÍSO *et al.*, 2019)

Muitos problemas têm afetado a cultura do grão-de-bico, como, falhas na germinação, que podem ser causadas pelo tipo de solo, déficit hídrico e estande não uniforme

(NASCIMENTO, 2021). Além disso, o vigor das sementes pode ser afetado pela temperatura, que altera a respiração e o metabolismo das sementes resultando em atraso na emergência, desenvolvimento de plântulas anormais, incapazes de sobreviver no campo (QUEIROGA, 2021).

Para um cultivo eficiente, devem-se utilizar sementes de qualidade, ou seja, variedades de grão-de-bico com alto rendimento, valor nutricional, e tolerante a estresses bióticos e abióticos. No entanto essas condições geralmente são alcançadas por grandes produtores, devido ao alto padrão exigido na qualidade das sementes (DIAS E LEÃO-ARAÚJO, 2020).

Há também um problema com a mecanização em países desenvolvidos, que prejudica a indústria de sementes (CALIA, *et al.*, 2024). O sucesso da produção, depende de um estande uniforme e ideal no campo, que está diretamente relacionado à qualidade fisiológica das sementes utilizadas no plantio.

Nesse contexto, os testes de vigor são realizados pelas empresas juntamente com os testes de germinação, para comparar entre os lotes e tomar decisões quanto ao armazenamento, controle de qualidade e comercialização (FRANÇA-NETO E KRZYZANOWSKI, 2019). A qualidade das sementes é essencial para garantir alta produtividade, o armazenamento adequado preserva o vigor e viabilidade até o momento do plantio (NASCIMENTO, 2022).

2.2.5 Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de grão-de-bico pelos testes de vigor

Para avaliação de vigor e viabilidade das sementes de grão-de-bico são realizados testes de vigor como o teste de tetrazólio juntamente com o teste de germinação, para determinar a viabilidade das sementes de grão-de-bico. Esses testes são excelentes ferramentas para avaliar as sementes e identificar quais os tempos de embebição, temperaturas controladas e concentração de tetrazólio que obtiveram melhores respostas quanto à qualidade fisiológica dessas sementes (PARAÍSO *et al.*, 2019). Após os testes é feita a separação quanto às classes em que as posições mostram o quanto vigorosas são as sementes, em

que as classes I, II e III são as sementes viáveis, as classes I e II são as sementes vigorosas, a classe IV são as sementes não viáveis. (BRASIL, 2017).

As avaliações da qualidade das sementes de grão-de-bico são essenciais para expandir as áreas de cultivo. Esses testes analisam diversos aspectos relacionados à germinação e vigor, como a coloração dos tecidos vivos, o índice de velocidade de germinação, a porcentagem de matéria fresca, matéria seca (BRASIL, 2017). Esses fatores ajudam a determinar se as sementes têm boa qualidade física e fisiológica, o que é fundamental para garantir uma boa germinação e emergência no campo. Vale destacar que há diferenças na qualidade física e fisiológica entre as variedades de grão-de-bico. (PARAÍSO *et al.*, 2019).

O grão-de-bico é uma planta rústica que se adapta a diversos tipos de solos e climas, sendo tolerante à seca e também as temperaturas mais baixas. Sua produção no Brasil é pequena, não sendo suficiente para atender à demanda do mercado interno, o que torna necessária à importação de outros países como Argentina e México (QUEIROGA, 2021). Trata-se de uma cultura economicamente viável, pois, é ambientalmente sustentável, fornece nutrientes para o consumo humano e é utilizada na produção de alimentos para animais (QUEIROGA, 2021). As avaliações de testes de vigor das sementes auxiliam no planejamento dos cultivos, considerando a qualidade física e fisiológica das sementes.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (LAS – ICA/UFMG) Campus Montes Claros, MG. Foram utilizadas sementes de Três cultivares e Três linhagens dois lotes de cada cultivar de grão-de-bico, tipo: Tratamento1- Cristalino (Kabuli), Tratamento2- 20-006 (Desi), Tratamento3- 20-056^a (Desi), Tratamento4- 20-031 (Desi), Tratamento5- Toro (Kabuli), Tratamento6- Aleppo new (Kabuli).

