



Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Agrárias
Campus Regional Montes Claros



TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

AGRONOMIA

TRIFENILFORMAZAN POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS NA DETERMINAÇÃO
DE VIABILIDADE E VIGOR DE SEMENTES DE CULTIVARES DE TRIGO

WENDERSON RODRIGUES SANTOS

Montes Claros – MG
2025

Wenderson Rodrigues Santos

**TRIFENILFORMAZAN POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS NA
DETERMINAÇÃO DE VIABILIDADE E VIGOR DE SEMENTES DE CULTIVARES
DE TRIGO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de
agronomia da Universidade
Federal de Minas Gerais.

Orientador: Prof. Dr. Delacyr da Silva
Brandão Junior.

Montes Claros
2025

Wenderson Rodrigues Santos. **TRIFENILFORMAZAN POR ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS
NA DETERMINAÇÃO DE VIABILIDADE E VIGOR DE SEMENTES DE CULTIVARES DE
TRIGO**

Banca examinadora constituída por:

Rodrigo de Castro Tavares - ICA/UFMG

Josiane Cordeiro dos Santos- ICA/UFMG

Prof. Delacyr Silva Brandão Junior - Orientador ICA/UFMG

Montes Claros-MG
23 de janeiro de 2025

AGRADECIMENTOS

A UFMG e docentes, todo agradecimento pelos ensinamentos repassados durante a formação e a vida.

Ao professor Dr. Delacyr da Silva Brandão Junior, agradeço pela orientação e diligência no âmbito da aprendizagem.

Aos grupos de estudos, Sementec e Neprotec, pelo apoio com materiais, instalações e colaboradores.

A minha mãe e meu pai *in memoriam*, por apoiarem e acreditarem na formação como engenheiro agrônomo.

A minha esposa e filha, amigos e colegas, agradeço pelo apoio mútuo empregado em superar os impasses e tornar mais amistoso o processo da graduação

RESUMO

O trigo (*Triticum spp.*) é um dos alimentos mais consumidos no mundo, foi uma das primeiras plantas domesticadas pelo homem, tendo desempenhado um papel essencial no desenvolvimento das civilizações. Suas sementes, conhecidas pela longevidade e pela versatilidade de usos, foram fundamentais para a segurança alimentar ao longo da história. Este estudo teve como objetivo avaliar a eficiência da espectrofotometria UV-Vis como método rápido e confiável para determinar a viabilidade e o vigor de sementes de trigo. Diferentemente do teste de tetrazólio, que é subjetivo e exige conhecimento técnico especializado, a espectrofotometria permite uma análise quantitativa precisa, utilizando o trifênilformazan como marcador metabólico. O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes e no Laboratório de Química Instrumental do Instituto de Ciências Agrárias da UFMG, em Montes Claros, MG. O delineamento foi inteiramente casualizado, com esquema fatorial 3×2 (três cultivares × dois tipos de debulha: manual e mecanizada), usando quatro repetições de 25 sementes por tratamento. As variáveis analisadas incluíram porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação (IVG) e vigor, avaliados pelos testes de tetrazólio e de espectrofotometria. Os resultados mostraram que a espectrofotometria UV-Vis quantificou eficientemente o trifênilformazan, refletindo a atividade metabólica das sementes. A cultivar IPR foi mais sensível à debulha mecanizada, enquanto a cultivar BRS manteve desempenho estável em ambos os métodos. Conclui-se que a espectrofotometria é uma ferramenta prática e precisa, capaz de complementar os testes tradicionais na análise da qualidade fisiológica de sementes de trigo.

Palavras-chave: *Triticum.*; espectrofotometria UV-Vis; cereais; vigor; viabilidade; qualidade de sementes.

ABSTRACT

Wheat (*Triticum spp.*) is one of the most consumed foods in the world and has played a key role in the development of civilizations. Its seeds, known for their longevity and versatility, have been fundamental to ensuring food security throughout history. This study aimed to evaluate the efficiency of UV-Vis spectrophotometry as a fast and reliable method to determine the viability and vigor of wheat seeds. Unlike the tetrazolium test, which is subjective and requires specialized technical knowledge, spectrophotometry enables precise quantitative analysis by using triphenylformazan as a metabolic marker. The experiment was conducted at the Seed Analysis Laboratory and the Instrumental Chemistry Laboratory of the Institute of Agrarian Sciences, UFMG, in Montes Claros, MG, Brazil. The experimental design was completely randomized, in a 3×2 factorial scheme (three cultivars × two threshing methods: manual and mechanized), with four replicates of 25 seeds per treatment. The analyzed variables included germination percentage, germination speed index (GSI), and vigor, assessed by the tetrazolium and spectrophotometry tests. The results showed that UV-Vis spectrophotometry efficiently quantified triphenylformazan, reflecting the metabolic activity of the seeds. The IPR cultivar was more sensitive to mechanized threshing, while the BRS cultivar maintained stable performance across both methods. It is concluded that spectrophotometry is a practical and precise tool capable of complementing traditional tests in the analysis of the physiological quality of wheat seeds.

Keywords: *Triticum spp.*; UV-Vis spectrophotometry; cereals; vigor; viability; seed quality.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	10
2.1 A cultura do trigo.....	10
2.2 Teste de germinação de sementes.....	12
2.3 Teste tetrazólio	14
2.4 Espectrofotometria UV-VIS.....	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 Análises estatísticas	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	19
4.1 Método operacional e cultivares.....	20
4.1.1 Índice de Velocidade de Germinação (IVG)	20
4.1.2 Peso de Matéria Fresca e Seca (PMF e PMS)	21
4.1.3 Teste de Tetrazólio – (TZ Vigor e Viabilidade)	21
4.1.4 Teste de Absorbância Formazan (ABS)	22
4.2 Coeficiente de Variação (CV).....	22
5. CONCLUSÃO.....	23
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24

1. INTRODUÇÃO

O teste de germinação é um requisito essencial para a comercialização de sementes de trigo. Segundo as diretrizes de Brasil (2009), o período padrão para conduzir esse teste na cultura do trigo é de oito dias, entretanto, é importante observar que sementes recém-colhidas de trigo podem apresentar dormência, requerendo procedimentos específicos para superá-la. Isso pode resultar no prolongamento do período necessário para o teste de germinação (Carvalho et al., 2016).

