

Faculdade Nilo De Stéfani
Trabalho de Graduação

CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA “PAULA SOUZA”
FACULDADE NILO DE STÉFANI DE JABOTICABAL - SP (Fatec-JB)
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM BIOCOMBUSTÍVEIS

**TESTE DE TETRAZÓLIO PARA DETERMINAÇÃO DA QUALIDADE DAS
SEMENTES DE AMENDOIM**

TATIANE BATISTA BASAGLIA

PROF.(A) ORIENTADOR(A): DR. EDILENE DEISE DA SILVA FERRACINE

PROF.(A) COORIENTADOR(A): MS. RITA DE CASSIA VIEIRA

JABOTICABAL, S.P.

2024

TATIANE BATISTA BASAGLIA

**TESTE DE TETRAZÓLIO PARA DETERMINAÇÃO DA QUALIDADE DAS
SEMENTES DE AMENDOIM**

Trabalho de graduação (TG) apresentado à Faculdade de Tecnologia Nilo De Stéfani de Jaboticabal (Fatec-JB), como parte dos requisitos para a obtenção do título de Tecnóloga em **Biocombustíveis**.

Orientadora: Profa. **Dr. Edilene Deise da Silva Ferracine**

Coorientadora: Profa. **Ms. Rita de Cassia Vieira**

JABOTICABAL, S.P.

2024

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Basaglia, Tatiane Batista

Teste de Tetrazólio para determinação da qualidade das sementes de amendoim/ Tatiane Batista Basaglia — Jaboticabal: Fatec Nilo de Stéfani, Ano.

xpp.

Orientador: Edilene Deise da Silva Ferracine

Coorientador: Rita de Cassia Vieira

Trabalho (graduação) – Apresentado ao Curso de Tecnologia em Biocombustíveis, Faculdade de Tecnologia Nilo de Stéfani - Jaboticabal, 2024.

1. Arachis hypogaea. 2. Qualidade. 3. Semente. 4. Teste de tetrazólio. I. Basaglia, T. B. II. Teste de Tetrazólio para determinação da qualidade das sementes de amendoim.

TATIANE BATISTA BASAGLIA

**TESTE DE TETRAZÓLIO PARA DETERMINAÇÃO DA QUALIDADE DAS
SEMENTES DE AMENDOIM**

Trabalho de Graduação (TG) apresentado à Faculdade de Tecnologia Nilo de Stéfani de Jaboticabal (Fatec-JB), como parte dos requisitos para a obtenção do título de Tecnóloga em **Biocombustíveis**.

Orientador: Dr. Edilene Deise da Silva Ferracine

Coorientador: Ms. Rita de Cassia Vieira

Data da apresentação e aprovação: 17/06/2024.

MEMBROS COMPONENTES DA BANCA EXAMINADORA

Presidente e Orientador: Dr. Edilene Deise da Silva Ferracine

Faculdade de Tecnologia Nilo de Stéfani de Jaboticabal (Fatec-JB)

Segundo membro da banca examinadora: Dr. Tadeu Tomio Sudo

Faculdade de Tecnologia Nilo de Stéfani de Jaboticabal (Fatec-JB)

Terceiro membro da banca examinadora: Mario C. S. dos Santos

Faculdade de Tecnologia Nilo de Stéfani de Jaboticabal (Fatec-JB)

Local: Faculdade de Tecnologia Nilo de Stéfani de Jaboticabal (Fatec-JB)

Jaboticabal – SP – Brasil

TESTE DE TETRAZÓLIO PARA DETERMINAÇÃO DA QUALIDADE DAS SEMENTES DE AMENDOIM

Tetrazolium test to determine the quality of peanut seeds

Tatiane Batista Basaglia^I
Edilene Deise da Silva Ferracine^{II}

RESUMO

O estado de São Paulo é responsável por 92,8% de toda a produção de amendoim (*Arachis hypogaea*) no país, produção que cresce cada vez mais. Com isso, é preciso investir em produção com qualidade. O grande pilar é a semente, por isso do teste de tetrazólio, esse teste visa a diferenciação de sementes viáveis de sementes não viáveis. As sementes viáveis produzem plântulas normais no teste de germinação, já as sementes não viáveis, podem ter um desenvolvimento anormal do embrião ou de outra estrutura essencial. Esse trabalho objetivou demonstrar como o teste é realizado e a discussão do tratamento do resultado no controle de qualidade das sementes de amendoim, uma vez que uma semente de qualidade impacta na produtividade. Foram realizados dois testes, um teste foi denominado como amostra A e o outro teste como amostra B, cada amostra tinha duas repetições e cada repetição continha 50 sementes. A partir desse trabalho podemos observar que é possível fazer uma pré-avaliação das condições fisiológicas da semente após a colheita e em sementes dormentes, no entanto para garantir a aprovação de um lote para comercialização é necessário realizar o teste de germinação.