Foram realizadas avaliações da qualidade fisiológica por meio do teste de germinação, primeira contagem de germinação, emergência, teste de condutividade elétrica e de tetrazólio como parâmetros para avaliação da viabilidade e do vigor.

O teste de germinação foi realizado, utilizando folhas de papel para germinação, umidecidas com água destilada na proporção de três vezes o peso do papel. Após a montagem do teste no sistema rolo, os mesmos foram acondicionados em câmara de germinação do tipo à BOD a 30°C de temperatura, constante. A primeira contagem realizada no 5º dia e a contagem final no 8º dia, avaliando o desenvolvimento e formação de plântulas normais, sementes duras ou mortas (BRASIL, 2017).

Concomitantemente ao teste de germinação foram realizadas contagens diárias da emissão de raiz primária para cálculo do índice de velocidade de germinação (IVG), que é realizado contando o número de raízes primárias e dividindo pelo número de dias de realização do teste (BRASIL, 2017). Para obtenção da matéria fresca e matéria seca, as sementes germinadas foram pesadas e obtidas o peso de matéria fresca. Logo após foram colocadas em estufa a 105°C por 24h, depois pesadas e obtidas o peso após a secagem. A porcentagem de matéria seca é obtida dividindo o peso após a secagem pelo peso inicial e multiplicado por 100 (BRASIL, 2017).

No teste de condutividade elétrica, as sementes foram embebidas em água destilada num copo plástico em BOD a 25°C por 24 horas e depois feito a leitura com condutivímetro. No teste de tetrazólio para a avaliação da viabilidade, foram utilizadas 25 sementes e pré-embebidas em água por 18 horas para ativação metabólica, depois colocadas em solução de tetrazólio a 0,075% por 6 horas, sem contato com luz e após serem coloridas as sementes são lavadas em água destilada e colocadas em álcool 95%. As classificações foram feitas com as sementes que foram coloridas de rosa escuras sendo as viáveis e

vigorosas as de rosa claro vigorosas e sem colorações inviáveis (FRANÇA-NETO E KRZYŻANOWSKI, 2019).

No teste de tetrazólio para avaliação do vigor foi aplicado o método de quantificação de trifênilformazan por espectrofotometria UV – Vis foi averiguada por análise de variações de absorvância por leitura a 500 nm, relacionadas ao lote e ao cultivar. Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes, pré-embebidas em água por 18 horas para ativação metabólica, sendo posteriormente seccionados, transversalmente, mediano, através do embrião e endosperma, para exposição do tecido embrionário. Posteriormente, as amostras de tecido foram imersas, à temperatura ambiente, por 6 horas na ausência de luz, em soluções aquosas de 2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio, preparada na concentração de 1 e 2%. Após a fase de coloração, o material foi lavado em água destilada e embebido em 2 ml de etanol 95% por 8 horas.

Nas células em que a solução adquirir coloração rosa - escura, as sementes foram computadas como viáveis e vigorosas, com probabilidade de originarem plântulas normais; a coloração rosa - clara as sementes foram computadas como viáveis e não vigorosas, com sementes que resultarão em plântulas normais e a incolor indicará inviáveis, com sementes que resultarão em plântulas anormais ou sementes mortas. Os resultados foram expressos em porcentagem de sementes viáveis e porcentagem de sementes vigorosas. Após o sobrenadante foi vertido em cubeta de quartzo, diluído em 2 ml de etanol 95% e lido na absorvância de 500 nm em espectrofotômetro na região do ultravioleta visível (UV-Vis), Cary 60 UV-Vis, *Agilent Technologies*®.

Os valores de absorvância obtidos foram utilizados para expressar a atividade respiratória dos tecidos, representando a quantidade de formazan formado (padrão colorimétrico) em resposta à aplicação dos tratamentos. Os valores negativos de absorvância foram considerados iguais à zero (EGIDO *et al.*, 2017).