De acordo com dados da Embrapa (2018), o teste tetrazólio é utilizado para determinar rapidamente a viabilidade de sementes, principalmente, daquelas que apresentam dormência, das espécies recalcitrantes e as que germinam lentamente em testes de rotina, determinar a viabilidade das sementes em amostras ou individualmente, quando no final do teste de germinação ocorrer uma alta porcentagem de sementes não germinadas.

A ausência de avaliação direta do vigor das sementes é uma limitação do teste de germinação, o que justifica a necessidade de testes complementares. O teste de germinação, conforme Brasil (2009), mede a capacidade das sementes de germinar e formar plântulas normais, independentemente do vigor. Entretanto, variáveis como o índice de velocidade de germinação (IVG), biometria e massa de plântulas, avaliadas concomitantemente, fornecem informações adicionais sobre o vigor das sementes. Já o teste de tetrazólio permite avaliar as condições do embrião, proporcionando uma análise rápida e eficaz da viabilidade e do vigor. Os diferentes níveis de viabilidade podem ser avaliados a olho nu ou com equipamentos simples, como lupas de bancada, analisadores portáteis de sementes ou microscópios estereoscópicos. No entanto, esse método exige conhecimento técnico detalhado da morfofisiologia das sementes. Além disso, é um processo trabalhoso, pois cada semente é avaliada individualmente, o que aumenta o grau de subjetividade.

Embora indispensável, o teste de germinação apresenta limitações na avaliação do vigor das sementes. O teste de tetrazólio, por sua vez, fornece informações úteis sobre viabilidade, mas apresenta limitações devido à subjetividade nos critérios de avaliação e ao tempo necessário para sua execução. Nesse cenário, a espectrofotometria UV-Vis surge como uma alternativa eficaz. Embora o foco desta pesquisa tenha sido a quantificação espectrofotométrica do trifenílformazan, é importante ressaltar que essa técnica possui aplicações amplas na química analítica. Na avaliação da qualidade fisiológica das sementes, destaca-se por ser um método simples, rápido e preciso, capaz de fornecer resultados consistentes sem depender de critérios subjetivos.

De acordo com Rocha et al. (2004), a espectrofotometria na região UV-VIS do espectro eletromagnético é uma das técnicas analíticas mais utilizadas, devido à sua robustez, custo relativamente baixo e ampla variedade de aplicações. Essa técnica é empregada para medir a absorção de luz por substâncias químicas, avaliando a intensidade da luz após a passagem através de uma solução. Cada composto apresenta um padrão característico de absorção ou transmissão de luz em determinada faixa de comprimento de onda, permitindo a identificação de componentes e a determinação da concentração de compostos em solução por meio de seus espectros característicos nas regiões do ultravioleta, visível ou infravermelho.

O trifenilformazan (TPF) é um composto gerado durante o teste de tetrazólio, que é amplamente utilizado para avaliar a viabilidade das sementes. Esse composto é formado pela redução do cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) pelas enzimas desidrogenases presentes em tecidos vivos das sementes. A formação de TPF é um indicativo direto de que as sementes estão metabolicamente ativas, ou seja, as células estão realizando processos respiratórios essenciais para a viabilidade. A presença de TPF, com sua coloração vermelha e insolubilidade, sinaliza que as sementes possuem atividade celular suficiente para sustentar a germinação e o desenvolvimento das plântulas. Dessa forma, o TPF não apenas serve como um marcador visual da viabilidade das sementes, mas também como uma ferramenta crucial para as análises da qualidade das sementes, auxiliando na determinação do seu potencial de crescimento sob condições adequadas (CRIPA et al., 2014; EMRANI et al., 2011).

O trifenilformazan (TPF) é um marcador confiável da viabilidade de sementes, formado quando o cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio (TTC) é reduzido pelas enzimas desidrogenases presentes nas células das sementes. A presença de TPF indica que as sementes estão metabolicamente ativas, sugerindo que são viáveis e têm potencial para germinar. O teste de tetrazólio, ao gerar TPF, permite avaliar rapidamente a qualidade fisiológica das sementes, refletindo sua capacidade de desenvolvimento e crescimento das plântulas (CRIPA et al., 2014; EMRANI et al., 2011).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da espectrofotometria UV-VIS na análise de viabilidade e vigor de sementes de diferentes cultivares de trigo com diferentes qualidades fisiológicas.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura do trigo

A história do trigo no Brasil reflete sua evolução econômica e social. Introduzido no período colonial, o cultivo ganhou força com a imigração europeia no século XIX, que trouxe novas técnicas e variedades adaptadas ao clima brasileiro (PIRES et al., 2011). Segundo Gomes Carmo, a cultura foi inserida pelas capitanias de São Vicente em 1534 e logo se espalhou por todo o País com a colonização. No Rio Grande do Sul, o trigo foi introduzido em 1737, com a chegada de imigrantes, tornando-se a principal cultura da região, seguida pelo milho, feijão, mandioca e arroz. Alguns anos depois, as exportações do cereal começaram aumentando sua importância e fazendo com que o estado fosse nomeado “o celeiro do Brasil”. A chegada da ferrugem em 1811 causou grandes danos às lavouras, impossibilitando o cultivo até 1823. A produção foi retomada somente no século XIX (CAFÉ et al., 2003; CAIERÃO et al., 2016; PIRES et al., 2011)

Considerando a importância histórica do trigo, seu cultivo acompanhou o avanço da agricultura e a evolução das sociedades humanas, especialmente da Antiguidade à modernidade. A cultura do trigo desempenha um papel importante para o desenvolvimento e sustentabilidade de pequenas e grandes propriedades da região Sul do Brasil, representando cerca de 87% da produção nacional, ou 4,5 milhões de toneladas de um total de 5,2 milhões de toneladas produzidas em 2019 (BRASIL, 2020b; CONAB, 2019). Estando ligado a sistemas de produção como na rotação de cultura em sucessão com a soja e milho no plantio direto. Elevar a competitividade na triticultura é de grande importância para o Brasil alcançar a autossuficiência na produção de trigo (BACALTCHUK, 1999).

