

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA

ANTÔNIO ADOLFO SILVA SOARES

**FENOTIPAGEM COMPUTACIONAL E VIABILIDADE DE SEMENTES DE
CULTIVARES DE TRIGO (*Triticum spp*) PELO TESTE DE TETRAZÓLIO**

Rio Largo/AL
2024

ANTÔNIO ADOLFO SILVA SOARES

**FENOTIPAGEM COMPUTACIONAL E VIABILIDADE DE SEMENTES DE
CULTIVARES DE TRIGO (*Triticum sp*) PELO TESTE DE TETRAZÓLIO**

Trabalho de Conclusão de Curso
(TCC) apresentado ao Campus de
Engenharia e Ciências Agrárias da
Universidade Federal de Alagoas
como requisito para a obtenção do
título de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr. João Luciano De Andrade Melo Junior

Rio Largo/AL

2024

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Campus de Engenharias e Ciências Agrárias
Bibliotecário Responsável: Erisson Rodrigues de Santana - CRB4 - 1512

S676f Soares, Antônio Adolfo Silva.

Fenotipagem computacional e viabilidade de sementes de cultivares de trigo (*Triticum Spp*) pelo teste de Tetrazólio. / Antônio Adolfo Silva Soares. – 2024.

31f.: il.

Orientador(a): João Luciano de Andrade Melo Junior.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) – Graduação em Agronomia, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2024.

Inclui bibliografia

1. Trigo. 2. Vigor. 3. Viabilidade de sementes. 4. Análise de imagem. I. Título.

CDU: 631.531

FOLHA DE APROVAÇÃO

ANTÔNIO ADOLFO SILVA SOARES

FENOTIPAGEM COMPUTACIONAL E VIABILIDADE DE SEMENTES DE
CULTIVARES DE TRIGO (*Triticum sp*) PELO TESTE DE TETRAZÓLIO

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao Campus de Engenharia e
Ciências Agrárias da Universidade
Federal de Alagoas como requisito para a
obtenção do título de Engenheiro
Agrônomo. Aprovado em 15 de fevereiro
de 2024

Documento assinado digitalmente
 JOAO LUCIANO DE ANDRADE MELO JUNIOR
Data: 19/02/2024 14:28:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. João Luciano De Andrade Melo Junior – UFAL (Orientador)

Banca examinadora:

Documento assinado digitalmente
 VANUZE COSTA DE OLIVEIRA
Data: 19/02/2024 18:54:11-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dr.^a. Vanuze Costa de Oliveira – UFAL (Examinadora interna)

Documento assinado digitalmente
 LUAN DANILO FERREIRA DE ANDRADE MELO
Data: 19/02/2024 16:48:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Luan Danilo Ferreira de Andrade Melo – UFAL (Examinador interno)

Rio Largo - AL

Fevereiro - 2024

AGRADECIMENTOS

As meus pais Germano Gabriel Soares e Josiete da Silva Soares por todo apoio e investimento durante toda a minha graduação

A minha irmã Marianna Laira da Silva Alverne, por todo ensinamento compartilhado, principalmente do que ela vivenciou nesta mesma universidade. Sem isso, com certeza as coisas seriam bem mais difíceis para mim.

Ao meu orientador Prof Dr João Luciano de Andrade Melo Junior por toda paciência e ensinamento desde quando fui monitor de sua disciplina, até o período de montagem do experimento e até o momento da defesa.

Ao Prof. Dr João Correia de Araújo Neto pela oportunidade fazer uma Iniciação Científica. Cito, também, o Prof Dr. Mauro Wagner de Oliveira pela oportunidade de ser seu monitor na disciplina de Fertilidade Do Solo e Nutrição Mineral de Plantas

A Universidade Federal de Alagoas – UFAL, em especial ao Centro de Engenharias e Ciências Agrárias por todo acolhimento e suporte (na medida do possível), durante esses mais de 5 anos de graduação

Aos colegas do Laboratório de Fitotecnia por toda a ajuda na montagem do experimento. Faço uma menção especial ao companheiro Keven Silva, que, gentilmente, até seu notebook me emprestou para realizar a captura das imagens das sementes

Aos amigos e amigas que a agronomia/CECA me deu, em especial: Caio Luiz, Robson Ventura, Vitor Almeida, Wagner Melo (piupiu), Wanda Pimentel, Brenda Chavante e Victória Carracosa.

RESUMO

Diante da importância de se obter metodologia mais rápidas e eficientes para a realização do teste de tetrazólio em diferentes cultivares do trigo, o presente trabalho teve como objetivo propor um método mais rápido do que o recomendado pela literatura do teste de tetrazólio em cinco cultivares de trigo, três delas utilizadas no semiárido nordestino, com o auxílio da análise de imagem. O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitotecnia do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, AL, Brasil. Foram utilizados cinco cultivares de sementes de trigo (MGM Brilhante, TBIO Duque, BRS 404, BRS 394 e BRS 264). Pré-umedecimento: foram utilizadas para o teste quatro repetições de 50 sementes, pré-umedecidas por embebição em 20 mL água por 16 h 25°C e 6 h a 30°C. Passados os dois tempos de imersão, foi feita a bissecção longitudinal ao longo do embrião com auxílio de lâmina bisturi n.º 22. Após coloração as sementes foram classificadas em quatro classes: classe I: vigorosa e viável; classe II: viável; classe III: semente não viável e classe IV: semente morta. Essa classificação foi realizada com o auxílio de uma câmera que ampliava imagem na resolução ideal. O experimento seguiu o delineamento inteiramente casualizado e os dados de viabilidade de sementes foram relacionados com o teste de germinação através da correlação de Spearman. Na análise de vigor as sementes da cultivar Brilhante imersas a 6h tiveram uma percentagem de maior de sementes vigorosas (C1) em relação ao tratamento testemunha. Na análise de viabilidade, as cultivares BRS 404 e BRS 264, usadas no semiárido nordestino, tiveram uma porcentagem maior de sementes viáveis (C2) no tratamento de 6h de imersão, comparado a testemunha. A análise de correlação utilizando os dados do teste de germinação com as percentagens das sementes viáveis nos dois tratamentos (16h e 6h). As porcentagens das sementes que passaram pelo teste de tetrazólio com seis horas de imersão tiveram uma correlação de $r=0,97$ em relação ao teste de germinação, maior, por exemplo, que o teste feito com 16h de imersão, que é o que propõe a metodologia, que foi de $r=0,92$. Isso indica que a metodologia sugerida pelo presente trabalho pode ser uma alternativa para avaliar se um lote dessas cultivares de trigo são viáveis. É viável reduzir a concentração da solução de tetrazólio para 0,075%, sem que isso afete os resultados obtidos. Essa redução poderia resultar em benefícios, como a diminuição da quantidade de sal de tetrazólio necessária para preparar o composto e, conseqüentemente, uma redução nos custos financeiros para a execução do teste de tetrazólio com as cinco cultivares analisadas. A utilização da análise de imagem na interpretação do teste de tetrazólio proporciona uma avaliação detalhada de todos os tecidos da semente em análise, com isso possibilita o fornecimento de dados cada vez mais precisos.

Palavras-chaves: trigo, vigor, viabilidade de sementes e análise de imagem.