Palavras-chave: *arachis hypogaea*, qualidade, semente, teste de tetrazólio.

^I Dados do autor: Discente do curso de Biocombustíveis da Faculdade de Tecnologia Nilo de Stéfani de Jaboticabal (Fatec-JB), email: tatianibb@hotmail.com

^{II} Dados do autor: Docente da Faculdade de Tecnologia Nilo de Stéfani de Jaboticabal (Fatec-JB), e-mail: edilene.ferracine@fatec.sp.gov.br

ABSTRACT

The state of São Paulo is responsible for 92.8% of all peanut (*Arachis hypogaea*) production in the country, a production that is growing more and more. Therefore, it is necessary to invest in quality production. The main pillar is the seed, hence the tetrazolium test, this test aims to differentiate viable seeds from non-viable seeds. Viable seeds produce normal seedlings in the germination test, while non-viable seeds may have abnormal development of the embryo or other essential structure. This work aimed to demonstrate how the test is carried out and discuss the treatment of the result in the quality control of peanut seeds, since a quality seed impacts productivity. Two tests were carried out, one test was called sample A and the other test was called sample B, each sample had two repetitions and each repetition contained 50 seeds. From this work we can observe that it is possible to pre-evaluate the physiological conditions of the seed after harvest and in dormant seeds, however, to guarantee the approval of a batch for commercialization it is necessary to carry out the germination test.

Keywords: *arachis hypogaea*, quality, seed, tetrazolium test

Data de submissão do artigo: __/__/2024. [data de data de protocolo na secretaria acadêmica.](#)
Data de aprovação do artigo: __/__/2024 [data de aprovação na banca examinadora.](#)

1 INTRODUÇÃO

Todo ano a produção de amendoim cresce, na safra de 2014/2015 a quantidade produzida foi de 346,8 mil toneladas, já na safra de 2021/2022 foram produzidas 746,7 mil toneladas, ou seja, aumento de mais de 100%. Um dos fatores que contribuíram para esse aumento expressivo na produção, foi o aumento de áreas plantadas (Conab, 2022).

O estado de São Paulo se consagra como o maior produtor de amendoim do país, sendo responsável por 92,8% da produção nacional. Essa grande produção do estado se deve ao fato do amendoim ter deixado de ser uma cultura secundária, sendo muitas vezes a cultura principal do produtor (Conab, 2022).

Cerca de 70% da produção do amendoim no país é exportada para os mais diversos países do mundo. Os países da União Europeia são grandes compradores do amendoim brasileiro, outros países também são grandes importadores, como a Rússia, Ucrânia, Reino Unido, Colômbia, África do Sul e México (Conab, 2022).

O cultivo do amendoim se dá em algumas regiões do estado de São Paulo, tradicionalmente o grão era cultivado na região de Ribeirão Preto e Jaboticabal, mas atualmente a região de Marília e Tupã também são grandes produtoras (Conab, 2022).

Para que o amendoim tenha uma boa produtividade, é essencial implementar controles de qualidade rigorosos, especialmente no fator principal que é a semente. A qualidade das sementes impacta diretamente a germinação, o crescimento inicial das plantas e, conseqüentemente, o rendimento final da colheita. Um método amplamente utilizado para garantir essa qualidade é o teste de tetrazólio. Este teste é um grande aliado da qualidade, uma vez que fornece informações detalhadas sobre a viabilidade das sementes, incluindo o vigor (Seed, 2021).

Em 1922, na Iugoslávia, Turina fez história e marcou o início das tentativas de avaliação da viabilidade de sementes com bio-corantes. Seu método foi a redução de sais de telúrio e de selênio nas células das sementes, o que com o decorrer do tempo foi sendo aperfeiçoado (Seed, 2021).

Um desses aperfeiçoamentos ocorreu na Alemanha, também na década de 20. O Dr. Georg Lakon percebeu que o selênio poderia ser tóxico aos analistas de sementes, então procurou por um sal similar que poderia ser utilizado no lugar do selênio, chegando assim, no sal de tetrazólio, mais especificadamente o cloreto de 2,3,5-trifenil tetrazólio (Seed, 2021).

Para as sementes de amendoim houve uma publicação pela ABRATES referente ao teste de tetrazólio em 1999. No ano de 2020 teve o lançamento da segunda edição do manual (Seed, 2021).

A análise de qualidade relacionada ao teste de tetrazólio foi publicada pela ABRATES em 1999 e em 2020 houve uma atualização da versão do manual.