A importância do trigo como cultura agrícola é indiscutível, executando um papel fundamental na dieta global. Além disso, o trigo também é largamente utilizado na indústria, servindo como matéria-prima para a produção de uma diversidade de produtos como colas e até medicamentos. Além do mais, é um ingrediente essencial em rações para animais de produção, contribuindo para a sustentabilidade e eficiência da indústria pecuária.

O trigo (*Triticum spp.*) é uma das commodities mais consumidas globalmente e desempenhou um papel crucial no desenvolvimento da civilização, devido ao seu alto valor nutricional e à sua ampla adaptabilidade a diferentes climas e solos. Como uma das principais fontes de calorias, o trigo possibilitou a formação de sociedades sedentárias, tornando-se essencial para o crescimento populacional e o estabelecimento de impérios e culturas antigas.

Ao longo da história, consolidou-se como um dos alimentos primordiais para a humanidade, especialmente após sua domesticação no Crescente Fértil, impulsionando o progresso da agricultura e da economia global. Embora apresente uma longa história de adaptação, o trigo enfrenta atualmente desafios relacionados à produtividade e à qualidade, requerendo atenção cuidadosa em todas as fases de sua produção e comercialização. Mesmo assim, o trigo continua sendo um dos principais componentes do vasto mercado global de commodities agrícolas, movimentando aproximadamente US\$ 40 bilhões de dólares em transações comerciais somente em 2022, de acordo com (FAO, 2022). De acordo com informações fornecidas pela Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 2022), o trigo é cultivado em mais de 100 países. Sua importância é inquestionável, uma vez que é essencial tanto nas dietas humanas quanto nas dietas animais, devido à sua alta densidade energética e ao seu conteúdo significativo de carboidratos e proteínas. Por não possuir um substituto direto que contenha todos os nutrientes essenciais, o trigo é crucial para garantir a segurança alimentar mundial, por essa razão é considerado o mais nobre entre os cereais.

A cultura do trigo chega ao Brasil junto aos colonizadores, marcando aproximadamente 500 anos desde sua introdução no país. Inicialmente estabelecida do centro ao norte, o trigo gradualmente migrou para o sul, encontrando condições climáticas e de solo mais propícias às suas necessidades, estabelecendo suas "raízes" no Rio Grande do Sul e Paraná (CUNHA, 2000). No século XX, a triticultura brasileira alcançou um estágio de maturidade em sua trajetória, consideravelmente em 1919, quando foram estabelecidas as primeiras estações experimentais dedicadas ao cultivo de trigo: Alfredo Chaves, em Veranópolis, Rio Grande do Sul, e Ponta Grossa, no Paraná.

Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), no período de 2009 a 2019, o Brasil destinou uma média de 2,2 milhões de hectares ao cultivo de trigo por safra, resultando numa produção média de 5,4 milhões de toneladas do grão, essa produção equivale a cerca de 50% do consumo anual registrado nesse intervalo de tempo, totalizando aproximadamente 11 milhões de toneladas (CONAB, 2019). A região Sul do país se destaca como a principal área de cultivo, sendo responsável por 87,3% da produção nacional de trigo (CONAB, 2019).

Projeções do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o Brasil deverá produzir 7,2 milhões de toneladas de trigo em 2028, com um consumo da ordem de 14,3 milhões de toneladas, assim sendo, para atendimento da demanda interna, seria necessário importar 7,3 milhões de toneladas de trigo (GASQUES et al., 2019).

Estudos, como o de Farias et al. (2016), indicam que o desenvolvimento da produção de

trigo no Cerrado brasileiro pode ser um caminho importante para alcançar a autossuficiência. Isso é especialmente viável por meio do cultivo de variedades adaptadas, desenvolvidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) e outras instituições de pesquisa. Entre 2010 e 2019, a produtividade média do trigo no Brasil foi de 2.523 kg/ha, com variações regionais: 2.492 kg/ha no Sul, 2.830 kg/ha no Sudeste e 3.186 kg/ha no Centro-Oeste. Considerando o potencial produtivo das regiões tradicionais e das áreas adaptadas à cultura, estima-se que a produção nacional possa ser quadruplicada em relação aos volumes da última década (CONAB, 2019).

Dada a significativa importância da cultura do trigo, ao longo dos anos foram adaptados testes e análises para avaliar diversos aspectos, incluindo a germinação das sementes, o índice de velocidade de germinação (IVG), bem como testes de vigor e qualidade fisiológica dessas sementes. Essas avaliações desempenham um papel importante na garantia da qualidade das sementes de trigo, fornecendo informações valiosas para os agricultores sobre a viabilidade e o potencial de crescimento das culturas

2.2 Teste de germinação de sementes

O objetivo do teste de germinação é determinar o potencial máximo de germinação de um lote de sementes, permitindo a comparação da qualidade entre diferentes lotes e auxiliando na definição da quantidade de sementes a ser utilizada na semeadura em campo. Embora o teste de germinação possa ser útil para avaliar a performance das sementes em condições naturais de cultivo, ele não é sempre eficiente devido às variações ambientais, o que pode comprometer a reprodutibilidade e a confiabilidade dos resultados. Testes realizados em laboratórios em condições controladas com fatores externos controlados, auxilia uma germinação mais regular, rápida e completa das amostras de sementes. Essas condições consideradas ótimas são padronizadas pela regra de análise de sementes RAS, para que os testes de germinação possam ser reproduzidos e comparados (BRASIL, 2009).

