

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS – UFAL
CAMPUS DE ENGENHARIAS E CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CECA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

GIAN CARLOS RODRIGUES SANTOS

**ANÁLISE DE IMAGENS NA DETERMINAÇÃO DA VIABILIDADE DE
SEMENTES DE MILHO PELO TESTE DE TETRAZÓLIO**

Rio Largo – AL

2023

GIAN CARLOS RODRIGUES SANTOS

**ANÁLISE DE IMAGENS NA DETERMINAÇÃO DA VIABILIDADE DE
SEMENTES DE MILHO PELO TESTE DE TETRAZÓLIO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do Curso de
Agronomia do Campus de Engenharias e
Ciências Agrárias – CECA, da Universidade
Federal de Alagoas – UFAL, como requisito
para a obtenção do título de Engenheiro
Agrônomo.

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

Rio Largo – AL

2023

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias
Bibliotecária Responsável: Myrtes Vieira do Nascimento

S237a Santos, Gian Carlos Rodrigues

Análise de imagens na determinação da viabilidade de sementes de milho pelo teste de tetrazólio. / Gian Carlos Rodrigues Santos – 2023.

38f.; il.

Monografia de Graduação em Agronomia (Trabalho de Conclusão de Curso) – Universidade Federal de Alagoas, Campus de Engenharias e Ciências Agrárias. Rio Largo, 2023.

Orientação: Dr. João Luciano de Andrade Melo Júnior

Inclui bibliografia

1. Produtividade agrícola. 2. *Zea mays* L.. 3. Milho - cultura.
I. Título.

CDU: 633.15

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de expressar minha gratidão aos meus pais Joseildo Rodrigues da Silva e Maria Verônica Freitas dos Santos, por todo o amor e apoio incondicional durante minha vida acadêmica e pessoal. Eles são a minha base e motivação para alcançar meus objetivos.

Também gostaria de agradecer ao meu professor orientador Dr. João Luciano de Andrade Melo Junior, pelo seu constante apoio, orientação e paciência durante todo o desenvolvimento do meu TCC. Sem a sua dedicação e conhecimento, este trabalho não teria sido possível.

Um agradecimento especial aos meus amigos e colegas de curso, que foram meus companheiros de jornada e me ajudaram a superar desafios e dificuldades, tornando todo o processo leve e descontraído.

Por fim, gostaria de agradecer a minha namorada e melhor amiga Keyla Milena Alves da Silva, por todo o amor, carinho e compreensão durante este processo.

A todos vocês, minha total gratidão!

RESUMO

O milho é uma das principais culturas agrícolas do mundo e uma fonte importante de amido, açúcar, óleo e proteína. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial desta cultura e o uso de sementes com alto potencial fisiológico é fundamental quando se objetiva alcançar o maior potencial produtivo da lavoura de milho. O teste de germinação tem sido o método usado para avaliar a viabilidade de lotes de sementes, mas o teste de tetrazólio é uma técnica alternativa promissora, pois este pode ser realizado em poucas horas e fornece informações suficientes sobre a qualidade fisiológica das sementes. A análise de imagens de sementes submetidas ao teste de tetrazólio permite uma avaliação precisa e objetiva da qualidade das sementes, mitigando a subjetividade e falta de precisão na interpretação dos resultados. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade fisiológica de lotes de sementes de milho colhidos no Estado de Alagoas, por meio do teste de tetrazólio utilizando recursos de análise de imagens e, ao mesmo tempo, buscou-se otimizar esse teste, estabelecendo padrões e técnicas para auxiliar na interpretação dos resultados obtidos. A avaliação do potencial fisiológico dos cinco lotes de sementes de milho foi realizada utilizando o delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições de 50 sementes. As sementes foram colocadas em papel de germinação úmido, na proporção de 2,5 vezes a quantidade de água em relação ao peso do papel. A embebição foi feita durante aproximadamente 16 h à temperatura de 30 °C. As sementes de milho foram seccionadas longitudinalmente e medianamente através do embrião. Após o corte, a metade de cada semente em que a identificação das partes do embrião foi mais clara foi colocada em copinhos descartáveis de plástico, imediatamente submersa na solução de tetrazólio (0,075%) e levada à câmara regulada a 40 °C. Durante o processo de coloração, as sementes foram mantidas no escuro. O tempo de coloração foi de 180 minutos. Atingida a coloração ideal dos embriões, a solução foi eliminada e as sementes lavadas em água corrente por três vezes totalizando 60 segundos de lavagem e conservadas imersas em água. A avaliação foi realizada sob lupa de seis aumentos (6 x) com iluminação. Para avaliar a viabilidade e o vigor, foi examinado criteriosamente o embrião e, de acordo com o nível de danos e a deterioração, as sementes foram classificadas em três classes. Na Classe 1, foram incluídas as sementes vigorosas, na Classe 2, as viáveis com baixo vigor, e, na Classe 3, as sementes não viáveis. O método de análise de imagens se mostrou uma ferramenta valiosa na determinação do vigor e viabilidade de sementes de milho, em um período curto quando comparado a métodos convencionais. A possibilidade de ampliação das imagens permite uma análise precisa das estruturas do eixo embrionário, o que pode contribuir para a melhoria na seleção de lotes de sementes e, consequentemente, da produtividade agrícola.

Palavras-chave: produtividade agrícola. vigor. *Zea mays* L.

ABSTRACT

Corn is one of the main agricultural crops in the world and an important source of starch, sugar, oil, and protein. Brazil is the third largest global producer of this crop, and the use of seeds with high physiological potential is essential to achieve the maximum productive potential of corn fields. Germination testing has been the method used to assess the viability of seed lots, but the tetrazolium test is a promising alternative technique as it can be conducted in a few hours and provides sufficient information about the physiological quality of seeds. Image analysis of seeds subjected to the tetrazolium test allows for precise and objective evaluation of seed quality, mitigating subjectivity and lack of accuracy in result interpretation. The objective of this study was to evaluate the physiological quality of corn seed lots harvested in the state of Alagoas by means of the tetrazolium test using image analysis resources and, at the same time, it was sought to optimize this test, establishing standards and techniques to aid in the interpretation of the results obtained. The evaluation of the physiological potential of the five corn seed lots was carried out using a completely randomized experimental design with four replicates of 50 seeds. The seeds were placed in moist germination paper, in the proportion of 2.5 times the amount of water in relation to the weight of the paper. Imbibition was performed for approximately 16 hours at a temperature of 30 °C. The corn seeds were sectioned longitudinally and medially through the embryo. After cutting, the half of each seed where the identification of the embryo parts was clearer was placed in disposable plastic cups, immediately submerged in a tetrazolium solution (0.075%), and placed in a chamber set at 40 °C. During the staining process, the seeds were kept in the dark. The staining time was 180 minutes. Once the embryos reached the ideal coloration, the solution was discarded, and the seeds were washed three times under running water for a total of 60 seconds and then kept immersed in water. Evaluation was performed under a 6x magnifying lens with lighting. To evaluate viability and vigor, the embryo was carefully examined and, according to the level of damage and deterioration, the seeds were classified into three classes. Class 1 included vigorous seeds, Class 2 included viable seeds with low vigor, and Class 3 included non-viable seeds. The image analysis method proved to be a valuable tool in determining the vigor and viability of corn seeds in a short period compared to conventional methods. The possibility of enlarging the images allows for precise analysis of the embryonic axis structures, which can contribute to the improvement in the selection of seed lots and consequently agricultural productivity.