A análise estatísticas dos dados obtidos foi submetida a análise de variância pelo teste F, posterior teste de média, Scott-Knott com o auxílio do software R stúdio (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2019). Os resultados serão considerados significativos para $p \leq 0,05$

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A qualidade fisiológica das cultivares de grão-de-bico obteve diferenças significativas estatisticamente, ao nível de significância considerada para a análise. As análises realizadas para a determinação do potencial fisiológico das sementes de grão-de-bico permitiram a separação das cultivares em grupos distintos de qualidade.

Tabela 1 – Resultados com os valores médios dos testes de germinação, 1º Contagem de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG), matéria fresca de plântula (MF), matéria seca de plântula (MS), tetrazólio(TZ viabilidade e TZvigor) e formazan (Absorbância) de sementes de grão-de-bico.

Lotes	Germ. (%)	1ª Cont. (%)	IVG	MF (g)	MS (g)	Cond. ($\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$)	TZ(Viab.) (%)	TZ(Vigor) (%)	Absor. (nm)
3- 20-056 (Desi)	57 c	2 d	4,33 c	14,37 b	5,40 a	112,34 d	79 a	59 a	1,08 c
4- 20-031 (Desi)	38 d	29 c	1,79 d	6,09 d	2,42 b	171,82 a	51 b	31 b	0,71 d
1- Cristalino (Kabuli)	90 a	76 a	6,91 a	19,33 a	6,36 a	98,78 d	65 b	59 a	0,71 d
2- 20-006 (Desi)	50 c	8 d	3,07 c	10,10 c	4,36 a	160,27 a	57 b	46 b	1,26 b
5- Toro (Kabuli)	70 b	47 b	5,34 b	14,74 b	5,83 a	128,40 c	70 a	54 a	1,24 b
6- Aleppo New (Kabuli)	71 b	55 b	3,64 c	14,74 b	5,04 a	140,13 b	83 a	61 a	1,44 a
CV (%)	17,63	13,35	18,42	20,01	21,61	10,09	16,8	20,24	10,41

Médias seguidas pela mesma letra são consideradas iguais estatisticamente entre si de acordo o teste Scott-knott, ao nível de 5 % de probabilidade. Os dados foram transformados pela função.

Comparando os resultados de germinação, os dados mostraram que, houve diferenças significativas entre as linhagens do grupo Desi e as cultivares do grupo (Kabuli). A cultivar Cristalino do grupo Kabuli foi melhor, e a linhagem 20-031 do grupo Desi se mostrou pior, pelo tempo de armazenamento, pois na colheita os grupos se diferem quanto ao tempo de colheita sendo um colhido primeiro que o outro. Isso se deve ao tempo de armazenamento visto que a linhagem ficou mais tempo no campo até a colheita e o índice de velocidade de germinação (IVG), da mesma forma, houve maior velocidade de germinação na cultivar Cristalino, e menor na linhagem do grupo Desi. Mostraram-se intermediárias as cultivares Toro, Aleppo New e a linhagem 20-056. Conforme afirma (PARAÍSO *et al.*, 2019). Os índices de germinação e vigor diminuem significativamente após o armazenamento das sementes.

Na matéria fresca (MF), a cultivar Cristalino teve maior porcentagem no peso total devido ao desenvolvimento das plântulas terem sido melhores. Na matéria seca (MS), a linhagem 20-031 se desenvolveu pior, e as demais cultivares mostrou-se com bons teores de matéria seca após a secagem em estufa das plântulas. A capacidade de classificação dos lotes pelo IVE pode ser pelo fato que, segundo (MATTHEWS *et al.*, 2010), o aumento da deterioração das sementes pode ser expresso pela redução da velocidade de germinação, assim, diferenças no potencial fisiológico são detectadas pelos valores de IVE.