A germinação de sementes em testes laboratoriais refere-se ao desenvolvimento das estruturas essenciais do embrião, o que permite avaliar sua capacidade de produzir uma planta normal sob condições ideais de campo. Nos testes de laboratório, a porcentagem de germinação corresponde ao número de sementes que geraram plântulas classificadas como normais, dentro de condições controladas e dentro de um período determinado. Para que uma plântula seja considerada normal, é fundamental que apresente as estruturas essenciais, como sistema radicular, parte aérea, gemas terminais, cotilédones e coleóptilo. Plântulas normais são aquelas

que demonstram capacidade de se desenvolver e gerar plantas viáveis quando expostas a condições favoráveis. Este processo visa determinar o potencial fisiológico máximo das sementes, utilizando condições ótimas que atendem às necessidades específicas da espécie, permitindo uma avaliação precisa da qualidade fisiológica do lote. Já as plântulas anormais é o inverso das normais, não demonstra um potencial para continuar seu desenvolvimento e originar uma planta normal mesmo em condições favoráveis, (BRASIL, 2009).

As sementes que não germinam podem ser classificadas em três tipos: duras, dormentes e mortas. As sementes duras não absorvem água durante o teste, mantendo o aspecto de sementes recém-colocadas no substrato. As sementes dormentes, embora viáveis, não germinam, mesmo sob as condições ideais para a espécie; algumas podem absorver água, mas não germinam nem apodrecem até o final do teste. Já as sementes mortas são aquelas que não germinam e apresentam um aspecto amolecido, sem a rigidez das sementes duras ou a característica da dormência (BRASIL, 2009).

Diversos materiais podem ser utilizados como substrato, incluindo materiais como papel e areia são utilizados na condução dos testes.

Papeis que frequentemente são utilizados como substrato, papel mata borrão, papel toalha, e papel de filtro. devem ser compostos de fibra de madeira, de algodão ou de outra celulose vegetal purificada, deve possuir uma boa capacidade de retenção de água, assegurando assim a demanda de água pela semente, deve possuir também uma estrutura porosa e ser livre de impurezas que possam causar algum dano a análise, isento de fungos e bactérias que possam interferir no desenvolvimento da plântula. A esterilização pode ser utilizada para eliminar possíveis microrganismos que podem se desenvolver no processo de armazenagem, o pH do papel deve estar entre 6,0 a 7,5, exige uma resistência para não rasgar no seu manuseio, o tamanho das folhas do papel vai depender da finalidade do teste, sua textura deve facilitar com que as raízes cresçam sobre e não através do papel. O armazenamento deve ocorrer em ambiente arejado com umidade relativa baixa, deve estar protegido por embalagem a fim de proteger de poeira, umidade ou dano no manuseio e armazenagem (BRASIL, 2009).

A areia deve ser uniforme e livre de granulação muito pequena ou muito grande, uma padronização no tamanho é essencial, sendo padronizada em peneiras de orifícios de 0,8 mm de malha, e seja retida em outro orifício de 0,5 mm, deve estar isenta de sementes, fungos, bactérias ou substâncias tóxicas, que de algum modo interfira na germinação das sementes, o seu pH de variar entre 6,0 a 7,5, ter uma boa retenção de água é de grande importância, tendo em vista a disponibilidade necessária para suprir o desenvolvimento da plântulas, além de proporcionar uma boa aeração para um melhor desenvolvimento do sistema radicular. A areia

pode ser esterilizada antes do uso, visando eliminar possíveis microrganismos presentes, a areia e levada a autoclave a uma temperatura de 120°C em um período de 60 minutos, ou em estufa a 200°C durante duas horas, (BRASIL, 2009).

2.3 Teste tetrazólio

Ao longo dos tempos o desenvolvimento de testes rápidos para auxiliar na determinação da qualidade fisiológica das sementes, tem sido um dos principais objetivos dos pesquisadores da área de sementes.

O teste de tetrazólio consiste na atividade das enzimas desidrogenases que catalisam as reações durante a glicólise e o ciclo de Krebs. Estas enzimas principalmente a desidrogenase do ácido málico reduzem o sal de tetrazólio, 2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio, nos tecidos vivos, quando as sementes são colocadas na solução de tetrazólio, a mesma é propagada através dos tecidos, ocorrendo nas células vivas a reação de redução que resulta na formação de um composto vermelho, não-difusível conhecido por formazan. Devido ao alto custo do sal de tetrazólio sugere-se utilizar solução na concentração de 0,075%, (FRANÇA NETO et al., 1998).

Inicialmente prepara-se a solução estoque a 1,0%, misturando 10,0 gramas do sal de tetrazólio em 1,0 litro de água pura. Esta solução deve ser armazenada em frasco de vidro de cor âmbar, em local escuro e fresco. Quando necessário, prepara-se a solução de trabalho a 0,075%, que também deve ser armazenada com os mesmos cuidados da solução estoque, (FRANÇA NETO et al., 1998).

São fatores importantes para a realização de um teste de tetrazólio confiável, temperatura, tempo de embebição, tempo de exposição a solução, concentração de sal. Um dos principais parâmetros utilizados para avaliar vigor é a coloração dos tecidos vivos, sendo assim é essencial que a concentração do sal utilizado forneça uma melhor visualização dos tecidos corados, auxiliando em uma avaliação segura (FRANÇA NETO; KRZYZANOWSKI, 2018).