Key words: agricultural productivity. vigor. *Zea mays* L.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Semente de milho em corte longitudinal submetida à coloração com tetrazólio e as estruturas que compõem sua parte vital.....14
- Figura 2 Sementes de milho coloridas pelo tetrazólio da Classe 1: viáveis e vigorosas; A, B, C e D: eixo embrionário totalmente colorido de rosa claro brilhante e superficial, apresentando o escutelo com pontuações mais rosadas; E, F e G: eixo embrionário totalmente colorido em rosa brilhante superficial; e H: eixo embrionário colorido em rosa brilhante superficial, mas com pequena área descolorida na extremidade basal do escutelo.....27
- Figura 3 Sementes de milho da Classe 2: viáveis e não vigorosas; A e C: embrião com extremidade do coleóptilo descolorida; B e E: dano mecânico atingindo as regiões inferiores do escutelo, coleoriza e radícula; regiões dos nós escutелares, coleóptilo, plúmula e região de ligação com o escutelo preservadas; D: região superior do escutelo danificada; F: região próxima aos nós escutелares descolorida, afetando a radícula e porção inferior do escutelo.....28
- Figura 4 Sementes de milho da Classe 3: não viáveis; A: extremidades superior e inferior do escutelo deterioradas, afetando a plúmula e radícula; B: eixo embrionário totalmente deteriorado (branco leitoso); C, D e E: 50% ou mais do embrião descolorido; F: plúmula, coleóptilo e parte do escutelo descoloridos; G, H, I e J: sementes de milho da Classe 3, morta, com o embrião totalmente descolorido.....29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Estimativa do coeficiente de correlação entre sementes viáveis (Tzv), sementes vigorosas (Tzvg), produto da viabilidade e vigor (Tzvvg), germinação (G), Índice de Velocidade de Germinação (IVG), comprimento de plântula (CP) e massa seca de plântulas (MSP) de milho.....	31
----------	---	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	REVISÃO DE LITERATURA	12
	2.1 Importância econômica da cultura do milho	12
	2.2 Morfologia da semente de milho.....	12
	2.3 Potencial fisiológico de sementes	15
	2.4 Teste de tetrazólio	18
	2.5 Utilização de imagens para análise do teste de tetrazólio	19
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	22
	3.1 Local de condução dos experimentos	22
	3.2 Avaliação do potencial fisiológico inicial das sementes	22
	3.3 Variáveis analisadas	22
	3.3.1 Porcentagem de germinação (G)	22
	3.3.2 Primeira contagem de germinação (PC).....	23
	3.3.3 Índice de Velocidade de Germinação (IVG).....	23
	3.3.4 Tempo médio de germinação (t)	23
	3.3.5 Velocidade média de germinação (v).....	23
	3.3.6 Uniformidade de germinação (u)	23
	3.3.7 Índice de sincronia (z)	24
	3.3.8 Comprimento de plântula (CP)	24
	3.3.9 Massa seca de plântula (MS).....	24
	3.4 Tetrazólio	24
	3.5 Análise estatística	25
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5	CONCLUSÃO	33
	REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays* L.) é extremamente importante para a economia mundial e está relacionada a várias formas de utilização (RIBEIRO, 2014). Neste cenário, o uso de sementes com alto potencial fisiológico é fundamental para o sucesso na produção agrícola (PEREIRA FILHO; BORGHI, 2016). De acordo com Santos e Baldoni (2018), há ampla diversidade de cultivares de milho e alcançar altos níveis de produção é o objetivo, portanto, pesquisa, seleção e melhoramento são essenciais para o processo produtivo, assim como testes que comprovem se os lotes de sementes alcançam percentual mínimo de qualidade, ou seja, se são lotes vigorosos.

As sementes vigorosas são fundamentais para garantir uma boa germinação e desenvolvimento das plantas (FRANÇA-NETO; KRZYZANOWSKI 2018). Elas possuem um alto potencial de germinação e crescimento, o que garante uma lavoura com um estande uniforme. Além disso, as sementes vigorosas são menos propensas a doenças e pragas, o que garante uma produção mais saudável e sustentável. Sementes vigorosas apresentam potencial elevado tolerando fatores adversos quando expostas no campo, como temperaturas inadequadas, estresse hídrico, falta de sanidade e características inerentes ao solo (SILVA *et al.*, 2016).

O teste de germinação tem sido o método comumente usado para avaliar a viabilidade de lotes de sementes. Ele é o método padrão utilizado para determinar a qualidade fisiológica das sementes para fins de comercialização (FRANÇA-NETO; KRZYZANOWSKI, 2018). No entanto, este teste apresenta algumas limitações, como a demora relativa (pelo menos sete dias no caso do milho) para obter os resultados, e isso pode resultar numa séria limitação ao processo de tomada de decisões na indústria de sementes. Além disso, este teste não leva em conta a qualidade fisiológica das sementes, ou seja, se elas são capazes de crescer e se desenvolver em condições reais de campo, pois o teste de germinação geralmente é realizado em condições ideais de umidade e temperatura, o que pode não refletir a situação real de campo (FRANÇA-NETO; KRZYZANOWSKI, 2018).

O teste de tetrazólio é uma técnica alternativa para avaliar a qualidade e a viabilidade de sementes. Ele se baseia na capacidade das células vivas de absorver e metabolizar este sal, que é um indicador oxidante e redutor. A coloração da semente é analisada após a aplicação da solução e a qualidade das sementes é determinada com base

na capacidade das células de metabolizar o tetrazólio. Este teste pode ser realizado em poucas horas, é mais rápido que o teste de germinação. Além disso, ele fornece informações sobre a qualidade fisiológica das sementes, pois leva em conta a capacidade das células de absorver e metabolizar o tetrazólio. Este teste baseia-se na atividade desses sistemas de enzimas desidrogenases, as quais tornam-se inativas com a perda de viabilidade dos tecidos das sementes (FRANÇA-NETO; KRZYZANOWSKI, 2018). As enzimas desidrogenases estão envolvidas com processos respiratórios dos sistemas biológicos; existe uma transferência de íons de hidrogênio para o tetrazólio, consequentemente, ocorre sua redução e a coloração vermelha torna-se visível como resultado da reação. O pigmento não é difusível pois esta reação ocorre no interior da célula, possibilitando um delineamento nítido entre tecido vivo (adquire a coloração vermelha) e morto (não ocorre alteração de cor). A distribuição das áreas vivas e mortas pode ser visualizada e, em função de sua localização, permite avaliar a viabilidade das sementes (DIAS; BARROS, 1995).