ABSTRACT

Given the importance of obtaining faster and more efficient methodology for carrying out the tetrazolium test on different wheat cultivars, the present work aimed to propose a faster method than that recommended in the literature for the tetrazolium test on five wheat cultivars. three of them used in the semi-arid northeast, with the help of image analysis. The experiment was conducted in the phytotechnics laboratory, on the Engineering and Agricultural Sciences Campus, at the Federal University of Alagoas, Rio Largo, AL, Brazil. Five wheat seed cultivars were used (Brilliant, Duque, BRS 404, BRS 394 and BRS 264). Pre-moistening: four replications of 50 seeds were used for the test, pre-moistened by soaking in 20 mL water for 16 hours at 25°C and 6 hours at 30°C. After the two immersion times, a longitudinal bisection was made along the embryo with the aid of a #22 scalpel blade. After staining, the seeds were classified into four classes: class I: vigorous and viable; class II: viable; class III: non-viable seed and class IV: dead seed. This classification was carried out with the help of a camera that enlarged the image at the ideal resolution. The experiment followed a completely randomized design and the data were subjected to analysis of variance at 1% probability of error, Seed viability data were related to the germination test using Spearman's correlation. In the vigor analysis, the Brilhante cultivar seeds immersed for 6 hours had a higher percentage of vigorous seeds (C1) compared to the control treatment. In the viability analysis, the BRS 404 and BRS 264 cultivars, used in the northeastern semi-arid region, had a higher percentage of viable seeds (C2) in the 6-hour immersion treatment, compared to the control. Correlation analysis using data from the germination test with the percentages of viable seeds in the two treatments (16h and 6h). The percentages of seeds that passed the tetrazolium test with six hours of immersion had a correlation of $r=0.97$ in relation to the germination test, higher, for example, than the test carried out with 16 hours of immersion, which is what it proposes the methodology, which was $r=0.92$. This indicates that the methodology suggested by the present work can be an alternative to evaluate whether a batch of these wheat cultivars is viable. It is feasible to reduce the concentration of the tetrazolium solution to 0.075%, without this affecting the results obtained. This reduction could result in benefits, such as a reduction in the amount of tetrazolium salt needed to prepare the compound and, consequently, a reduction in financial costs for carrying out the tetrazolium test with the five cultivars analyzed. The use of image analysis in the interpretation of the tetrazolium test provides a detailed evaluation of all tissues of the seed under analysis, thus enabling the provision of increasingly precise data.

Key words: wheat, vigor, seed predictions and image analysis.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Imersão das sementes em solução de tetrazólio e colocadas em estufa de circulação fechada por 2 horas em temperatura de 40°C.....	17
FIGURA 2. Sementes Classe 1 (A); Semente Classe 2 (B); Semente Classe 3 (C); Semente Classe 4 (D).....	18
FIGURA 3. Vigor de sementes de cultivares de trigo, classes 1, imersas em solução de tetrazólio pelo período de 6 e 16 horas	21
FIGURA 4. Viabilidade de sementes de cultivares de trigo, classes 1, imersas em solução de tetrazólio pelo período de 6 e 16 horas.....	22
FIGURA 5. Produto da viabilidade e vigor (viaxvig).....	23
FIGURA 6. Cultivar MGS Brilhante Classe 1 (A) e Classe 4 horas (B)	24
FIGURA 7. Cultivar TBIO Duque Classe 1 (A), Classe 2 (B) e Classe 3 (C) imersa por 16 horas e 6h.....	25
FIGURA 8. Cultivar BRS 404 Classe 1 (A), Classe 2 (B), Classe 3 (C), Classe 4 (D) imersa por 16 horas e horas.....	24
FIGURA 9. Cultivar BRS 394 Classe 1 (A) e Classe 3 (B), imersa por 16 horas e 6 horas.....	25
FIGURA 10. Cultivar BRS 264 Classe 1 (A) e Classe 3 (B), imersa por 16 horas e 6 horas.....	25
FIGURA 11. Gráfico de correlação entre o teste de germinação e o teste de tetrazólio (6h)	26
FIGURA 12. Gráfico de correlação entre o teste de germinação e o teste de tetrazólio (16h).....	27

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Porcentagem das sementes, com base na sua classe, imersas por 16 horas a 25°C.....23;

TABELA 2. Porcentagem das sementes, com base na sua classe, imersas por 6 horas a 30°C.....23.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Caracterização Morfológica da Espécie.....	13
2.2 Teste de Tetrazólio	13
2.3 Análise de Imagem	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS	17
3.1 Local de condução do experimento	17
3.2 Pré umedecimento.....	17
3.3 Teste de tetrazólio	17
3.4 Classificação das sementes	18
3.5 Variáveis analisada	19
3.5.1 Sementes vigorosas (tzvg) e Sementes viáveis (tzv)	19
3.5.2 Produto da viabilidade e vigor (TZ Vigor.viabilidade)	19
3.6 Delineamento experimental a análise estatística	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	20
5. CONCLUSÃO	29
6. REFERÊNCIAS	30

1. INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum* spp.) é uma das culturas mais importantes da agricultura mundial. No Brasil, de acordo com dados obtidos pelo Conselho Nacional de Abastecimento - CONAB, no ano de 2023 a produção de trigo foi de 9.559.500 toneladas, o que demonstra a importância do grão na economia nacional (CONAB, 2023).

Diante da importância da cultura do trigo na economia, obter informações precisas sobre as condições fisiológicas dos lotes de sementes de trigo que serão usados no plantio é de suma importância para se obter expressivos resultados de produção e produtividade no campo. Com este propósito, testes de vigor são utilizados.

Existem vários testes de vigor de sementes que podem fornecer informações importantes sobre um determinado lote em análise, como: o teste de envelhecimento acelerado, teste de frio, teste de germinação, dentre outros (BRASIL, 2009). Todos esses testes necessitam de um aparato maior de equipamento para sua plena execução e, consequentemente, mais custos. Logo, são necessários maiores intervalos de tempo para a obtenção de resultados. Devido a rapidez na obtenção do resultado, o teste de tetrazólio passou a ser uma alternativa para análise de viabilidade e vigor de um determinado lote de sementes

O teste consiste no método em que as sementes são embebidas em solução incolor de 2, 3, 5-trifenil cloreto ou brometo de tetrazólio (BRASIL, 2009) por 2 horas, em uma temperatura constante de 40° C.

Esse teste apresenta como vantagem a possibilidade da rápida avaliação do vigor e viabilidade de determinado lote de sementes, permitindo, desta forma, fornecer o diagnóstico de possíveis causas da redução do potencial fisiológico das sementes; ainda se apresenta como sendo de baixo custo e não sofrem influência de problemas de dormência (KRZYZANOWSKI et al., 1999). Além disso existe a possibilidade de ser aplicado na pré-colheita com o intuito de melhorar a condução do cultivo no campo e, consequentemente, fornecer resultados mais rápidos (FRANÇA NETO et al. 2015)

É importante ressaltar que o teste de germinação dura oito dias (BRASIL, 2009). Esse prazo ainda pode ser estendido em caso de dormência nas sementes do lote avaliado, o que reforça a importância prática do teste de tetrazólio.

Com isso, tornam-se necessários estudos mais aprofundados sobre os ajustes na concentração do sal, tempos de umedecimento da cariopse, as formas de como a mesma deve ser submetida ao sal e o tipo de corte realizado na semente com o intuito de adquirir resultados cada vez mais precisos e, com isso, se obter um método cada vez mais padronizado para diferentes cultivares de trigo. Além disso, obter resultados precisos, que representem bem o comportamento de um determinado lote de sementes no campo, é muito importante. Com esse objetivo, a utilização do processamento digital de imagem na avaliação de um determinado lote de sementes, que foram submetidas ao teste tetrazólio, é crucial.