Na condutividade elétrica, a cultivar Cristalino mostrou-se melhor com menor valor na condutividade e as linhagens 20-031 e 20-006 do grupo Desi, apresentam maior condutividade, portanto lote com as sementes mais deterioradas e de menor viabilidade/vigor. De acordo (DIAS *et al.*, 2019) a condutividade elétrica indica o nível de vigor das sementes através da organização do sistema de membranas celulares com a germinação, que se inicia com a embebição da água disponível, para reativação do metabolismo das sementes armazenadas.

O teor de água das sementes influencia diretamente vários aspectos de sua qualidade fisiológica (MENDONÇA *et al.*, 2006). A determinação do teor de umidade inicial das sementes garante a confiabilidade dos testes de vigor, não havendo variação superior a dois pontos percentuais. MENDONÇA *et al.* (2006) verificaram que a absorção de água em sementes de mangaba-brava (*Lafoensia pacari*) no período de 48 horas por meio de imersão das sementes direta em água, foi suficiente para amolecer as sementes e proceder a retirada manual do tegumento sem que ocorresse fragmentação ou amassamento das

sementes. MENDONÇA *et al.* (2006), verificaram que o pré-condicionamento, seguido de corte lateral e imersão das sementes de *Leucena* em água a 30°C por uma hora, facilita a remoção do tegumento.

No teste de tetrazólio, em que é avaliado a viabilidade, as cultivares Aleppo New, Toro do grupo Kabuli e a linhagem 20-056 do grupo (Desi) também se desenvolveu melhor, em que foram bem coradas de vermelho porque todas as estruturas e tecidos vivos estavam bem estruturados. No Tetrazólio que avalia o vigor, no grupo (Desi) a linhagem que se destacou foi a 20-056, já no grupo (Kabuli) as cultivares Cristalino, Toro Aleppo New foram iguais estatisticamente.

Na absorvância, a cultivar Aleppo New se destacou como a melhor, em que o líquido ficou bem corado e os números matemáticos se distanciaram de zero. Com a redução do tetrazólio e formação do composto Trifenilformazan, há respiração celular nas mitocôndrias, o que significa que há viabilidade nas células e tecidos de acordo (FRANÇA-NETO E KRZYZANOWSKI, 2018). Portanto, a coloração resultante da reação é uma indicação positiva da viabilidade através da detecção indireta da respiração a nível celular. Tecidos não viáveis não reagem e conseqüentemente não são coloridos.

O maior potencial de germinação mensurado foi de 90%, sendo o menor de 34%. As cultivares de maior e de menor potencial fisiológico foram igualmente detectadas pelos testes de germinação, tetrazólio convencional e quantificação espectrofotométrica de Trifenilformazan. Os valores de Absorvância do Trifenilformazan apresentaram maior correlação com os percentuais de viabilidade, obtidos pelo teste convencional de tetrazólio. As cultivares de qualidade intermediária ou com potencial fisiológico similar apresentaram valores com maior ambigüidade ou até mesmo divergentes nos resultados obtidos nos testes de análise de qualidade de sementes considerados na pesquisa.

5. CONCLUSÃO

A quantificação do Trifenilformazan mostrou-se aplicável à determinação da viabilidade de sementes de cultivares de grão-de-bico de alta qualidade, embora, como nos demais testes, apresente ambiguidade para lotes de qualidade intermediária e similar.

6. REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**, 2017.

CARVALHO, S.; BIANCHETTI, L.; SILVA, P.; NASCIMENTO, W.; **Fenologia do grão-de-bico tipo Kabuli**. 1. ed. Brasília: Técnica, 2021. 4 p.

CARVALHO, S.; BIANCHETTI, L.; SILVA, P.; NASCIMENTO, W.; **Hortalças leguminosas**. 1. ed. Brasília: Técnica, 2016.

CLAUDIO CALIA, CATALDO PULVENTO, MOHAMED HOUSSEMEDDINE SELLAMI, LUIGI TEDONE, CLAUDIA RUTA, GIUSEPPE DE MASTRO. **A Bibliometric Analysis of Chickpea Agronomic Practices in the World During 45 Years of Scientific**. *Legume Science*, 2024, V6, p.n/a. <https://doi.org/10.1002/leg3.219>.