A análise de imagens tem se mostrado cada vez mais presente na interpretação de sementes submetidas ao teste de tetrazólio, e essa análise é equivalente à análise por observação em microscópio óptico (CUSTÓDIO *et al.*, 2012). Estudos recentes indicam que o uso de técnicas de imagem permite uma avaliação precisa e objetiva da qualidade das sementes, permitindo a identificação de características importantes como a germinação, vigor e sanidade das sementes (FRANÇA-NETO; KRZYZANOWSKI, 2018). A avaliação do vigor de sementes por meio da análise de imagens vem ganhando espaço devido à sua praticidade, objetividade e rapidez (CORREA, 2019). A principal vantagem de usar imagens digitais é que elas podem ser facilmente armazenadas, compartilhadas e analisadas posteriormente, enquanto a análise ao microscópio é geralmente uma análise "ao vivo" e não pode ser facilmente registrada (CUSTÓDIO *et al.*, 2012). França-Neto e Krzyzanowski (2018) apontam que a utilização de técnicas de imagem torna possível a avaliação de grandes volumes de sementes de forma rápida e eficiente. Além disso, é possível utilizar técnicas de inteligência artificial para classificar as sementes de acordo com sua qualidade (FERREIRA *et al.*, 2020).

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a qualidade fisiológica de lotes de sementes de milho colhidos no Estado de Alagoas, por meio do teste de tetrazólio utilizando recursos de análise de imagens e, ao mesmo tempo, buscou-se otimizar esse teste, estabelecendo padrões e técnicas para auxiliar na interpretação dos resultados obtidos. A relevância desse estudo consistiu na possibilidade de fornecer informações

precisas e confiáveis para produtores e pesquisadores da área agrícola, contribuindo para o avanço do conhecimento na área de sementes de milho e, conseqüentemente, para a melhoria da produção agrícola na região.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância econômica da cultura do milho

O milho (*Zea mays* L.), pertencente à família Poaceae, é uma espécie originária da América do Norte. É uma planta de ciclo anual, e é uma das principais culturas agrícolas do mundo, usado tanto para alimentação humana quanto animal, e é uma fonte importante de amido, açúcar, óleo e proteína. O milho é cultivado em todo o mundo, principalmente nos Estados Unidos, Brasil, China e Índia. Seu grão, entre outras finalidades, é transformado em farinha, margarina e flocos para cereais matinais (SILVEIRA *et al.*, 2015).

O Brasil segue como o terceiro maior produtor mundial de milho, ficando somente atrás dos Estados Unidos e da China. Segundo a CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento (2022), na safra 2021/22 o Brasil plantou 21.581,9 mil ha, com produtividade de 5.248 Kg/ha e produção total de 113,272,1 mil toneladas, um ganho de +30,1% que a safra anterior.

Segundo Torrezan (2016), em função da importância econômica e social da produção de milho, é imprescindível que as sementes originem plantas que atinjam o máximo rendimento em campo, para tanto, é fundamental que haja o estabelecimento do estande adequado, que a germinação e o vigor das sementes possibilitem o desenvolvimento rápido e uniforme das plântulas e que não haja prejuízo por pragas. Para obter o máximo rendimento na produção de milho, é importante selecionar sementes de qualidade e garantir que elas germinem e desenvolvam-se de forma rápida e uniforme. Além disso, é fundamental que a produção de milho seja feita com cuidado e atenção, garantindo que as plantas tenham as condições ideais para se desenvolver e alcançar seu máximo potencial produtivo.

2.2 Morfologia da semente de milho

A semente do milho é classificada botanicamente como cariopse, é de fundamental importância ter conhecimento sobre as partes que a constituem para poder realizar uma avaliação adequada dos testes efetuados (BARROS; CALADO, 2014). Nas sementes de milho, as áreas vitais são: plúmula, coleóptilo, a região central do escutelo, a radícula, e a região situada entre a plúmula e a radícula, (SAMPAIO, 2009).

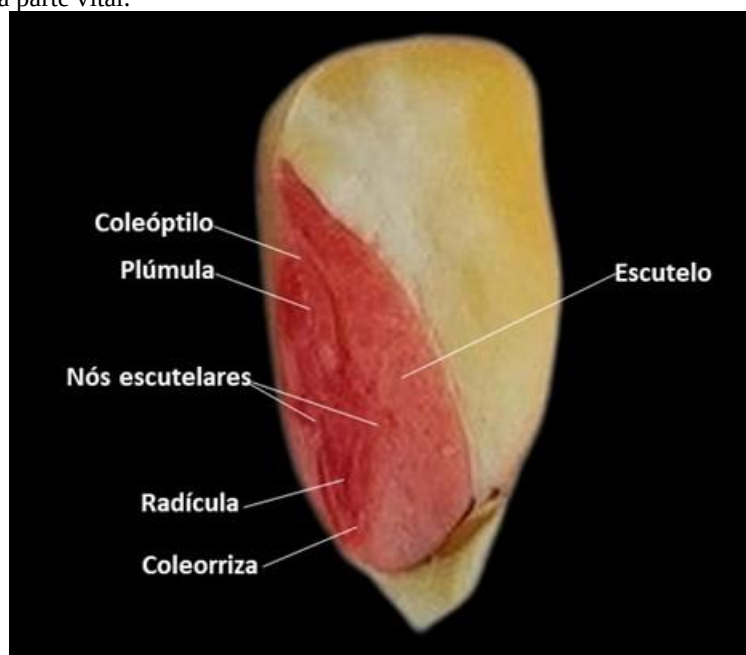
Quando ocorre o processo de união dos núcleos dos gametas feminino e masculino gerando o zigoto, denominamos fertilização. Após a fertilização, o zigoto é envolvido por parede celular e ocorrem diversas divisões celulares, resultando numa massa de células chamada embrião, que é uma estrutura totipotente, capaz de regenerar um organismo a partir de uma célula (MARCOS-FILHO, 2005). O embrião contém todas as informações genéticas e metabólicas necessárias para o desenvolvimento de uma planta adulta, incluindo o material genético para a produção de enzimas e proteínas, bem como reservas de nutrientes para a germinação e crescimento inicial (MENEZES, 2012). A embriogênese é o processo pelo qual o embrião é formado, a partir da divisão celular dos gametas e sua diferenciação em diferentes tecidos, como radícula, caule e folhas primárias, e é responsável por preparar a semente para a germinação futura. Durante a embriogênese, os tecidos do embrião se desenvolvem e amadurecem, enquanto as reservas de alimento são acumuladas no endosperma. A conclusão da embriogênese é caracterizada pela formação de uma semente completamente desenvolvida, pronta para germinar quando as condições ambientais são adequadas (MARCOS-FILHO, 2005).