O processamento digital de imagens é uma técnica não destrutiva, rápida, objetiva e pode ser extremamente eficiente para a avaliação da qualidade das sementes. É uma técnica que tem sido cada vez mais estudada e por sua diversidade de aplicabilidade, tem ganhado espaço em diversos campos, havendo ainda a necessidade de pesquisas que permitam validar o uso desse tipo de análise na rotina de laboratórios para diferentes espécies. Além disso, essa técnica possibilita a ampliação e armazenamento das imagens, que constituem uma ferramenta valiosa no controle de qualidade interno das empresas fabricantes de sementes e grãos.

O objetivo deste trabalho foi propor e padronizar uma metodologia de teste de tetrazólio para cinco cultivares de trigo, otimizar o teste de tetrazólio através da diminuição do tempo de pré umedecimento das sementes e da concentração do sal de tetrazólio.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Caracterização Morfológica da Espécie

A classificação taxonômica do trigo (*Triticum spp.*) é a seguinte: Uma espécie monocotiledônea, pertencente à família das Poaceae, gênero *Triticum* e uma das principais espécies é o *Triticum aestivum* L (PIANA E CARVALHO, 2008).

De acordo Scheeren, Castro e Caierão (2015), o trigo possui uma morfologia bastante parecida com as de outros cereais de inverno que têm a mesma finalidade na produção de grãos (cevada, aveia, centeio e triticale). A morfologia da planta é constituída de raízes, colmo, folhas e inflorescência.

O sistema radicular do trigo é formado por três grupos: raízes seminais, raízes permanentes e raízes adventícias. O desenvolvimento das folhas inicia-se pela emissão do coleóptilo, que é considerada uma pseudofolha e tem como função proteger o mesocótilo, região da coroa (1º nó) e a emissão da plúmula, que é a primeira folha. O colmo é do tipo oco, cilíndrico e contém de quatro a sete entrenós. Ele tem uma função imprescindível na estocagem de nutrientes que são importantes para enchimento dos grãos (SCHEEREN, CASTRO E CAIERÃO, 2015).

A inflorescência do trigo é uma espiga composta, dística e formada por espiguetas alternadas e opostas no ráquis. Existe uma enorme variação na arquitetura da espiga, formadas por cinco tipos básicos: piramidal, oblonga, semiclavada, clavada e fusiforme. Os grãos são formados na fase da antese, após a fecundação das flores, onde elas irão se abrir e expusar as anteras. O grão de trigo é do tipo cariopse, comum nas gramíneas, é do tipo seco e indeiscente (SCHEEREN, CASTRO E CAIERÃO, 2015).

2.2 Teste de Tetrazólio

O teste de tetrazólio, de acordo com as Regras para Análise de Sementes é um teste bioquímico para determinar a viabilidade de sementes de forma indireta, por meio da atividade respiratória nas células que compõem os tecidos das sementes. O teste consiste no método em que as sementes são embebidas em solução incolor de 2, 3, 5-trifenil cloreto ou brometo de tetrazólio. No referido processo, os ions H⁺, que são liberados no processo de respiração das sementes dos tecidos vivos, passam para um grupo de enzimas, que irão reagir com o tetrazólio, que é reduzido a um composto vermelho trifenil formazan (BRASIL, 2009).

Deve ser preparada a solução estoque a 1,0%, misturando-se 10g do sal de tetrazólio em um litro de água destilada, a qual deve ficar armazenada em frasco de vidro, cor âmbar, no

escuro, de preferência em refrigerador. Na época da instalação do(s) teste(s), prepara-se a solução de trabalho (0,075%), que também deve ser armazenada com os mesmos cuidados descritos para a solução estoque. Para o preparo de um litro da solução de trabalho, diluem-se 75 mL da solução estoque (1,0%) em 925 mL de água destilada. ou deionizada, que deve ter pH neutro. (KRZYZANOWSKI et al., 1999).

Como esta reação se processa no interior das células vivas e o composto não se difunde, há nítida separação dos tecidos vivos e coloridos que respiram, daqueles mortos e que não colorem (BRASIL, 2009). Quando o composto é reduzido, isso indica que existe atividade respiratória nas mitocôndrias, o que indica uma possível viabilidade daquele lote de sementes. Além do eixo embrionário, alguns tecidos nutritivos do endosperma podem apresentar coloração após contato com a solução do tetrazólio (PETERS, 2007).

A técnica para a condução do teste de tetrazólio é dividida em pré-condicionamento, preparo para coloração, imersão em solução de tetrazólio e avaliação da semente. Em menos de 24 horas é estimada a viabilidade das sementes com base na alteração da coloração dos tecidos vivos em presença de uma solução incolor do 2,3,5 trifenil cloreto ou brometo de tetrazólio, usada como indicador para revelar os processos de redução que acontecem dentro das células vivas (BARROS, 2009).

Existem diversos métodos, como o teste de germinação, teste de frio, envelhecimento acelerado, que podem ser adotados com o intuito de avaliar a qualidade de um determinado lote de sementes (BRASIL, 2009). Dentre estes citados, o teste de tetrazólio vem ganhando bastante destaque tanto nas sementes de interesse agrônômico, como também nas sementes florestais

Um outro fator importantíssimo é a rapidez nos resultados obtidos via teste de tetrazólio, em relação ao teste de germinação. De acordo com as Regras de Análise de Sementes o resultado do teste de germinação para sementes de trigo pode sair em até oito dias, enquanto o teste de tetrazólio em até 24 horas já é possível obter o resultado de viabilidade de determinado lote de semente (BRASIL, 2009).

Os resultados podem ser utilizados em todas as etapas do processo de produção de determinado lote sementes, desde a colheita, na recepção, antes e após o beneficiamento e a secagem, durante o armazenamento e antes da semeadura (KRZYZANOWSKI et al. 1999).

Na literatura já existe a possibilidade do uso do teste de tetrazólio em sementes florestais e de interesse agrônômico. O que se busca é uma padronização do teste, para cada espécie, visando obter resultados mais próximos da realidade. Com isso, Brito et al., (2019) e Araújo et

al., (2023) tinham como objetivo padronizar a metodologia do teste de tetrazólio para avaliar a viabilidade de sementes de *Tabebuia aurea* e *Jacaranda mimosifolia*, respectivamente. Nestas pesquisas o teste se mostrou adequado com o objetivo de avaliar a viabilidade da semente florestal utilizando a concentração 0,05% de trifênil cloreto de tetrazólio.

A busca pela otimização do teste de tetrazólio é constante, também, para sementes de interesse agrícola. No caso específico do trigo, as metodologias existentes na literatura carecem de alguns ajustes. Esses procedimentos passam não só pelo tempo que a semente será submetida ao cloreto, como também o tempo de imersão, qual temperatura pode ser a mais adequada e a concentração ideal do sal de tetrazólio.

Com isso, determinar a melhor concentração do sal de tetrazólio para avaliação do vigor em vários lotes de sementes de trigo. Foi constatado que a concentração 0,1%, a duas horas de imersão, a 25°C foi a mais eficiente para avaliação do vigor (WEISER et al. 2018).