Em testes de germinação padrão em areia ou papel, a RAS indica a utilização de 400 sementes por amostra, ou seja, 8 repetições de 50 sementes. Já para o teste de tetrazólio recomenda-se o uso de 100 sementes, 2 repetições de 50. Esse número menor de sementes no teste de tetrazólio se da devido as condições homogêneas que são submetidas durante o preparo. Ao longo do processo de coloração é essencial que as sementes estejam completamente cobertas com a solução de tetrazólio e que não sejam expostas à luz, uma vez que a ação da luz ocasiona a redução do sal (BRASIL, 2009).

O sistema de classificação para sementes de milho e soja, estabelecido por Moore e Smith

(1956), qualifica cada semente individualmente em classes de 1 a 5 para sementes viáveis e de 6 a 8 para sementes não viáveis. A classificação leva em consideração a presença, localização e tipo de dano, além das condições físicas das estruturas embrionárias.

O teste de tetrazólio tem algumas vantagens como, possibilitar conhecer as condições internas do embrião, permite fazer uma avaliação rápida da viabilidade e vigor das sementes, podem ser avaliados diferentes níveis de viabilidade, diagnóstico da possível causa da queda de viabilidade, os equipamentos necessários podem ser simples e de baixo custo (ex: lamina, pinça, lupa circular) . Como limitações, requer um conhecimento técnico da parte fisiológica das estruturas da semente, é trabalhoso uma vez que as sementes são avaliadas uma a uma (EMBRAPA, 2018).

2.4 Espectrofotometria UV-VIS

A técnica de espectrofotometria uv-vis é utilizada para medir substâncias que está estabelecida diretamente entre concentração e quantidade de luz absorvida pelo grupo cromóforo, onde transcorre a transição para o estágio exercitado ou de maior energia. A absorção se dá pela mudança no momento dipolo elétrico das moléculas e resulta pela interação energia-matéria no grupo cromóforo que pode ser vibracional devido ao movimento relativo aos átomos consistentes na molécula ou rotacional devido à rotação da molécula em torno do eixo eletrônica, gerada pela configuração de elétrons na molécula (BARROS, 2014).

Tabela 01. Faixas de comprimento de onda de radiações eletromagnéticas.

Radiação eletromagnética	Faixa de comprimento de onda
Ultravioleta distante	100-200 nm
Ultravioleta	200-380 nm
Visível	380-780 nm
Infravermelho próximo	780-3000 nm

Fonte: Farmacopeia Brasileira, 2019.

A realização da técnica de espectrofotometria ocorre por meio de equipamentos identificados como espectrofotômetros. Estes aparelhos emitem radiação em comprimentos de onda específicos, e podem ser classificados como espectrofotômetros UV-VIS ou espectrofotômetros NIR, dependendo da faixa do espectro em que operam. Para a identificação

e quantificação do analito, é comum utilizar o espectrofotômetro UV-VIS. Este equipamento possui uma fonte de radiação, um seletor de comprimento de onda, um colimador (lente), um monocromador, um seletor de comprimento de onda, uma cubeta para inserção da amostra, um detector de radiação (fotocélula) e uma unidade de processamento de sinal (software), (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2019; ROSA et al., 2019)

3. MATERIAIS E MÉTODOS

As sementes utilizadas nesse presente trabalho foram fornecidas pelo Núcleo de Estudos em Produção e Tecnologia de Cereais (NEPROTEC), juntamente com a Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG). Proveniente de um experimento realizado do Instituto de Ciências Agrárias – ICA-UFMG. Experimento que teve como objetivo avaliar diferentes variedades de trigo com potencial de produção para o estado de Minas Gerais.

O experimento foi realizado no Laboratório de Análise de Sementes (LAS- ICA UFMG) e no Laboratório de Química Instrumental do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, Campus Montes Claros, MG.

Foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial 3X2, sendo 3 cultivares x 2 tipos de processamento de debulha das espigas, com 4 repetições de 25 sementes por tratamento. As cultivares de trigo são: Brilhante, IPR Catuara, BRS 264. Os processos de debulha foram de modo manual e mecanizado.

Foram realizadas avaliações da qualidade fisiológica utilizando os testes de germinação, primeira contagem de germinação, e teste de tetrazólio, com o objetivo de avaliar a viabilidade e o vigor das sementes. Para o teste de germinação, foram usadas 4 repetições, cada uma contendo 25 sementes por tratamento. O substrato utilizado foi o papel toalha especial para germinação de sementes (Germitest[®]), umedecido com água destilada em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do papel, este papel de germinação é isentos de detritos ou impurezas, fungos e bactérias. Após o preparo, os papéis com as sementes foram colocados em uma câmara BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio) a 20°C, mantendo-se sob luz constante.

As avaliações foram realizadas no 4° e 8° dias após o início do teste, e os resultados foram expressos em percentagem de sementes germinadas normais, anormais, sementes mortas e duras. Além disso, a germinação diária foi monitorada para o cálculo do Índice de Velocidade de Germinação (IVG), até sua estabilização. O teste seguiu as normas estabelecidas por BRASIL (2009).

No cálculo do IVG, foram consideradas as plântulas normais, aquelas que, até o 5° dia,

apresentaram protusão radicular. Para o cálculo do IVG, utilizou-se a fórmula proposta por Maguire (1962).

$$\text{IVG} = (G1/N1) + (G2/N2) + (G3/N3) + \dots + (Gn/Nn).$$

IVG = índice de velocidade de germinação.

G = número de plântulas germinadas no dia.

N = número de dias de semeadura.

Para a obtenção da massa fresca e seca das plântulas, ao longo do 8º dia de avaliação, as plântulas que apresentaram o sistema radicular e parte aérea, foram pesadas. Essas estruturas foram colocadas em sacos de papel e pesadas em uma balança de precisão de 0,0001 g para determinar a massa fresca. Após a pesagem da massa fresca, as amostras foram colocadas em uma estufa de circulação forçada a 65 °C até atingirem peso constante. Quando o peso se estabilizou, as amostras foram novamente pesadas na balança de precisão para determinar a massa seca.