Durante o desenvolvimento do embrião, o núcleo do endosperma também passa por divisões celulares sucessivas, conhecido como endospermatogênese. A endospermatogênese é o processo pelo qual as células do endosperma se dividem e diferenciam, formando uma massa celular que preenche todo o espaço não ocupado pelo embrião. A diferenciação desse tecido inclui a deposição de reservas não provenientes da transferência de matéria seca da planta-mãe para a semente em desenvolvimento. Dessa maneira, forma-se o endosperma. O embrião pode utilizar o tecido endospermático para o seu desenvolvimento, tendo a função de fornecer proteção e suporte nutritivo para o desenvolvimento do embrião ou para a germinação, de modo que sua composição é compatível com as necessidades embrionárias (MARCOS-FILHO, 2015).

A semente do milho que é classificada botanicamente como cariopse, apresenta três partes: o pericarpo, o endosperma e o embrião. O embrião, que se encontra ao lado do endosperma, possui primórdios de todos os órgãos da planta desenvolvida, ou seja, não é mais do que a própria planta em miniatura (BARROS; CALADO, 2014).

Conhecer as partes que compõem a semente de milho e que podem ser visualizadas na figura 1, é importante para entender como ela se desenvolve e cresce, bem como para avaliar corretamente os resultados dos testes.

FIGURA 1 - Semente de milho em corte longitudinal submetida à coloração com tetrazólio e as estruturas que compõem sua parte vital.



Fonte: autor 2023.

O coleóptilo é uma estrutura a parte do escutelo que protege a plúmula em gramíneas, fotossensível, tendo crescimento paralisado quando exposto à luz, apresenta um poro apical, de modo que a plúmula pode rompê-lo e continuar seu desenvolvimento (MARCOS-FILHO, 2015).

A plúmula é uma massa de células meristemáticas, constituindo a gema apical ou broto vegetativo do embrião, acompanhada ou não pelo desenvolvimento dos primórdios foliares. A partir da plúmula se desenvolvem os primórdios foliares, o epicótilo, o caule e as folhas do vegetal (MARCOS-FILHO, 2015). Durante a germinação, a plúmula é a primeira estrutura a se desenvolver, e é responsável por guiar o crescimento da planta jovem, dando origem ao caule e ao sistema radical.

O nó escutelar é a parte do eixo embrionário, a partir do qual se origina uma folha (BRASIL, 2009).

O escutelo é uma estrutura importante em monocotiledôneas, pois é responsável por armazenar temporariamente reservas e proteger o eixo embrionário. Localizado na parte dorsal da semente, próximo ao hilo, é composto por células especializadas que transferem as reservas do endosperma para o embrião durante a germinação (MENEZES *et al.*, 2018).

A coleorriza é a camada de tecido que forma uma “capa” protetora da radícula, em várias gramíneas, e a radícula é a raiz rudimentar. Ela é uma estrutura modificada do

caule, que é alongada e estendida para fora da semente antes da germinação, e é coberta por uma camada protetora, a cutícula. A coleoriza é uma estrutura importante na germinação das sementes, uma vez que é responsável por guiar o crescimento da radícula através do solo, permitindo que a planta jovem absorva água e nutrientes do solo. É composta por células meristemáticas, que têm a capacidade de se dividir e diferenciar em outros tipos celulares (MARCOS-FILHO, 2015).

A radícula é a primeira parte da planta a se desenvolver durante a germinação da semente. Ela é a estrutura responsável por absorver água e nutrientes do solo e permitir a fixação das raízes da planta no solo (MARCOS-FILHO, 2015).

A compreensão da morfologia da semente será de suma importância para diagnosticar corretamente as classes e qualidade fisiológica do lote submetido ao teste de tetrazólio.

2.3 Potencial fisiológico de sementes

O potencial fisiológico de sementes é a capacidade das sementes de germinar e produzir plantas saudáveis e vigorosas. Ele é determinado por uma combinação de fatores, como a genética da planta, a qualidade da polinização e a maturidade da semente no momento da colheita (NERLING, 2017). O máximo potencial fisiológico é alcançado na maturidade fisiológica e, logo após esta fase, as sementes tornam-se propensas a mudanças degenerativas fisiológicas e bioquímicas, dependendo do tempo dispendido até a colheita, das condições ambientais e, dos procedimentos adotados para secagem, beneficiamento e armazenamento das sementes (MARCOS-FILHO, 2015). É considerada uma das principais preocupações dos produtores, pois sementes com baixa qualidade fisiológica pode afetar a estabilidade do estande e o rendimento da colheita (MENEZES, 2012). Sementes com um potencial fisiológico superior tendem a germinar e crescer mais rapidamente, produzir plantas mais saudáveis, resultar em colheitas mais produtivas, e proporcionar uniformidade de população, alto vigor de plântulas e plantas.

A tecnologia de sementes é uma área que se dedica ao desenvolvimento, produção e comercialização de sementes de alta qualidade. Isso inclui a seleção de plantas com características desejadas, como germinação e vigor, e a produção de sementes com alta pureza e germinação. A identificação e seleção de lotes de sementes com maior potencial é crucial para garantir um retorno econômico para os agricultores e para o desenvolvimento de culturas altamente produtivas (PINHEIRO *et al.*, 2021). A qualidade

de um lote de sementes resulta da interação de características que determinam o seu valor para a semeadura. É o principal foco da tecnologia de sementes, sempre visando o retorno econômico (MARCOS-FILHO, 2015). Portanto, diferentes métodos vêm sendo aplicados para que se possa identificar e selecionar lotes com maior germinação e vigor.

Segundo Marcos-Filho (2015) e Copeland e McDonald (1995), a germinação é o processo pelo qual uma semente se transforma em uma plântula. Ele envolve a reativação do crescimento do embrião e a ruptura da cobertura da semente, permitindo que a plântula emergja e comece a crescer. O encerramento do período de repouso fisiológico e a retomada da atividade metabólica da semente são sucedidos pelo início do processo de germinação (MARCOS-FILHO, 2015).