O teste de tetrazólio não é só realizado na cultura do amendoim, mas também nas culturas de soja, algodão, feijão, girassol, entre muitas outras (Seed, 2021).

O presente trabalho tem como objetivo demonstrar como o teste é realizado e a discussão do tratamento do resultado no controle de qualidade das sementes de amendoim, uma vez que uma semente de qualidade impacta na produtividade.

2 REVISÃO BILIOGRÁFICA

A atividade respiratória nas células que compõem os tecidos das sementes é determinada indiretamente através do teste de tetrazólio (Neto; Krzyzanowski, 2018).

No teste de tetrazólio as sementes são embebidas em uma solução in-color de 2,3,5 trifetil cloreto ou brometo de tetrazólio, solução essa que é indicadora do processo de respiração. Durante a respiração dos tecidos vivos ocorre a liberação de íons H^+ e uma interação com o tetrazólio, sendo reduzido a um composto vermelho. Essa reação acontece no interior das células vivas então o composto não se difunde, sendo assim acontece duas situações, ou acontece a nítida separação dos tecidos vivos e coloridos que respiram, ou os tecidos não colorem (tecidos mortos) (Damasceno; et al. 2015).

A formação desse composto vermelho é estável e não-difusível, ela é conhecida como trifetilformazan (Neto; Krzyzanowski, 2018).

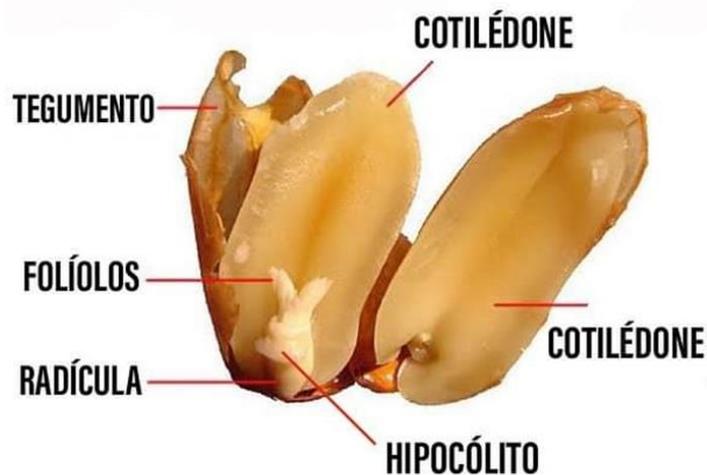
O trifetilformazan é um indicativo de atividade respiratória nas mitocôndrias, a partir dele é detectado a viabilidade celular e do tecido (Peters, 2007). Quando existe uma indicação positiva da viabilidade que se dá pela detecção da respiração a nível celular é através de uma coloração. Se os tecidos não são viáveis eles não reagem, ou seja, não são coloridos (Neto; Krzyzanowski, 2018).

A semente é fator essencial para o sucesso da planta, uma vez que as características morfológicas, fisiológicas e bioquímicas dela interferem. Não se pode deixar de mencionar também o tempo, o lugar e vigor da plântula jovem que estão relacionadas com o sucesso da semente (Cesad, 2012).

O tegumento da semente tem um papel de proteção da mesma, uma vez que é considerado como uma barreira física entre o embrião e o meio externo (Seed, 2023).

A seguir está a Figura 1 para um melhor entendimento da estrutura da semente de amendoim.

Figura 1. Estrutura da semente de amendoim



Fonte: <<http://www.facebook.com.br/amendoimbrasil>>. Acesso em: 27 abr. 2024.

3 METODOLOGIA DA PESQUISA

Para um melhor entendimento do método de análise do teste de tetrazólio será apresentado como o teste é realizado. A variedade da semente analisada foi a IAC 503.

Dessa variedade de semente foram analisados dois lotes diferentes nomeados de amostra A e amostra B. Tanto a amostra A quanto a B foram analisadas em duplicata.

Inicialmente, as sementes foram debulhadas manualmente. Na amostra A foi utilizada um total de 100 sementes, porém a análise é dividida em duas repetições, sendo a primeira repetição 50 sementes e a segunda repetição 50 sementes. O mesmo procedimento foi seguido para a amostra B.

3.1 Realização do teste de tetrazólio

Após realizar o processo da debulha e separação das repetições, os copos descartáveis (Figura 2) são colocados em uma bandeja coberta com papel umedecido de germinação e saco plástico para garantir a umidade. É importante ressaltar que são pré-condicionadas por 16 horas a 30 graus na BOD. A estufa incubadora BOD é utilizada para incubar testes de longa duração de DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) ou BOD (Biochemical Oxygen Demand). Esse processo é feito para amolecer o tegumento e facilitar sua retirada.