Para realização do teste de tetrazólio convencional foram avaliadas quatro repetições de 25 sementes para cada tratamento, pré-embebidas em água a 30 °C, por 18 horas. Decorrido esse período, as sementes foram cortadas longitudinalmente com auxílio de pinça e bisturi. Em seguida foram colocadas em recipientes plásticos contendo solução de 0,075% de cloreto 2-3-5 trifênil tetrazólio e mantidas no escuro, por 4 horas, a 40°C (BRASIL, 2009).

Para a realização do teste de tetrazólio para a avaliação no espectrofotômetro, foram avaliadas quatro repetições de 25 sementes para cada tratamento, as sementes foram pré-embebidas em água pura a 25°C, por 18 horas, em seguida colocadas em solução de cloreto 2-3-5 trifênil tetrazólio de 2% por 4 horas, logo após a retirada do tetrazólio as sementes foram colocadas em álcool etílico P.A 95% de um dia para o outro, ocorrendo assim a absorção do formazan, podendo assim ser feita a avaliação da concentração de formazan na solução por leitura de absorbância.

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 foi computada como viáveis e não vigorosas, com sementes que resultarão em plântulas normais e a incolor indicou inviáveis, com sementes que resultarão em plântulas anormais ou sementes mortas. Os resultados foram expressos em percentagem de sementes viáveis e percentagem de sementes vigorosas. Após a avaliação visual da coloração, o sobrenadante foi vertido em cubeta de quartzo, diluído em 2 mL de etanol 95% e lido na absorbância 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 são considerados iguais à zero.

3.1 Análises estatísticas

Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste “F”, as médias comparadas pelo Teste de média Scott-Knott a 5% de significância com o auxílio do software R Studio. Para determinação dos intervalos de tempo de imersão em água, os dados foram submetidos a análise de regressão.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A debulha mecanizada impactou negativamente a qualidade fisiológica das sementes, com danos mais evidentes em determinadas cultivares. Conforme apresentado na Tabela 2, todas as cultivares sofreram redução na qualidade devido à mecanização. No entanto, a cultivar IPR mostrou maior suscetibilidade, enquanto as cultivares BRI e BRS demonstraram maior resistência aos danos mecânicos, conforme evidenciado nos testes de índice de velocidade de germinação e massa de plântulas.

Tabela 2. Tabela de dupla entrada: 8º Germinação: Germinação com 8 dias; 1º Contagem: 1º Contagem de sementes; IVG: Índice de velocidade de germinação; PMF: Peso de matéria fresca; PMS: Peso de matéria seca; TZ Vigor: Teste de tetrazólio/vigor; TZ Viabilidade: Teste de tetrazólio/viabilidade; ABS: Teste de formazan.

Variáveis	Debulha	Cultivares			CV (%)
		BRI	IPR	BRS	
8º Germinação (%)	Manual	91 Aa	100 Aa	98 Aa	6.97
	Mecanizada	94 Aa	66 Bb	94 Aa	
1ª Contagem (%)	Manual	70 Ab	99 Aa	98 Aa	8.5
	Mecanizada	72 Ab	63 Bb	97 Aa	
IVG (Índice)	Manual	8.16 Ab	10.91 Aa	12.07 Aa	8.73
	Mecanizada	8.78 Ab	6.88 Bc	10.51 Ba	
PMF (g)	Manual	3.79 Ab	4.57 Aa	4.08 Ab	7.56
	Mecanizada	3.80 Aa	2.38 Bb	3.71 Aa	
PMS (g)	Manual	0.81 Ab	1.07 Aa	0.92 Ab	12.2
	Mecanizada	0.76 Aa	0.77 Ba	0.71 Aa	
TZ. Viabilidade	Manual	95 Aa	100 Aa	99 Aa	5.35
	Mecanizada	99 Aa	67 Bb	97 Aa	
TZ. Vigor	Manual	94 Aa	100 Aa	99 Aa	5.78
	Mecanizada	99 Aa	67 Bb	95 Aa	
ABS (nn)	Manual	0.23 Ab	0.54 Aa	0.50 Aa	21.62
	Mecanizada	0.29 Ab	0.47 Aa	0.42 Aa	

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha pertencem ao mesmo agrupamento pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância.

Os aspectos fisiológicos avaliados pelos testes, como a viabilidade medida pelo tetrazólio e o vigor inferido pela massa de plântulas e índice de velocidade de germinação, destacam a interação entre a resistência das cultivares e o método de debulha. Todos os testes confirmaram que a debulha mecanizada resultou em uma maior proporção de sementes danificadas em relação à debulha manual, mas com variações na magnitude dos danos entre as cultivares. Isso reforça a necessidade de considerar as características fisiológicas específicas de cada cultivar ao selecionar métodos de processamento adequados, especialmente para minimizar perdas em cultivares mais sensíveis, como a IPR. A tabela 2 detalha esses resultados, permitindo uma análise comparativa entre as cultivares e os métodos de debulha.

4.1 Método operacional e cultivares

A cultivar IPR apresentou melhores resultados de germinação (8º dia) no método manual, enquanto houve um declínio acentuado no método mecanizado, destacando um possível efeito negativo do manejo mecanizado nesse cultivar.

A cultivar BRS manteve desempenho consistente, independentemente do método operacional, com alta germinação.