A indicação das Regras para Análise de Sementes é de até 7 dias para execução do teste de germinação em sementes de milho, e neste material, são indicadas outras instruções para condução do teste como forma de semeadura e temperatura (BRASIL, 2009). Mas Ohlson (2010) ressalta que as informações fornecidas pelo teste de germinação são consideradas insuficientes para, isoladamente, estimar o potencial de desempenho das sementes em condições de campo.

Dessa maneira, as empresas produtoras de sementes têm utilizado, em conjunto com o teste de germinação, informações obtidas com testes de vigor; assim, é crescente a busca de testes que sejam mais rápidos para agilizar a tomada de decisões e aumentar a eficiência das atividades envolvidas no controle de qualidade (BITTENCOURT *et al.*, 2012).

O vigor diz respeito a capacidade da semente expressar seu potencial germinativo em condições de algum estresse, ou, quando as condições ideais para o desenvolvimento da semente em plântula não estão reunidas (FRANÇA-NETO; KRZYZANOWSKI, 2018). Em outras palavras, o vigor é uma medida da capacidade das sementes de germinar e produzir plantas saudáveis e fortes, é determinado por uma combinação de fatores, incluindo a capacidade de germinação, a velocidade de germinação e a estabilidade fisiológica das sementes (NERLING, 2017). Além disso, ele afeta diretamente a qualidade e a produtividade das plantas germinadas, e como tal, é uma importante informação para os produtores e comerciantes de sementes (BRISTOT, 2020). Sementes de baixa qualidade e vigor tendem a germinar e crescer mais lentamente, produzir plantas menos saudáveis e, eventualmente, resultar em colheitas menos produtivas (KOLCHINSKI, 2005). Portanto, avaliar o vigor das sementes é importante para garantir a qualidade e o sucesso do plantio.

A semente é considerada uma estrutura de sobrevivência da espécie (MENEZES, 2012). São fontes diretas e indiretas de alimentos para homens e animais e contribuem decisivamente para o sucesso do estabelecimento do estande desejado em cultivos em campo (AGUIAR, 2017). A disponibilidade de sementes de alta qualidade é de fundamental importância para a expansão e renovação de áreas agrícolas no Brasil (MARCOS-FILHO, 2015).

Segundo Carvalho (1994), indivíduos de mesma espécie, vegetal ou animal, apresentam taxas de desenvolvimento diferentes, o que, naturalmente, os coloca em uma classificação distinta, sendo fortes ou fracos. O vigor trata-se de um termo biológico que é facilmente visualizado a partir desta citação. Durante vários anos, a avaliação da qualidade fisiológica foi efetuada apenas por meio do teste padrão de germinação; apenas nos anos 40 o teste de tetrazólio foi desenvolvido por Lakon, na Alemanha. Os principais testes de vigor, bem como outros que estão sendo desenvolvidos e propostos, podem ser agrupados em três categorias: física, fisiológica e bioquímica (AGUIAR, 2017).

Os testes físicos avaliam características como tamanho, peso e densidade das sementes. Já os testes fisiológicos medem parâmetros relacionados à germinação e crescimento, como a taxa de germinação, a velocidade de emergência das plântulas e a resistência às condições adversas, como frio e estresse osmótico. Os testes bioquímicos monitoram reações químicas que envolvem a manutenção celular, como o teste de tetrazólio; condutividade elétrica; respiração; proteína; ação enzimática; conteúdo de adenosina trifosfato (ATP) e atividade da descarboxilase do ácido glutâmico (AOSA, 1983).

O vigor é conhecido como um parâmetro para caracterizar o potencial fisiológico das sementes e indica os lotes de maior ou menor probabilidade de sucesso após a semeadura em campo ou durante o armazenamento, sob diferentes condições do ambiente, ampliando o leque de informações disponíveis sobre a viabilidade das sementes, com isso, o vigor reúne um conjunto de características que poderiam ser consideradas como atributos independentes, como a velocidade de germinação, o crescimento das plântulas, a habilidade para germinar sob temperaturas sub-ótimas e outras (ABUCARMA, 2008). Para Marcos-Filho (2015), os testes de vigor são utilizados com várias finalidades, mas a principal razão é a determinação das diferenças significativas no potencial fisiológico de um lote de sementes. Na literatura, foram encontrados relatos de que as avaliações do potencial fisiológico das sementes por meio de testes que demandam período relativamente curto estão relacionadas a mudanças

bioquímico-fisiológicas associadas ao vigor, como por exemplo, as atividades enzimáticas e respiratórias, cujas alterações podem ser identificadas nos tecidos do embrião pelo teste de tetrazólio (ABDUL-BAKI; ANDERSON, 1973; MARCOS-FILHO, 2005).

Avaliações que permitam a obtenção de informações seguras sobre o potencial fisiológico das sementes são de importância fundamental para as decisões a serem tomadas durante o processo produtivo e de comercialização das mesmas (BITTENCOURT *et al.*, 2012). Para tanto, o teste de tetrazólio é uma técnica que pode ser realizada em poucas horas, é mais rápido que o teste de germinação e fornece informações sobre a qualidade fisiológica das sementes (FRANÇA-NETO; KRZYZANOWSKI, 2018).

2.4 Teste de tetrazólio

O teste de tetrazólio baseia-se na análise da condição de cada semente individualmente (FRANÇA-NETO; KRZYZANOWSKI, 2018). Para se efetuar o teste de tetrazólio, as sementes maduras são hidratadas e colocadas em uma solução incolor contendo uma concentração de 2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio, que é um sal que tem sua atividade relacionada a enzimas no interior das células vivas (BHERING *et al.*, 2005). Neste processo, os íons H^+ , liberados durante a respiração dos tecidos vivos, são transferidos por um grupo de enzimas, particularmente, a desidrogenase do ácido málico, e interagem com o sal de tetrazólio, o qual sofre uma redução a um composto vermelho, estável e não difusível denominado trifênilformazan. 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 sal é reduzido, formando o trifênilformazan, isto indica que há atividade respiratória nas mitocôndrias, significando que há viabilidade celular e do tecido (FRANÇA-NETO; KRZYZANOWSKI, 2018).

Nas sementes de milho, existem células especializadas na região basal do endosperma que atuam no transporte dos açúcares solúveis das zonas terminais do floema, localizadas na região do pedicelo, para o endosperma e o embrião (TORREZAN, 2016). Desta maneira, é possível utilizar o sal de tetrazólio para identificar essas células. Se estiverem ativas, reagirão com o sal de tetrazólio, permitindo a observação das diferenças de cor e suas respectivas intensidades. Com o conhecimento das características das

sementes, é possível caracterizar a presença de distúrbios ocorridos nos tecidos embrionários (SOUZA-JUNIOR, 2018).