DIAS E LEÃO ARAÚJO. Potencial fisiológico de sementes de grão-de-bico. **Included in DOAJ, AGRIS, Latindex, Journal TOCs, CORE, Discoursio Open Science, Science Gate, GFAR, CIARDRING, Academic Journals Database and NTHRYS Technologies, Portal de Periódicos CAPES, CrossRef, ICI Journals Master List, V.13(12)**, 2020. <http://doi.org/10.36560/131220201159>.

DIAS L.B; QUEIROZ P.A; FERREIRA L.B; SANTOS W. V; FREITAS M. A; SILVA P. R; NASCIMENTO W. M; ARAÚJO E. F, **revista brasileira de ciências agrárias** v.14, n.2, 2019. DOI:10.5039/agraria.v14i2a5641

EGIDO, L. L. D.; NAVARRO-MIRÓ, D.; MARTINEZ-HEREDIA, V.; TOOROP, P. E.; LANNETTA, P. P. M. A Spectrophotometric Assay for Robust Viability Testing of Seed Batches Using 2,3,5-Triphenyl Tetrazolium Chloride: Using *Hordeum vulgare* L. as a Model. **Frontiers in Plant Science**, v. 16, 2017.

EMBRAPA. **Grão-de-bico: Crescimento do mercado externo no Brasil**, Brasília, DF, 2022>Acesso em 01/02/2025.

FRANÇA-NETO, J. B., KRZYZANOWSKI, F. C. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja**, Embrapa, Londrina, PR, 1 ed, 2018.

FRANÇA-NETO, J. B., KRZYZANOWSKI, F. C. Tetrazolium: an important test for physiological seed quality evaluation. **Journal of Seed Science**, Londrina, PR, v. 41, n. 3, p. 359-366, 2019.

HUMBERTO ALENCAR PARAÍSO, DELACYR DA SILVA BRANDÃO JUNIOR, RAMON IVO SOARES AVELAR, CÂNDIDO ALVES DA COSTA, LUAN SOUZA DE PAULA GOMES, WARLEY MARCOS NASCIMENTO. Adjustments in the tetrazolium test methodology for assessing the physiological quality of chickpea seeds. **Journal of Seed Science**, v.41, n.1, p.007-012, 2019. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v41n1187777>

IRISMAR CHAVES DE FARIAS SOUZA, MARIA ALICELMA GOMES DA SILVA, SANDRA CAÇÃO BELEZA DA SILVA, EMILI LIMA AMARO, SILVANE

MAZIERO MONGE, LUNA MARES LOPES DE OLIVEIRA. **Elaboração e composição nutricional de uma torta à base de grão-de-bico sem glúten**. Saber científico, v.8, n.2, 2019. Publicado (2021).

MENDONÇA, E.A.F; COELHO, M.F.B; LUCHESE, M. **Teste de tetrazólio em sementes de Mangava Brava, CUIABÁ, MT, 2006.**

NASCIMENTO, W.; **Hortaliças leguminosas**. 1.ed. Brasília, 2016.

OSCAR FONTÃO DE LIMA FILHO. **Artigo-Pulses e o grão-de-bico: Importante mercado mundial para o Brasil**. Embrapa Hortaliças, 2019>acesso em 07/05/2024.

OSCAR FONTÃO DE LIMA FILHO. **Grão-de-Bico: Tecnologias para agricultura familiar**. Embrapa Hortaliças, pdf, 2024>acesso em 28/01/2025.

QUEIROGA, V. P. **Grão de bico (Cicerarietinum L.):Tecnologias de plantio e utilização. 1ed.** / Organizadores Vicente de Paula Queiroga, Ênio Giuliano Girão, Esther Maria Barros de Albuquerque. – Campina Grande: AREPB, 2021. 199 f.: il. Color.