2.3 Análise de Imagem

Diante dessas dificuldades, faz-se necessário o desenvolvimento de novas ferramentas que tenham a finalidade de aumentar a eficiência, a confiança dos resultados e que reduza o erro humano, alternativa essa pode ser o processamento digital de imagens, que permite a análise de muitas amostras de forma rápida. A padronização desses métodos deve ser constantemente reavaliada mediante aplicação de testes de referência, de testes alternativos e da determinação de novas metodologias (GUEDES et al., 2011).

Estudos realizados com o teste de tetrazólio através de imagens escaneadas em sementes de braquiária, trigo e aveia branca, foram equivalentes às avaliações feitas com o uso de lupas e microscópios, além de proporcionarem uma ampliação maior das sementes (CUSTÓDIO; DAMASCENO; MACHADO NETO et al., 2012; GARCIA, 2020; TEJO et al., 2018).

Estudo realizado por Freitas et al. (2020), que teve como objetivo avaliar a viabilidade do teste de tetrazólio na cultura do café, utilizando o processamento digital de imagens, concluiu que a análise de imagem é uma ferramenta promissora para complementar a análise sensorial de café e torna-se necessário a execução de pesquisas adicionais para viabilizar sua utilização.

Tejo et al. (2018) ao avaliarem a qualidade fisiológica de sementes de aveia branca com ênfase no teste de tetrazólio com imagens digitalizadas, comprovaram a eficácia da metodologia de avaliação, além de facilitar as análises e proporcionar resultados seguros a respeito da viabilidade das sementes.

Na cultura do milho, a análise de imagem vem trazendo bons resultados. De acordo com o estudo de Santos et al. (2023), que tinha como objetivo avaliar a qualidade fisiológica do milho através da análise de imagem, constatou-se que a possibilidade de ampliação das imagens permite uma avaliação mais precisa do lote de sementes de milho que estão em análise.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local de condução do experimento

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Fitotecnia, do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, AL, Brasil. Foram utilizadas cinco cultivares de sementes de trigo (Brilhante, Duque, BRS 404, BRS 394 e BRS 264) produzidas por, respectivamente, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais - EPAMIG, BIOTRIGO e Empresa Brasileira Agropecuária - EMBRAPA.

3.2 Pré umedecimento

Foram utilizadas para o teste quatro repetições de 50 sementes, pré-umedecidas por embebição em 20 mL água por 16 h a 25 °C e 6 h a 30 °C em uma *Biochemical Oxygen Demand* (B.O.D). Passados os dois tempos de imersão, foi feita a bissecção longitudinal ao longo do embrião com auxílio de lâmina bisturi n.º 22.

3.3 Teste de tetrazólio

Para realização do teste de tetrazólio parte das sementes foram imersas em 20 mL solução de 0,075% de tetrazólio a 40 °C em estufa de circulação fechada por duas horas (figura 1). Após o período de imersão, as sementes foram lavadas com água corrente e mantidas em água destilada até o momento da avaliação.

FIGURA 1 - Imersão das sementes na solução de tetrazólio e coladas em estufa de circulação fechada por duas horas a uma temperatura de 40°C.



Fonte: Autor 2024.

3.4 Classificação das sementes

Com base no padrão de coloração proposto por Krzyzanowski et al. (1999), as sementes foram classificadas em quatro classes: Classe I: Vigorosa e viável; Classe II: Viável; Classe III: semente não viável e classe IV: semente morta. (BRASIL, 2009).

Classe I - As sementes vigorosas apresentam uma coloração no embrião rosa brilhante, com pequenas áreas ou pontos com coloração mais intensa. Sementes com pequenos pontos indicando deterioração ou tecidos mortos nas extremidades do coleóptilo, sem atingir as regiões vitais;

Classe II - Sementes viáveis apresentaram coloração rosa brilhante, superficial, uniforme e sem lesões embrionárias, ou pequenas lesões em tecidos não vitais, estas são capazes de produzir plântulas normais no teste de germinação;

Classe III - Já as sementes não viáveis apresentaram colorações não definidas ou com estruturas essenciais flácidas ou não coloridas, sementes com desenvolvimento anormal do embrião ou de outra estrutura essencial também são consideradas como não viáveis, independentemente se coloridas ou não;

Classe IV - As sementes mortas não apresentam coloração dos tecidos.

FIGURA 2: Sementes Classe 1 (A); Semente Classe 2 (B); Semente Classe 3 (C); Semente Classe 4 (D).



Fonte: (Autor, 2024)

3.5 Variáveis analisada

3.5.1 Sementes vigorosas (tzvg) e Sementes viáveis (tzv)

Para obtenção dos resultados de vigor e viabilidade das sementes, nos dois tratamentos analisados, foi feita uma análise individual, por repetição, de cada grão, computando as porcentagens de sementes vigorosas (CLASSE 1) e viáveis (CLASSE 1 + CLASSE 2). (KRZYZANOWSKI et al. 1999)

3.5.2 Produto da viabilidade e vigor (TZ Vigor.viabilidade)

Para calcular o produto da viabilidade e vigor foi utilizada a seguinte equação: $tzvvg = [(Tzv)(Tzvg)/100]$. Onde é calculado, em um mesmo lote, a proporção de sementes vigoras (CLASSE 1), em relação as sementes viáveis (CLASSE 1 + CLASSE 2).

3.6 Delineamento experimental a análise estatística

Os dados de viabilidade de sementes foram relacionados com o teste de germinação através da correlação de Spearman (ZAR, 1996)

O vigor e a viabilidade das cultivares s cultivares, pré umedecidas por 16 horas e 6 horas, foi feita utilizando o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de 50 sementes.

A análise estatística foi feita através do programa SIGMA PLOT.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As sementes de trigo submetidas aos dois tempos de imersão no pré umedecimento foram classificadas em quatro classes. As da classe 1 (C1) foram consideradas vigorosas e viáveis, classe 2 (C2) foram consideradas viáveis com baixo vigor, classe 3 (C3) foram consideradas sementes não viáveis e classe 4 (C4) semente morta.

Com base nos dados obtidos nas tabelas 1 e 2, foi possível realizar os cálculos do coeficiente de correlação, que se encontram na figura 11 e 12, com as cinco cultivares usadas no presente estudo.

TABELA 1: Porcentagem das sementes, com base na sua classe, imersas por 16 horas a 25°C.

CULTIVAR	CLASSE 1	CLASSE 2	CLASSE 3	CLASSE 4
BRILHANTE	25%	63%	10%	2%
DUQUE	0%	99%	1%	0%
BRS 404	88%	0%	12%	0%
BRS 394	70%	25%	5%	0%
BRS 264	35%	49%	16%	0%

Fonte: Autor (2024)