Segundo Amaral (2020), os testes de germinação com sementes de trigo, realizados de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), mostraram que a emergência das plântulas no campo pode ser subestimada em relação aos resultados desses testes, especialmente para sementes de alta qualidade. Por outro lado, sementes em deterioração exibiram resultados superestimados quando testadas por 90 minutos. Esse contraste ocorre porque os testes de germinação são feitos em condições ideais, favorecendo a expressão máxima dos atributos fisiológicos da semente, o que não se reflete nas condições do campo. Dessa forma, é interessante complementar a avaliação do vigor de sementes com demais testes, como tetrazólio e trifetil formazan, permitindo visualizar com mais segurança a qualidade das sementes.

4.1.1 Índice de Velocidade de Germinação (IVG)

O Índice de Velocidade de Germinação (IVG) variou conforme o método de beneficiamento utilizado. O processo manual favoreceu as cultivares IPR e BRS, enquanto a mecanização teve um efeito negativo na cultivar IPR. Esse impacto pode estar relacionado à sensibilidade das cultivares ao processo de debulha, que pode danificar as sementes,

especialmente aquelas mais vulneráveis.

Cada cultivar possui características específicas de resistência a estresses, como déficit hídrico, que afetam a expressão de seus atributos fisiológicos. Abati et al. (2014) observaram que, mesmo sob estresse hídrico induzido por diferentes potenciais osmóticos (KCl a -0,4, -0,8 e -1,2 MPa), a germinação das sementes da cultivar CD 116 não foi alterada. No entanto, a velocidade de germinação e o crescimento das plântulas diminuíram. Isso indica que, apesar de a germinação ser mantida, o IVG pode ser reduzido por fatores como estresse hídrico ou danos durante o beneficiamento.

Assim, a variação no IVG entre as cultivares pode ser explicada pela interação entre a qualidade das sementes, a resistência a estresses e o método de beneficiamento. Sementes vigorosas, mas danificadas durante a debulha, podem apresentar um desempenho inferior no IVG. Isso reforça a importância de analisar esses resultados junto a outros testes de qualidade fisiológica.

4.1.2 Peso de Matéria Fresca e Seca (PMF e PMS)

A cultivar IPR obteve maior peso de matéria fresca no método manual, mas foi significativamente afetada pela mecanização.

A cultivar BRI apresentou menor diferença entre os métodos, sugerindo maior tolerância à mecanização.

Segundo o autor (LOPES, 2011), o método manual e mecanizado afetaram o peso de matéria seca de sementes de soja, sendo visualizado também nos testes de germinação, destacando-se a colheita manual, com a percentagem mais alta, relacionando-se ao vigor, sendo visual a influência significativa para a primeira contagem; envelhecimento e condutividade elétrica, quando compara-se o método manual com o mecânico, sendo os danos mecânicos expressos pelo teste de tetrazólio, demonstrando os menores resultados de injúrias na colheita manual.

4.1.3 Teste de Tetrazólio – (TZ Vigor e Viabilidade)

A cultivar IPR novamente foi favorecida no método manual, com a viabilidade e o vigor caindo substancialmente no método mecanizado. A cultivar BRS manteve resultados estáveis entre os métodos.

Trabalhos com teste de tetrazólio em trigo na avaliação do vigor e formação de classes na

qualidade de sementes de trigo cultivar BRS Tangará, demonstrando a eficiência do teste, sobretudo quando realizada a imersão de uma metade da semente na solução de tetrazólio a 0,075%, a 40 °C por 2 horas, utilizando a metodologia de bissecção longitudinal ao longo do embrião (CARVALHO et al., 2013).

No trabalho do autor, foram estabelecidas as seguintes quatro classes de sementes: viáveis e vigorosas, viáveis e não vigorosas, não viáveis e mortas. Com isso, é possível avaliar a qualidade fisiológica, assim como o vigor de sementes por meio do teste de tetrazólio, relacionando com trabalho, é possível correlacionar com a avaliação realizada em detrimento ao favorecimento das cultivares aos métodos manuais e mecanizados de sementes de trigo.

4.1.4 Teste de Absorbância Formazan (ABS)

Os valores mais elevados de absorbância (ABS) foram observados no método manual para as cultivares IPR e BRS, indicando maior vigor metabólico.

As análises realizadas por meio do teste de espectrofotometria UV-Vis, indicaram diferentes teores de absorção de clorofila nos extratos das folhas, quando comparados ao controle padrão, que é o verde brilhante. Este padrão apresenta dois picos principais de absorção, sendo o primeiro em 450 nm e o segundo em 570 nm, valores que estão dentro dos parâmetros estabelecidos pela literatura. Ao comparar os dados do padrão com os obtidos dos solventes utilizados, observa-se que o extrato aquoso começa a absorver clorofila em um comprimento de onda de 235 nm, alcançando seu maior pico de absorção em 350 nm. Esse comportamento pode estar relacionado à absorção parcial da água, que retira parcialmente os pigmentos com maior afinidade pelo meio aquoso, facilitando seu arraste. (Mussi et al., 2003; Porra, 1989).

4.2 Coeficiente de Variação (CV)

Valores baixos de CV (5-12%) nas principais variáveis indicam boa precisão experimental, exceto para o teste ABS (21,62%), que apresenta maior variabilidade.

Dessa forma, os dados indicam que a cultivar IPR é sensível à mecanização, especialmente em relação à germinação, vigor e viabilidade. Por outro lado, a cultivar BRS demonstrou ser robusta em ambas as condições operacionais. O método manual promove maior qualidade fisiológica para as sementes de IPR e menor grau para as de BRS.

5. CONCLUSÃO

O teste de trifenílformazan por espectrofotometria UV-Vis mostrou-se eficiente na avaliação da viabilidade e do vigor de sementes de trigo, oferecendo uma alternativa rápida e objetiva aos métodos tradicionais. Este método destacou-se pela capacidade de identificar diferenças metabólicas e fisiológicas entre cultivares e pelas informações consistentes para melhorar o manejo e o beneficiamento de sementes. Assim, conclui-se que a espectrofotometria UV-Vis é uma ferramenta promissora para análise de qualidade fisiológica de sementes de trigo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABATI, J. et al. Qualidade fisiológica de sementes de trigo tratadas com biorregulador em condições de restrição hídrica. 2014. Disponível: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1021757>. Acesso em: 8 jan. 2025.