Figura 2. Sementes de amendoim acondicionadas no copo descartável.



Fonte: autoria própria.

Passados essas 16 horas é feito então a retirada do tegumento das sementes (Figura 3) e são cortadas longitudinalmente com auxílio de um bisturi, depois são colocadas em forminhas de gelo onde é facilitada por conta das divisões (Figura 4). Após isso é colocada a solução do sal de tetrazólio e é colocada novamente na BOD por 2 horas a 40 graus.

Figura 3. Amendoim sem o tegumento da semente.



Fonte: autoria própria.

Figura 4. Sementes cortadas longitudinalmente.



Fonte: autoria própria.

3.2 Preparo da solução do sal de tetrazólio

A solução usada no teste de tetrazólio precisa passar por um preparo antes de seu uso. Inicialmente é feito uma solução que é chamada de solução estoque, ela é composta por 7,5 g de sal de tetrazólio diluída em um litro de água destilada. É importante ressaltar que o pH da solução deve estar em 6,5 – 7,5 e o armazenamento entre 4°C e 10°C.

No momento do teste, foram diluídos 100 ml da solução estoque em 900 ml de água destilada, que no caso, agora recebe o nome de solução de trabalho. A solução de trabalho segue os mesmos padrões da solução de estoque em relação a pH e temperatura de armazenamento.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nessa seção serão apresentados os resultados obtidos do teste e a discussão sobre os resultados obtidos. Os resultados das análises se encontram nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Dados da contagem das duas repetições realizadas na amostra A

	1º repetição	2º repetição
Viáveis	30	32
Não Viáveis (mortas)	20	18

Fonte: autoria própria

Na amostra A, podemos observar que na 1º repetição das 50 sementes que foram utilizadas, 30 sementes são viáveis e 20 não viáveis (mortas), já na 2º repetição 32 sementes são viáveis e 18 não viáveis (mortas), sendo o resultado desta análise 62% sementes viáveis e 38% sementes mortas, apesar da porcentagem de sementes viáveis ser superior a porcentagem de sementes mortas, essa amostra não pode ser classificada como uma amostra viável.

Nas figuras 5 e 6 são apresentadas as imagens referentes a coloração das sementes apresentadas depois do teste de tetrazólio.

Figura 5. Coloração das sementes apresentadas após o teste da Amostra A – 1º repetição.



Fonte: autoria própria.

Figura 6. Coloração das sementes apresentadas após o teste da Amostra A – 2º repetição.



Fonte: autoria própria.

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados apresentados para a amostra B que passou pelos mesmo tratamentos que a amostra B.

Tabela 2. Dados da contagem das duas repetições realizadas na **Amostra B**

	1º repetição	2º repetição
Viáveis	7	4
Não Viáveis (mortas)	43	46

Fonte: autoria própria

Na amostra B, observamos que houve um percentual maior de sementes mortas em relação a amostra A. A 1º repetição da amostra B teve um resultado de 7 sementes viáveis e 43 mortas, e na 2º repetição 4 sementes viáveis e 46 mortas, sendo o resultado desta amostra 11% sementes viáveis e 89% sementes mortas, o que nos mostra o baixo vigor desta amostra por obter mais sementes mortas.

Com o teste de tetrazólio é possível diferenciar as sementes viáveis das sementes não viáveis, essa diferenciação se dá através da coloração da semente e da sanidade dos tecidos.

As sementes viáveis são sementes que conseguem produzir plântulas normais no teste de germinação. Em relação a coloração, quando ocorre a coloração completa ou parcial da semente também indica que a semente é viável (Brasil, 2009).

Já as sementes não viáveis são as sementes que são o oposto das viáveis, elas também podem ter um desenvolvimento anormal do embrião ou de outra estrutura essencial (Brasil, 2009).

Na Figura 7, podemos observar que do lado esquerdo se encontram as sementes viáveis e do lado direito estão as sementes não viáveis do teste.

Figura 7. Coloração das sementes apresentadas após o teste da amostra B – 1º repetição.



Fonte: autoria própria.

Figura 8. Coloração das sementes apresentadas após o teste da amostra B – 2º repetição.



Fonte: autoria própria.

Podemos destacar que após a análise dos resultados da amostra A e B obtidos no teste de tetrazólio que a amostra A apresenta uma porcentagem de viabilidade de emergência maior do que a amostra B.

Apesar de existir algumas desvantagens do teste de tetrazólio, como o fato de requerer um treinamento especial para o colaborador que executa a tarefa, as vantagens são superiores (Seed, 2021).