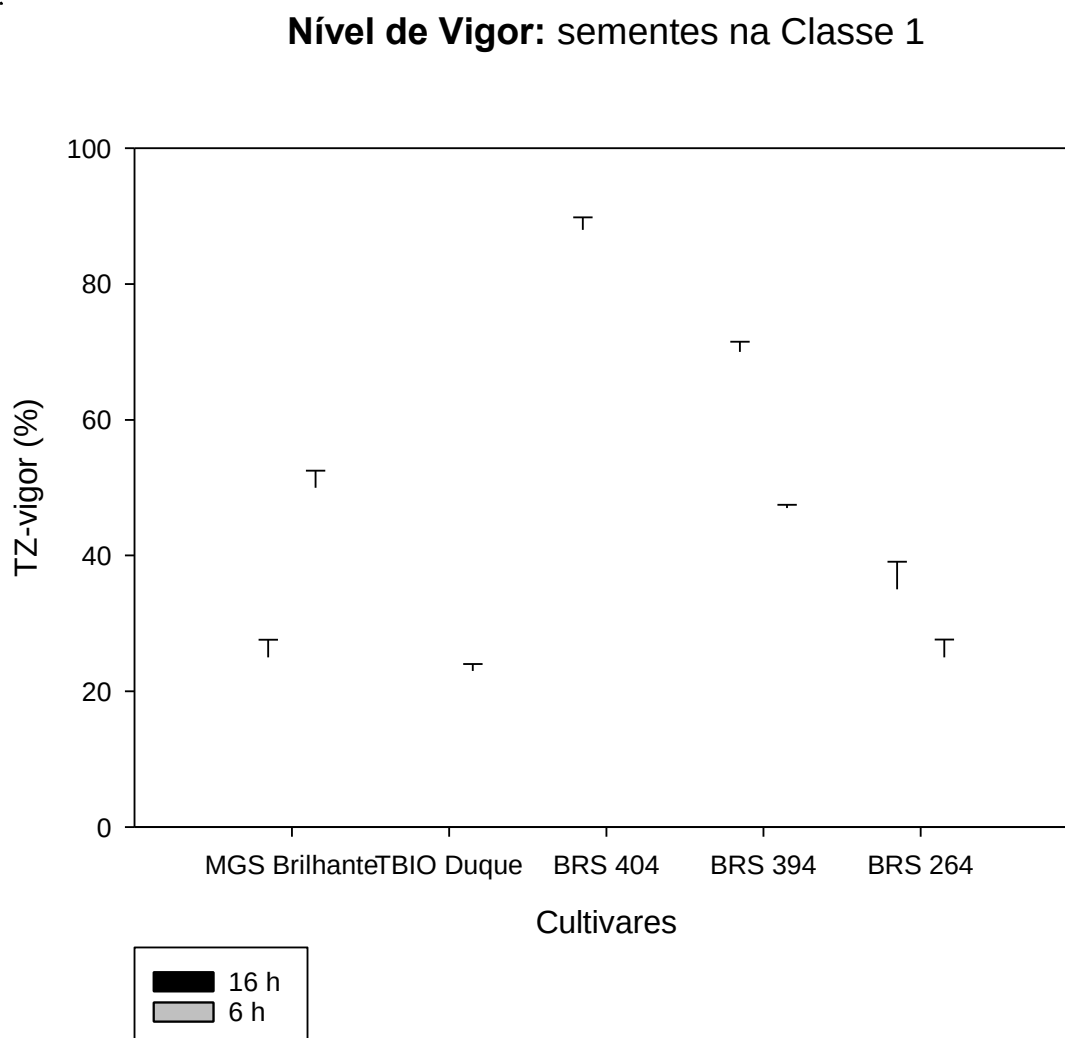
TABELA 2: Porcentagem das sementes, com base na sua classe, imersas por 6 horas a 30°C.

CULTIVAR	CLASSE 1	CLASSE 2	CLASSE 3	CLASSE 4
BRILHANTE	50%	45%	5%	0%
DUQUE	25%	73%	2%	0%
BRS 404	0%	96%	4%	0%
BRS 394	47%	48%	5%	0%
BRS 264	25%	66%	9%	0%

Fonte: Autor (2024)

Na avaliação do vigor, demonstrada na figura 3, as cultivares com a imersão por 16 horas tiveram uma maior porcentagem. A cultivar Brilhante, que na sua imersão por 6 horas, teve um percentual maior de vigor em relação ao tratamento testemunha, que seria o pré umedecimento por 16 horas. Isso indica que em ao menos uma variedade, que no caso é a Brilhante, pode ser utilizada a metodologia proposta por este trabalho para realizar o teste de tetrazólio.

FIGURA 3: Vigor de sementes de cultivares de trigo, classes 1, imersas em solução de tetrazólio pelo período de 6 e 16 horas.



Fonte: Autor (2024)

Em relação aos dados de viabilidade das cultivares analisadas, observou-se que o tratamento de imersão por 6 horas, em uma temperatura de 30°C em B.O.D., apresentou resultados próximos e até superiores ao tratamento testemunha a esse teste. Isto indica que a

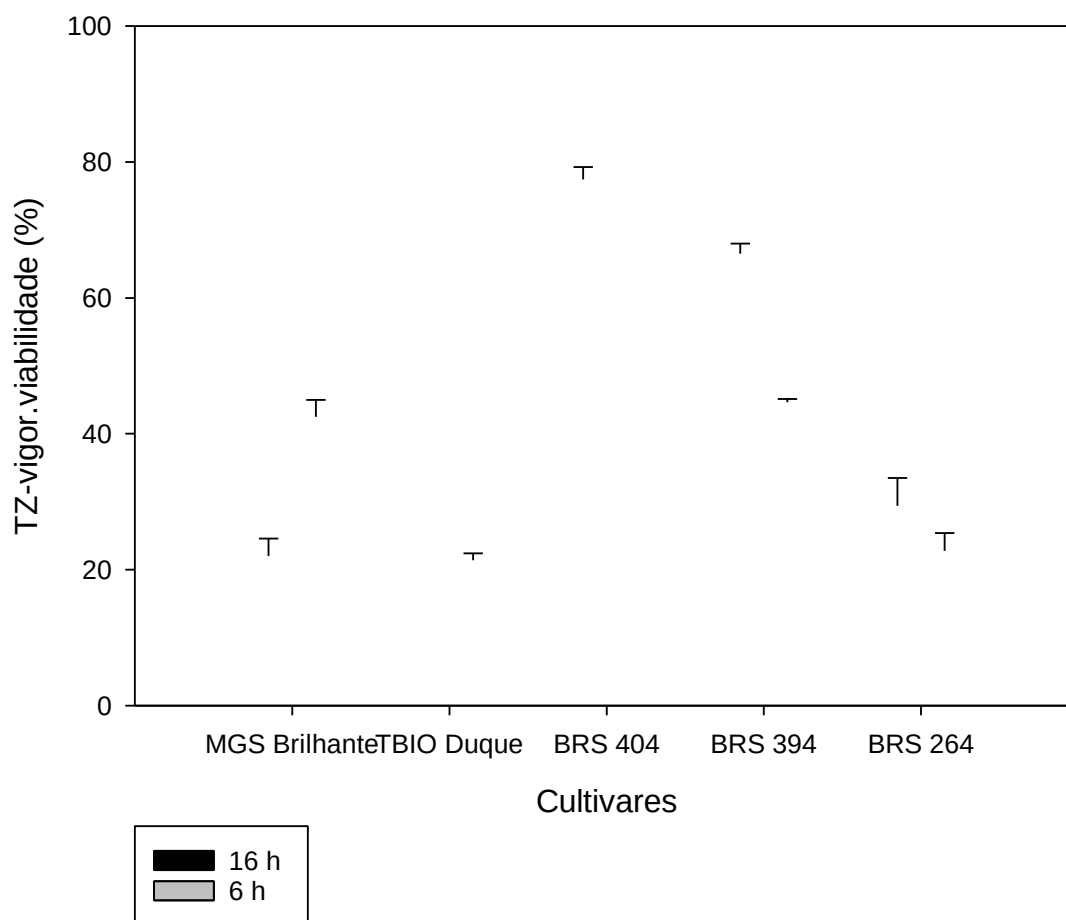
metodologia sugerida pode ser utilizada para avaliar a viabilidade das cinco cultivares de trigo estudadas.