AMARAL, A. dos S.; PESKE, S. T. A avaliação rápida da qualidade fisiológica de sementes de trigo. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.6 no .1. 2000. Disponível em: <<https://periodicos.ufpel.edu.br/index.php/CAST/article/view/298/293> >. Acesso em: 23 maio 2024.

BACALTCHUK, B. Trigo nacional, um produto estratégico. **Revista de Política Agrícola**, v. 8, n. 3, p. 1-4, 1999.

BAUMGRATZ, E. I. et al. Produção de trigo: A decisão por análise econômico-financeira. **Revista de Política Agrícola**, v. 26, n. 3, p. 8-21, 2017.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**.6ª ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2019, v.1, p.1-1504 Disponível em: <<http://bibliotecadigital.anvisa.ibict.br/jspui/handle/anvisa/140>> Acesso em: 22 nov. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. Disponível em: <<https://repositorio-dspace.agricultura.gov.br/bitstream/doc/14047/1/regras-analise-sementes.pdf>>. Acesso em: 23 maio 2024.

CAFÉ, S. L.; FONSECA, P. S. M. D.; AMARAL, G. F.; MOTTA, M. F. D. S. R.; ROQUE, C. A. L.; ORMOND, J. G. P. Cadeia produtiva do trigo. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 18, p. 193-219, set. 2003.

CAIERÃO, E. et al. 1 Origem, Evolução e Melhoramento Genético. **Coleção 500 Perguntas 500 Respostas**, p. 15, 2016.

CARVALHO, T. C. de. Viabilidade e vigor de sementes de trigo estimados pelo teste de tetrazólio. 2013. 97 f. Tese (Doutorado em Agronomia – Produção Vegetal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013. Disponível em:

<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/968709/1/Testedetetrazolioemtrigovigoreclassesdesementes.PDF>. Acesso em: 8 jan. 2025.

CRIPA, F. B. et al. Tetrazolium test for viability estimation of *Eugenia involucrata* DC. and *Eugenia pyriformis* Cambess. seeds. **Journal of Seed Science**, v. 36, p. 305-311, 2014.

COIMBRA, R. de A. et al. Teste de germinação com acondicionamento dos rolos de papel em sacos plásticos. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, p. 92-97, 2007.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento safra brasileira de grãos, safra 2018/19**, v. 6, n. 10, p. 1-113, 2019.

DA SILVA, R. A. et al. Determinação do teor de clorofila dos extratos das folhas de *Piper marginatum* Jacq coletadas em Itacoatiara por meio da espectrofotometria UV-Vis. **Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro**, v. 4, n. 1, 2024.

DE SOUZA, R. G.; VIEIRA FILHO, J. E. R.. **Produção de trigo no Brasil: Indicadores regionais e políticas públicas**. Texto para Discussão, 2020.

EMRANI, S. N.; ARZANI, A.; SAEIDI, G. Seed viability, germination and seedling growth of canola (*Brassica napus* L.) as influenced by chemical mutagens. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 59, p. 12602-12613, 2011.

FAO. The State of Food Security and Nutrition in the World: Repurposing Food and Agricultural Policies to Make Healthy Diets More Affordable. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2022. <<https://www.fao.org/publications/home/fao-flagship-publications/the-state-of-food-security-and-nutrition-in-the-world/2022/en>>. Acesso 15 Dez. 2024.

FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F.C.; COSTA, N.P. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: Embrapa-CNPSO, 1998. 72p. (Embrapa-CNPSO, Documentos, 116).

FRANÇA NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2018. 108 p. (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 2176-2937; n. 406).

GARCIA, E. B. et al. Imagens digitalizadas na avaliação do teste de tetrazólio em sementes de trigo. In: **Colloquium Agrariae**. ISSN: 1809-8215. 2020. p. 67-78.

GUEDES, R. S. et al. Testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes *Erythrina velutina* Willd. (*Fabaceae-Papilionoideae*). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, p. 1360-1365, 2009.

LOPES, M. de M. et al. Efeitos dos danos mecânicos e fisiológicos na colheita e beneficiamento de sementes de soja. **Bioscience Journal**, p. 230-238, 2011.

MAZOYER, M.; ROUDART, L. História das agriculturas no mundo: do neolítico à crise contemporânea. São Paulo: Editora UNESP, 2010. 568 p.

RIBEIRO, M. W. R. Desenvolvimento e validação de método analítico para quantificação do teor dissolvido de olanzapina comprimido revestido por espectrofotometria de absorção ultravioleta/visível (UV/VIS). 2022. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

ROCHA, F. R. P; TEIXEIRA, L. S. G. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. **Química nova**, v. 27, p. 807-812, 2004.

SCHEEREN, P. L. et al. Melhoramento de trigo no Brasil. In: PIRES, J. L. F.; VARGAS, L.; CUNHA, G. R. (Ed.). **Trigo no Brasil: bases para produção competitiva e sustentável**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2011. Cap. 17, p. 427-452.

SOUZA, R. G. de et al. Produção de trigo no Brasil: Análise de políticas econômicas e seus impactos. **Revista de Política Agrícola**, v. 30, n. 2, p. 45, 2021.

VALÉRIO, I. P. et al. Fatores relacionados à produção e desenvolvimento de afilhos em trigo. **Semina: ciências agrárias**, v. 30, n. 4Sup1, p. 1207-1218, 2009.

WEISER, J. V. et al. Avaliação do vigor em sementes de trigo pelo teste de tetrazólio em função da concentração do sal. **XXVII Congresso de Iniciação Científica**, UFPEL, 2018.