Algumas das vantagens que se pode citar é que como as sementes são avaliadas individualmente, é possível focar uma atenção especial nas condições físicas e fisiológicas do embrião das sementes; a viabilidade e o vigor podem ser identificados em vários níveis; problemas relacionados com a redução do potencial fisiológico conseguem ser diagnosticados; a dormência da semente não afeta o teste de tetrazólio; sem falar no fato de que um analista de sementes experiente consegue ter um alto rendimento de amostras realizadas no decorrer do expediente e de que os equipamentos necessários para os teste são simples e barato (Seed, 2021).

A qualidade da semente impacta profundamente na produtividade do campo, principalmente quando as sementes são certificadas (Copercana, 2024).

O teste de tetrazólio é de grande valia para se avaliar a viabilidade de sementes de amendoim (Carvalho et al., 2009).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através do teste de tetrazólio podemos observar que é possível se fazer uma pré-avaliação das condições fisiológicas da semente após a colheita e em sementes dormentes, no entanto para garantir a aprovação de um lote para comercialização é necessário se realizar o teste de germinação.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília : Mapa/ACS, 2009. 399 p.

CARVALHO, N. M.; SILVA, J. B.; SILVEIRA, C.M.; HORVAT, R.A. **Método alternativo para submeter sementes de amendoim à solução de tetrazólio**. Revista Brasileira de Sementes, vol. 31, nº 1, p.018-022, 2009.

CESAD. Portal Cesad. **Semente**. Disponível em: <[https://cesad.ufs.br/ORBI/public/uploadCatalogo/18061216022012Morfologia Interna e Ext erna dos Vegetais Aula 12.pdf](https://cesad.ufs.br/ORBI/public/uploadCatalogo/18061216022012Morfologia%20Interna%20e%20Ext%20erna%20dos%20Vegetais%20Aula%2012.pdf)>. Acesso em: 10 jun. 2024.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Produção de amendoim cresce mais de 100% nos últimos 8 anos**. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/4768-producao-de-amendoim-cresce-mais-de-100-nos-ultimos-8-anos.%20Acesso%20em%202023%20fev.%202023>>. Acesso em: 13 abr. 2024.

COPERCANA. Copercana Blog. **Por trás da produção de sementes de amendoim**. Disponível em: <<https://copercana.com.br/blog/blog/por-trs-da-produo-de-sementes-de-amendoim>>. Acesso em: 17 mai. 2024.

DAMASCENO, L. F.; JUNGHANS, T. G.; SILVA, J. J.; AUD, F.F. **Correlação entre o teste de tetrazólio e o teste de germinação na aferição da viabilidade das sementes de Passiflora edulis**. 9^a Jornada Científica – Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2015.

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

PETERS, J. (Ed.). **Tetrazolium testing handbook**. Ithaca. Association of Official Seed Analysts, 2007. 88 p. (AOSA. Contribution to the Handbook on Seed Testing, 29).

SEED. Seed News. **A evolução do teste de tetrazólio como alicerce no controle de qualidade.** Disponível em: <<https://seednews.com.br/artigos/3749-a-evolucao-do-teste-de-tetrazolio-como-alicerce-no-controle-de-qualidade-edicao-novembro-2021>>. Acesso em: 13 abr. 2024.

SEED. Seed News. **Quem é o tegumento da semente, sua importância e como é formado?.** Disponível em: <<https://seednews.com.br/artigos/4346-quem-e-o-tegumento-da-semente-sua-importancia-e-como-e-formado?-edicao-novembro-2023>>. Acesso em: 10 jun. 2024.

APÊNDICE A – TERMO DE ORIGINALIDADE

TERMO DE ORIGINALIDADE

Eu, Tatiane Batista Basaglia, RG 35.183.124-1, CPF 284.088.488-79 , declaro que o trabalho intitulado Teste de tetrazólio para determinação da qualidade das sementes de amendoim é **ORIGINAL**.

Declaro que recebi orientação sobre as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), que tenho conhecimento sobre as Normas do Trabalho de Graduação da Fatec-JB e que fui orientado sobre a questão do plágio.

Portanto, estou ciente das consequências legais cabíveis em caso de detectado PLÁGIO (Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, que altera, atualiza e consolida a legislação sobre direitos autorais, publicada no D.O.U. de 20 de fevereiro de 1998, Seção I, pág. 3) e assumo integralmente quaisquer tipos de consequências, em quaisquer âmbitos, oriundas de meu Trabalho de Graduação, objeto desse termo de originalidade.

Jaboticabal/SP, 17 de junho de 2024.

Tatiane Batista Basaglia