FIGURA 4: Viabilidade de sementes de cultivares de trigo, classes 1 + 2, imersas em solução de tetrazólio pelo período de 6 e 16 horas.



Fonte: Autor (2024)

A viabilidade x vigor é uma variável que tem por objetivo avaliar a proporção de sementes vigorosas em relação as sementes viáveis em um único lote. Como pode-se constatar na Figura 7, as cultivares BRS 404 e BRS 394 tiveram o maior produto da viabilidade do vigor. Inclusive, a segunda citada apresentou um maior percentual de vigor de nos tratamentos de imersão por 16h e 6h. Dentre as demais cultivares, a Brilhante, principalmente no tratamento proposto por este trabalho, a sua porcentagem do produto viabilidade x vigor foi superior ao que foi encontrado no tratamento testemunha, que é a imersão da semente, no seu pré-umedecimento, por 16h e 25°C.

FIGURA 5: Produto da viabilidade e vigor.**Produto da viabilidade e vigor**

Fonte: Autor (2024)

A utilização de recursos extras, como o processamento de imagens digitalizadas, vem sendo utilizada por diversos pesquisadores.

Santos et al. (2019), que tinha como objetivo estabelecer o procedimento adequado para avaliar a qualidade de sementes de *Allemão Amburana cearensis* A.C. Smith (Fabaceae), pelo teste de tetrazólio e estabelecer uma metodologia de baixo custo para a avaliação do teste e classificação da viabilidade e vigor das sementes, por meio da automação da análise de imagens, verificou que a avaliação pela análise de imagens permitiu quantificar as porcentagens de tecido morto e de tecido vivo e classificá-las individualmente em vigorosa, viável e inviável com 100 % de acerto.

Garcia et al. (2020), que tinha como objetivo avaliar a eficiência do teste de tetrazólio através da avaliação por análise de imagens digitalizadas na determinação da qualidade

fisiológica de sementes de trigo, classificou o referido método como eficiente para determinação de vigor e viabilidade de sementes de trigo, devido a possibilidade de ampliação das imagens que permite análise precisa das estruturas do eixo embrionário.

Brandani (2017), que tinha como objetivo realizar a avaliação de vigor de lotes de sementes de soja através da metodologia de análise de imagem, utilizando um equipamento chamado Ground Eye, concluiu que o referido equipamento demonstrou ser promissor na avaliação do vigor de sementes de soja, podendo ser adotado como teste complementar no controle de qualidade de empresas produtoras de sementes.

Na literatura ainda há uma escassez de artigos sobre o uso do teste de tetrazólio em diferentes cultivares de trigo e com o auxílio da análise de imagem. Com isso, os resultados obtidos pelo presente trabalho fornecerão informações cruciais sobre o desempenho de diferentes cultivares de trigo submetidas ao teste de tetrazólio e analisadas com o auxílio da análise de imagem.

FIGURA 6: Cultivar MGS Brilhante Classe 1 (A) e Classe 4 (B) imersa por 16 horas e 6 horas.



Fonte: Autor (2024)

FIGURA 7: Cultivar TBIO Duque Classe 1 (A), Classe 2 (B) e Classe 3 (C) imersa por 16 horas e 6h.



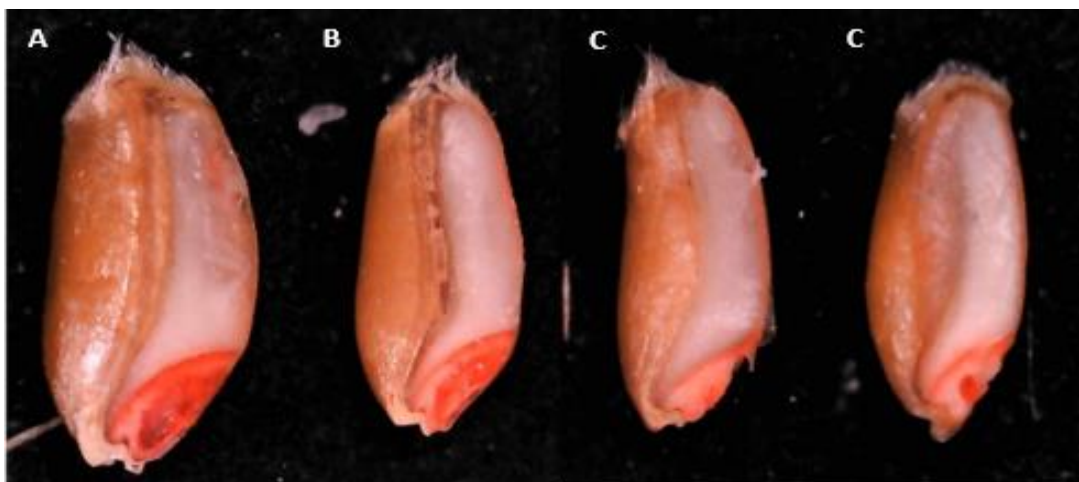
Fonte: Autor (2024)

FIGURA 8: Cultivar BRS 404 Classe 1 (A), Classe 2 (B), Classe 3 (C), Classe 4 (D) imersa por 16 horas e 6 horas.



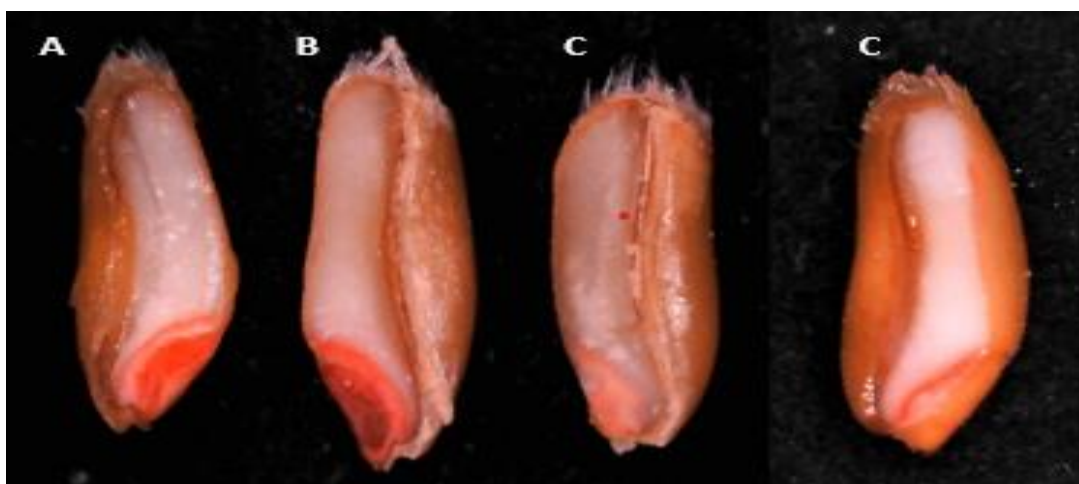
Fonte: Autor (2024)

FIGURA 9: Cultivar BRS 394 Classe 1 (A), Classe 2 (B) e Classe 3 (C), da esquerda para direita, imersa por 16 horas e 6 horas.