O teste de tetrazólio possui o diferencial de não requerer equipamento complexo, entretanto, exige bom conhecimento de morfologia da semente por parte do analista e seu resultado é bastante subjetivo. A subjetividade do teste provoca variações de resultados entre analistas em função da dificuldade de visualização das estruturas da semente, notadamente em sementes de milho e, da interpretação das tonalidades da coloração vermelha (KRZYZANOWSKI., 1994; DIAS; BARROS, 1995). Para obtenção de sucesso na interpretação é importante que o analista tenha conhecimento da morfologia da semente para realizar o teste de tetrazólio corretamente e interpretar os resultados de forma precisa.

2.5 Utilização de imagens para análise do teste de tetrazólio

Viana *et al.* (2000) apresentaram uma investigação inovadora sobre a utilização de técnicas de análise de imagens para interpretar o teste de tetrazólio em sementes de milho. Os autores desse trabalho buscaram aprimorar a interpretação do teste de tetrazólio, utilizando técnicas de análise de imagens para quantificar a cor da raiz germinada e correlacioná-la com a viabilidade das sementes. As imagens das sementes submetidas ao teste de tetrazólio foram capturadas e processadas com o objetivo de extrair informações quantitativas sobre a cor da raiz germinada. Os resultados do estudo indicaram que as técnicas de análise de imagens são eficazes para interpretar o teste de tetrazólio em sementes de milho, permitindo uma avaliação mais precisa da viabilidade das sementes. Além disso, as informações quantitativas obtidas a partir da análise de imagens permitiram estabelecer uma relação mais clara entre a cor da raiz germinada e a viabilidade das sementes.

Custódio *et al.* (2012) investigaram a possibilidade de utilizar imagens digitalizadas para avaliar o vigor de sementes de *Brachiaria brizantha* através do teste de tetrazólio. Esse estudo buscou determinar se a análise de imagem poderia ser uma ferramenta viável na avaliação do vigor de sementes, substituindo o método tradicional de avaliação manual. Os resultados do estudo apontaram para a eficácia da análise de imagem na avaliação do vigor das sementes de *B. brizantha*, mostrando que a tecnologia pode ser uma importante ferramenta na avaliação do potencial germinativo das sementes. Além disso, os autores destacaram a necessidade de aperfeiçoamento e otimização do

método de análise de imagem, a fim de torná-lo ainda mais preciso e confiável na avaliação do vigor de sementes. Em conclusão, esse estudo apresentou evidências de que a análise de imagem pode ser uma alternativa eficaz à avaliação manual do vigor de sementes através do teste de tetrazólio.

Souza-Junior (2018) abordou o uso de técnicas de aprendizado profundo para avaliar o vigor de sementes de soja. O aprendizado profundo é um método de inteligência artificial que ensina computadores a processar dados de uma forma inspirada pelo cérebro humano. Os modelos de aprendizado profundo conseguem reconhecer padrões complexos em imagens, texto, sons e outros dados para produzir informações precisas. Para realizar a avaliação do vigor das sementes, o autor utilizou o teste de tetrazólio. As imagens das sementes submetidas ao teste de tetrazólio foram coletadas e utilizadas como entrada para um modelo de aprendizado profundo. O modelo de aprendizado profundo foi treinado para classificar as imagens em diferentes níveis de vigor, baseando-se nas características visuais presentes nas imagens, como cor, textura e forma da raiz. O modelo aprendeu a identificar padrões nestas características visuais e a utilizá-los para classificar o vigor das sementes. Os resultados obtidos com o estudo apontam que o uso de técnicas de aprendizado profundo para avaliar o vigor de sementes de soja é eficaz, superando as técnicas de classificação tradicionais. Além disso, o modelo de aprendizado profundo forneceu informações precisas e de alta qualidade sobre o vigor das sementes, permitindo uma avaliação automatizada e eficiente da qualidade das sementes, fornecendo informações valiosas para o controle da qualidade das sementes e otimização da produção agrícola.

No trabalho de Garcia *et al.* (2021), os autores propuseram uma solução para uma das principais limitações do teste de tetrazólio: a subjetividade e falta de precisão na interpretação dos resultados, o que pode resultar em uma avaliação imprecisa do vigor das sementes. Para superar essa limitação, os autores propuseram utilizar imagens digitalizadas para interpretar o teste de tetrazólio em sementes de trigo. A metodologia consistiu em submeter as sementes de trigo ao teste de tetrazólio e, em seguida, digitalizar as imagens para análise. A partir da análise dos resultados obtidos, os autores concluíram que o uso de imagens digitalizadas é eficaz na avaliação do teste de tetrazólio em sementes de trigo, permitindo uma interpretação mais objetiva e precisa dos resultados.

A utilização de imagens digitalizadas na interpretação do teste de tetrazólio é uma abordagem inovadora e até então promissora para avaliar o vigor de sementes. Além de proporcionar uma interpretação mais objetiva e precisa, o uso de imagens digitalizadas

também permite uma análise mais rápida e eficiente dos resultados do teste de tetrazólio, o que pode ser útil em situações em que é necessário avaliar grandes volumes de sementes (GARCIA *et al.* 2021; FRANÇA-NETO; KRZYZANOWSKI, 2018).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de condução dos experimentos

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Fitotecnia, do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, AL, Brasil, utilizando 5 lotes de sementes de milho, provenientes da safra de 2022, coletadas em diversos municípios de Alagoas.

3.2 Avaliação do potencial fisiológico inicial das sementes

A avaliação do potencial fisiológico inicial dos 5 lotes de sementes de milho foi realizada utilizando o delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições de 50 sementes para cada um dos 5 lotes.

Para a realização dos testes, procedeu-se a assepsia das sementes antes e depois do manuseio, imergindo as sementes em álcool 70% por 1 minuto, seguindo-se com 3 enxágues em água.

As sementes foram colocadas para germinar entre duas folhas de papel toalha umedecidos com um volume de água em quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato, embrulhados em forma de rolos e depois colocados em câmara do tipo *Biochemical Oxygen Demand* a 30 °C (BRASIL, 2009).

Consideraram-se germinadas as sementes que originaram plântulas normais, com todas as suas estruturas essenciais, mostrando, dessa maneira, potencial para continuar seu desenvolvimento e originar plantas normais (BRASIL, 2009).

3.3 Variáveis analisadas

3.3.1 Porcentagem de germinação (G)

Para fins de avaliação da porcentagem de germinação, a contagem final foi realizada aos sete dias (BRASIL, 2009).

3.3.2 Primeira contagem de germinação (PC)

O teste de primeira contagem foi conduzido conjuntamente com o teste de germinação, computando-se a porcentagem de plântulas normais aos quatro dias da semeadura (BRASIL, 2009).