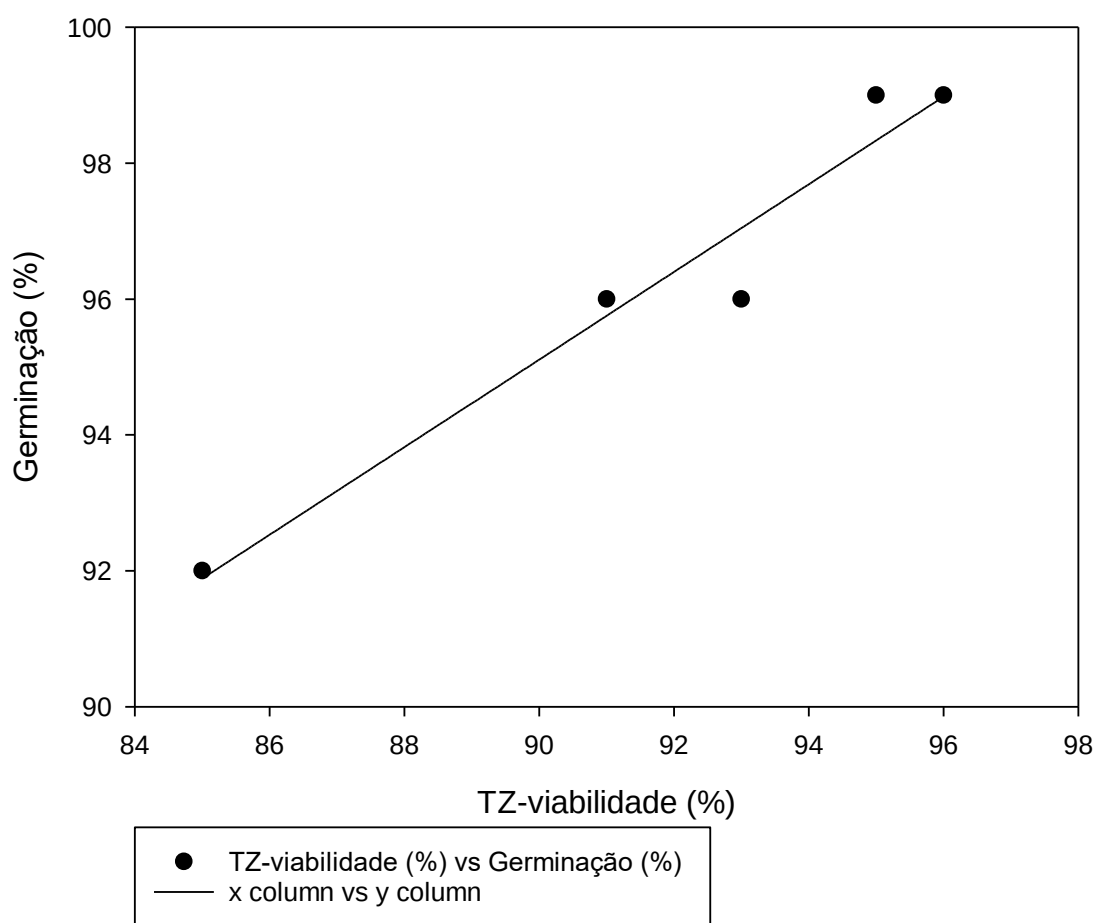
Fonte: Autor (2024)

FIGURA 10: Cultivar BRS 264 Classe 1 (A), Classe 2 (B) e Classe 3 (B) imersa por 16 horas e 6 horas.

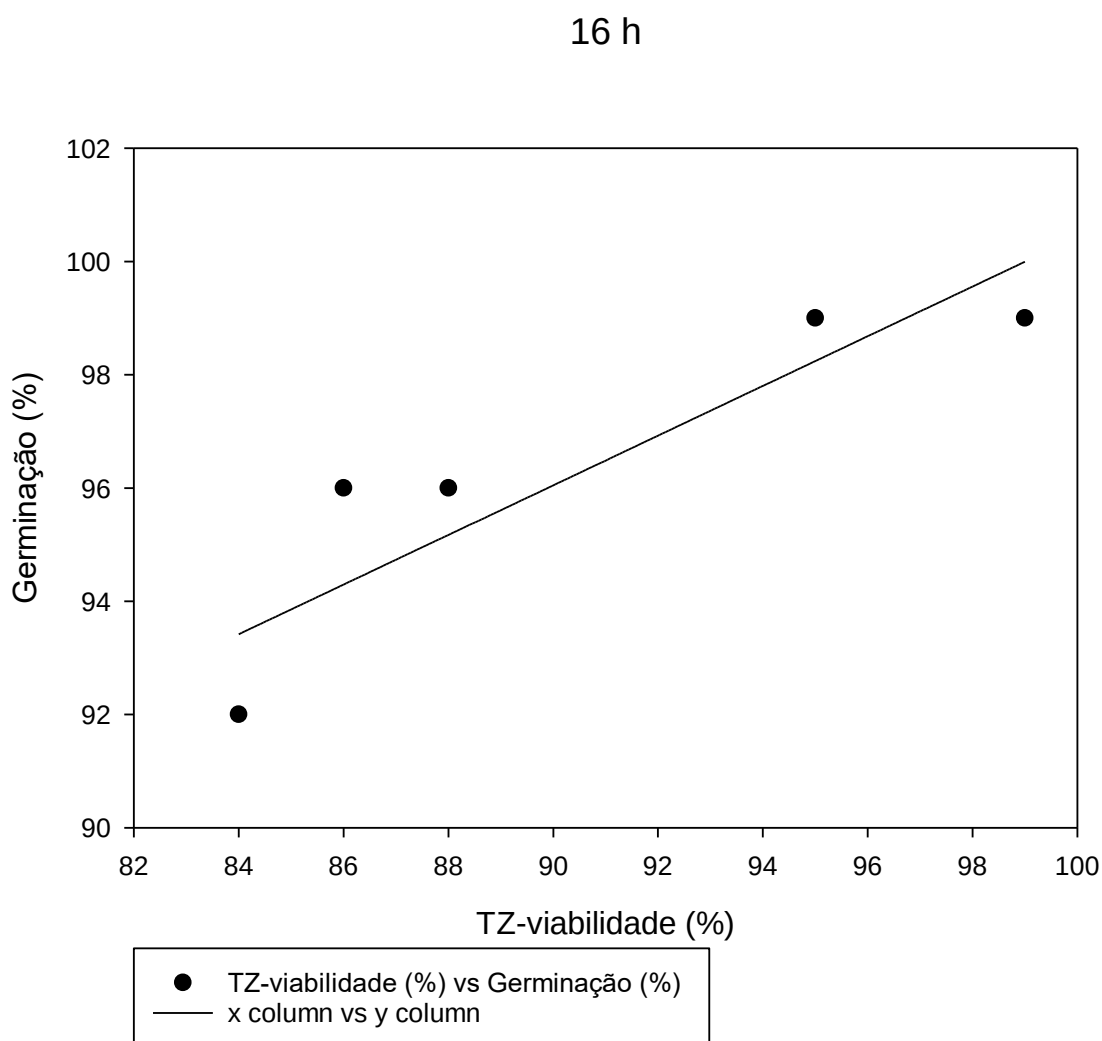


Fonte: Autor (2024)

Foi realizada uma análise de correlação utilizando os dados do teste de germinação com as porcentagens das sementes viáveis nos dois tratamentos (16h e 6h). As porcentagens das sementes que passaram pelo teste de tetrazólio com seis horas de imersão tiveram uma correlação de $r=0,97$ (figura 16) em relação ao teste de germinação, maior, por exemplo, que o teste feito com 16h de imersão, que é o que propõe a metodologia, que foi de $r=0,92$. (figura 17). A alta correlação entre o teste de germinação e o teste de tetrazólio com seis horas de imersão, a 30°C, sugere que a metodologia proposta pelo presente trabalho pode ser uma alternativa para avaliar a viabilidade dos cinco lotes de sementes de trigo utilizados neste trabalho.