3.3.3 Índice de Velocidade de Germinação (IVG)

Para o Índice de Velocidade de Germinação (IVG), a contagem foi diária até a finalização do teste e calculado com a fórmula proposta por Maguire (1962), $IVG = (G1/N1) + (G2/N2) + (G3/N3) + \dots + (Gn/Nn)$, onde:

$G1, G2, G3, \dots, Gn$ = número de plântulas normais obtidas na primeira, segunda, terceira e última contagem;

$N1, N2, N3, \dots, Nn$ = número de dias entre a semeadura e a primeira, segunda, terceira e última contagem.

3.3.4 Tempo médio de germinação (t)

O tempo médio de germinação foi obtido pela fórmula $t = \sum_{k=1}^n (k \cdot n_i) / \sum_{k=1}^n n_i$, onde t_i : tempo do início do experimento até o i enésima observação (dias ou horas); n_i : número de sementes germinadas no tempo i (número correspondente o i enésima observação); k : último dia da germinação (CZABATOR, 1962).

3.3.5 Velocidade média de germinação (v)

A velocidade média de germinação foi calculada através da fórmula $v = 1/t$, sendo t o tempo médio de germinação (RANAL; SANTANA, 2006).

3.3.6 Uniformidade de germinação (u)

Para obter a uniformidade de germinação, utilizou-se a fórmula $U = -\sum Fr \log_2 Fr$, sendo Fr a frequência de germinação e $\log_2$ – logaritmo na base 2 (LABOURIAU, 1983; LABOURIAU; VALADARES, 1976).

3.3.7 Índice de sincronia (z)

Para o índice de sincronia, adotou-se a fórmula $Z = \Sigma C_{n1,2}/N \approx C_{n1,2} = n_i(n_i-1)/2$; $N = \Sigma n_i(\Sigma n_i-1)/2$, onde $C_{n1,2}$ a combinação das sementes germinadas no i enésimo tempo e n_i o número de sementes germinadas no tempo i (PRIMACK, 1980).

3.3.8 Comprimento de plântula (CP)

As plântulas obtidas ao final do teste de germinação foram medidas em parte aérea (PA), a partir do eixo hipocótilo-radícula até a base da plúmula, raiz (R) e total (T). Os resultados foram obtidos com auxílio de régua milimetrada, somando-se as medidas de cada repetição e dividindo-se pelo número de plântulas.

3.3.9 Massa seca de plântula (MS)

Ao término do teste de comprimento de plântula, a parte aérea e raiz, descartando-se os cotilédones, foram postas em sacos de papel *kraft* e submetidas a secagem em estufa de circulação forçada à 80 °C por 24 horas. Ao final, foram pesadas em balança analítica de precisão (0,0001 g). A soma das massas da PA e R compuseram a massa de plântula.

3.4 Tetrazólio

Para a padronização do teste de tetrazólio, foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com duas repetições de 50 sementes para cada um dos 5 lotes.

Para facilitar a absorção da solução de tetrazólio, as sementes foram pré-umedecidas por embebição em papel germitest umedecido na proporção de 2,5 vezes a massa (g) do substrato, acondicionado em rolos sob temperatura de 30°C em estufa por 16 horas. Decorrido este período, foi efetuado a bisseção longitudinal nas sementes com auxílio de pinça e bisturi com lâmina de bisturi n.º 22, sendo utilizada apenas uma metade da semente para coloração (BRASIL, 2009).

As metades utilizadas foram colocadas em copos de plásticos de 50 mL e imersas em solução do sal 2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio, na concentração de 0,075% pelo período de coloração de 3 horas em câmara do tipo B.O.D. a 40 °C no escuro.

Ao final do período de coloração, a solução foi descartada, e as sementes foram lavadas em água corrente por três vezes, totalizando 60 segundos de lavagem, e mantidas submersas em água destilada até o momento da avaliação.

Baseado nos padrões de coloração e de sanidade dos tecidos, foram classificadas como viáveis, as sementes cujo eixo embrionário apresentou coloração rosa, e como não viáveis, as sementes que apresentaram o eixo embrionário descolorido ou com coloração amarela ou vermelho muito intenso (FRANÇA-NETO; KRZYZANOWSKI, 2018; BRASIL, 2009).

Para separar diferentes categorias de sementes dentro desses dois grupos, as sementes com diferentes potenciais fisiológicos foram avaliadas uma a uma quanto à condição dos tecidos (firmes ou flácidos) e cor dos mesmos, e pela posição e tamanho dos danos observados nos cotilédones, plúmula e eixo hipocótilo-radícula (FRANÇA-NETO; KRZYZANOWSKI, 2018; MASULLO *et al.*, 2017).

A avaliação foi efetuada sob lupa de seis aumentos (6x) com iluminação fluorescente. A viabilidade determinada pelo teste de tetrazólio foi expressa em porcentagem de sementes viáveis (Tzv).

Em seguida, as sementes foram dispostas sobre vidro de scanner de mesa e digitalizadas, com imagens armazenadas em arquivo JPG.

Além da variável de Tzv, foram calculadas a porcentagem de sementes vigorosas (Tzvg), e o produto da viabilidade e vigor (Tzvvg) em nível de repetições obtido pela expressão $Tzvvg = [(Tzv)(Tzvg)]/100$ (GARCIA *et al.*, 2020; MASULLO *et al.*, 2017; BRASIL, 2009).

3.5 Análise estatística

Os dados de porcentagem de germinação, primeira contagem de germinação, Índice de Velocidade de Germinação, tempo médio de germinação, velocidade média de germinação, uniformidade de germinação, índice de sincronia, comprimento de plântula e massa seca de plântula foram submetidos à análise de variância, sendo a comparação de médias feita pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

As análises estatísticas foram realizadas no programa Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2014).

Os dados de Tzv, Tzvg e Tzvvg foram submetidos à análise de variância (ANOVA), sendo a comparação de médias feita pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância e aplicou-se a correlação entre as variáveis encontradas nos dois testes.