FIGURA 11: Gráfico de correlação entre o teste de germinação e o teste de tetrazólio.**6 h**

Fonte: Autor (2024)

FIGURA 12: Gráfico de correlação entre o teste de germinação e o teste de tetrazólio.

Fonte: Autor (2024)

Carvalho et al. (2013) obtiveram correlação positiva na determinação da melhor metodologia para o teste de tetrazólio em sementes de trigo. Observou-se uma forte correlação entre os resultados do teste de germinação das cinco cultivares e o percentual de sementes viáveis após o tempo de imersão de 6 horas. Isso sugere que a otimização do teste de tetrazólio sugerida pelo presente trabalho é viável para as cultivares de trigo analisadas neste estudo.

A correlação positiva e significativa entre esses testes também foi observada em abobrinha (BARROS et al., 2005) e melancia (BHERING et al., 2005; NERY et al, 2007). Indicando que correlacionar duas variáveis para validar determinada metodologia é uma alternativa viável na literatura.

5. CONCLUSÃO

A alta correlação positiva do teste de germinação com o teste de tetrazólio, em todas as cinco cultivares utilizadas no estudo, demonstra que o período de imersão das sementes de trigo por 6 horas é confiável para avaliar a viabilidade de sementes de trigo.

É viável reduzir a concentração da solução de tetrazólio para 0,075%, sem que isso afete os resultados obtidos. Essa redução vai resultar em benefícios como a diminuição da quantidade de sal de tetrazólio necessária para preparar o composto e, conseqüentemente, uma redução nos custos financeiros para a execução do teste de tetrazólio com as cinco cultivares de trigo analisadas.

A utilização da análise de imagem na interpretação do teste de tetrazólio proporciona uma avaliação detalhada de todos os tecidos da semente em análise. Com isso, possibilita o fornecimento de dados sobre o seu potencial produtivo no campo cada vez mais precisos.

6. REFERÊNCIAS

- BARROS, A.S.R.; MARCOS FILHO, J. Testes para avaliação rápida da viabilidade de sementes de soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.25, n.10, p.1447-1459, 1990
- BRANDANI, Erich Barros. *Análise de imagens na avaliação do vigor de sementes de soja*. 2017.
- BRASIL. Regras para análise de sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, Brasília: p. 395, 2009 ;
- CARVALHO, Ireni Leitzke et al. Preparo da semente de arroz para execução do teste de tetrazólio. In: *Colloquium Agrariae*. ISSN: 1809-8215. P. 51-63. 2019.
- CUSTÓDIO, C. C.; DAMASCENO, R. L.; MACHADO NETO, N. B. Imagens digitalizadas na interpretação do teste de tetrazólio em sementes de *Brachiaria brizantha*. *Revista Brasileira de Sementes*, Brasília, v. 34, n. 2, p. 334-341, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-31222012000200020>
- DA LUZ BRITO, W. A et al. Avaliação da viabilidade de sementes de *Tabebuia áurea* por meio do teste de tetrazólio. *Revista Caatinga*, v. 33, n. 4, p. 993-999, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1983-21252020v33n414rc>
- DA SILVA ARAUJO, Israel et al. Padronização do teste de tetrazólio para avaliação da viabilidade de sementes de *Jacaranda mimosifolia* D. Don. *DELOS: DESARROLLO LOCAL SOSTENIBLE*, v 16, nº 45, p.1530-1542, 2023
- DOS SANTOS, M. R. (2019). Adequação do teste de tetrazólio e fenotipagem computacional da qualidade fisiológica de sementes de *Amburana cearenses* AC Smith (*Fabaceae*). 2019.
- FRANÇA NETO, J. B.; Krzyzanowsk, F.C.; Henning, A. A. Diacom: 35 anos de capacitação nos testes de tetrazólio e Patologia de sementes de soja. *Revista Seed News*, v.19, n.5, 2015.
- FREITAS, M. N. et. al. Identification of physiological analysis parameters associated with coffee beverage quality. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 44, p. 1-14, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1413-7054202044031019>
- GARCIA, Emanuelli Bastos et al. Imagens digitalizadas na avaliação do teste de tetrazólio em sementes de trigo. In: *Colloquium Agrariae*. ISSN: 1809-8215. p. 67-78. 2020.
- GUEDES, R. S. et al. Germination of *Dalbergia nigra* (Vell.), *Acta Scientiarum: Biological Sciences*, Maringá, v. 33, n. 4, p. 445, 2011

- <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>. Boletim de Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos (2023). (Acesso em, 04/09/2023, às 19:25.)
- <https://www.embrapa.br/agencia-deinformacaotecnologica/cultivos/arroz/pre-producao/caracteristicas/caracteristicas-da-planta> (Acesso em 07/08/2023, às 18:32.)
- KRZYZANOWSK, Francisco Carlos et al. Vigor de Sementes: Conceitos e Testes. Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes (ABRATES). Versão expandida da 1º versão. (1999)
- MEDEIROS, A. D., Pereira, M. D., Silva, J. A. Processamento digital de imagens na determinação do vigor de sementes de milho. Revista Brasileira de determinação do vigor de sementes de milho. Revista Brasileira de Ciências Agrárias. V.13, p 1-7, 2018;
- PETERS, J. (Ed.). Tetrazolium testing handbook. Ithaca: AOSA, 2007. 88p. (Contribution 29)
- PIANA, C.F de B; CARVALHO, F.I.F, de. Trigo: A cultura que deu suporte ao mundo. In: BABIERI, R. L; STUMPF, E. R. T. **Origem e evolução das plantas cultivadas**. Brasília, DF: Embrapa Clima Temperado, 2008, 909 p;
- SANTOS, Gian Carlos Rodrigues et al. Análise de imagens na determinação da viabilidade de sementes de milho pelo teste de tetrazólio. CONTRIBUCIONES LAS CIENCIAS SOCIALES, v.16, n.9, p. 14940-14957, 2023; DOI: <https://doi.org/10.55905/revconv.16n.9-067>
- SCHEEREN, P. L.; CASTRO, R. L.; CAIEIRÃO, E. Botânica, Morfologia e descrição fenotípica. In: BORÉM, A.; Scheeren, P. L. Trigo: Do Plantio à colheita. Viçosa, MG. Ed UFV, 2015, Cap 2, pag: 35 - 55 ;
- TEJO, Débora Perdigão et al. Qualidade fisiológica de sementes de aveia branca com ênfase no teste de tetrazólio com imagens digitalizadas. Scientia Agraria Paranaensis, p. 532-536, 2018;
- WEISER, Jaqueline Voigt et al. Avaliação Do Vigor Em Sementes De Trigo Pelo Teste De Tetrazólio Em Função Da Concentração Do Sal. (2018);
- ZAR, J. H. Biostatistical analysis. 3. ed. New Jersey: Prentice-Hall, 1996. 662 p.