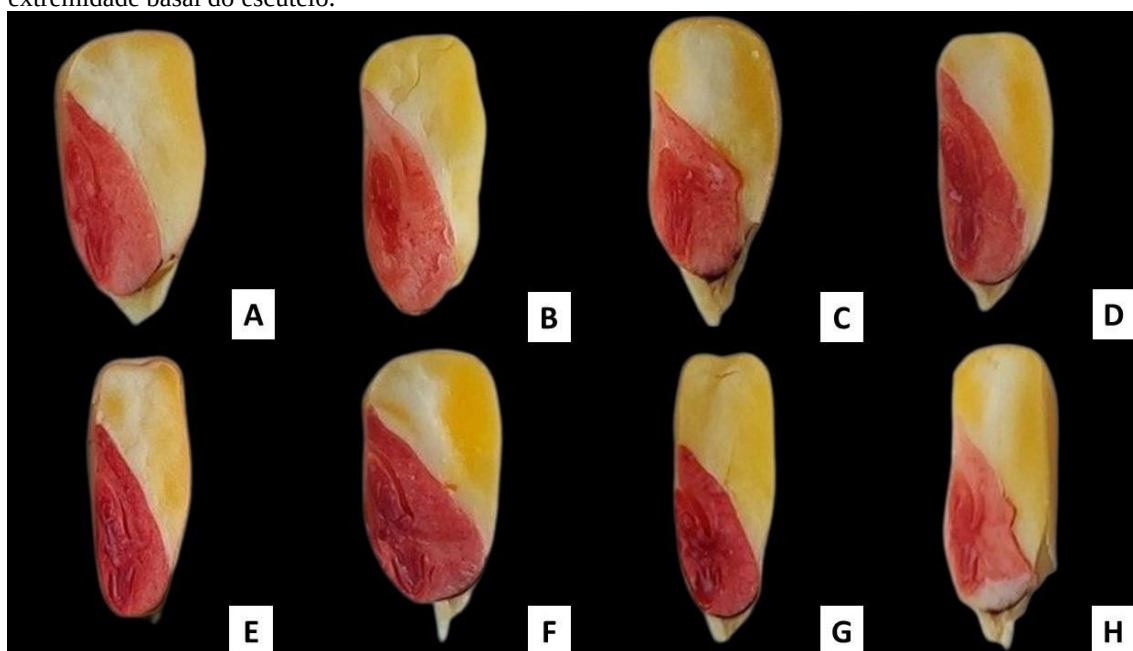
As análises estatísticas foram realizadas pelo *software* ASSISTAT 7.6 beta.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes de milho foram classificadas em três classes. Na Classe 1, foram incluídas as sementes vigorosas; na Classe 2, as viáveis com baixo vigor; e, na Classe 3, as sementes não viáveis; de acordo com o nível de danos e a deterioração.

A Figura 2 apresentou sementes de milho da Classe 1.

FIGURA 2 - Sementes de milho coloridas pelo tetrazólio da Classe 1: viáveis e vigorosas; A, B, C e D: eixo embrionário totalmente colorido de rosa claro brilhante e superficial, apresentando o escutelo com pontuações mais rosadas; E, F e G: eixo embrionário totalmente colorido em rosa brilhante superficial; e H: eixo embrionário colorido em rosa brilhante superficial, mas com pequena área descolorida na extremidade basal do escutelo.



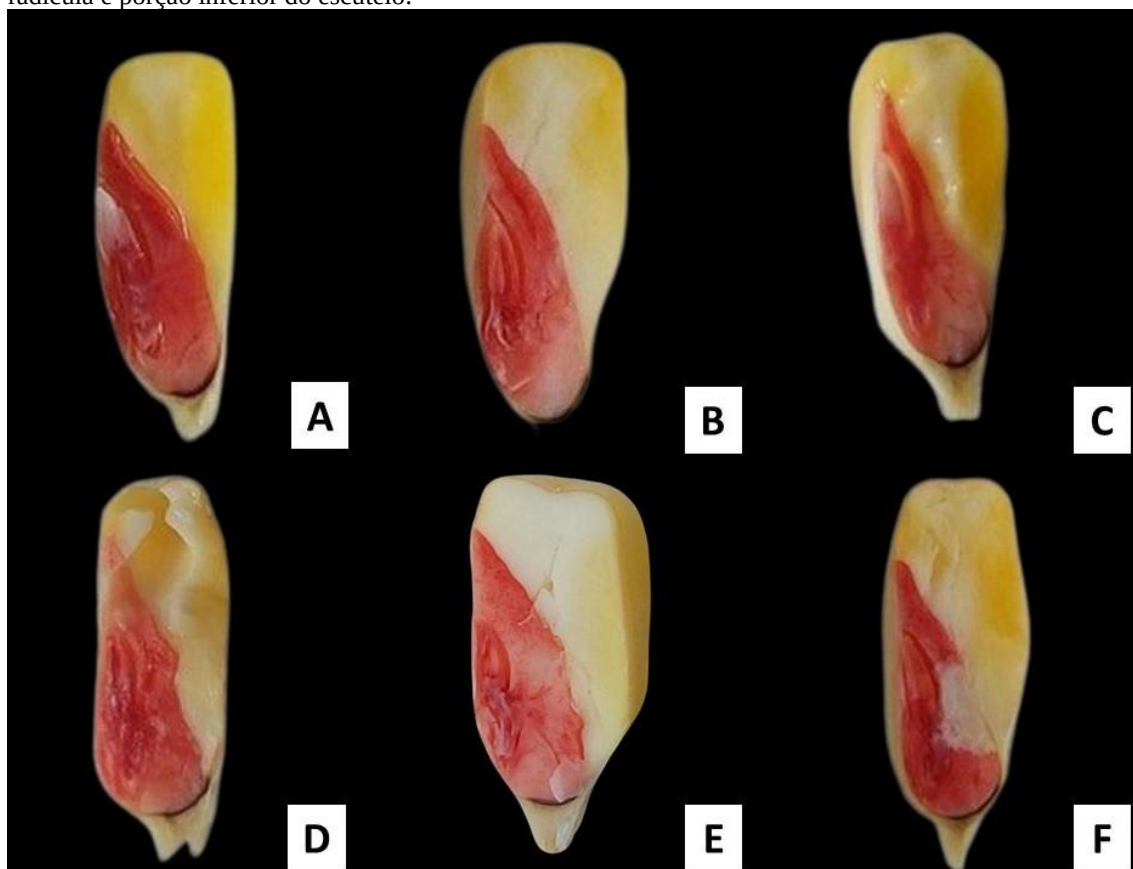
Fonte: Autor 2023.

Classe 1: Sementes viáveis e vigorosas – Nessa classe, foram incluídas as sementes perfeitas, com embrião apresentando coloração rosa brilhante, superficial, uniforme e sem lesões ou áreas de coloração mais intensa ou descolorida, que indicariam pontos deteriorados ou tecidos mortos (Figura 2, A-G). Também, foram incluídas as sementes com coloração mais intensa ou com pequenas áreas brancas nas extremidades do escutelo, desde que não tenham atingido a sua região central (Figura 2H).

Pode-se observar uma coloração uniforme e com o escutelo apresentando pontuações mais claras, o que é normal para sementes vigorosas. Ainda, verificou-se que todas as partes do embrião estavam bem visíveis, facilitando a interpretação (Figura 2).

A Figura 3 mostrou sementes de milho pertencentes à Classe 2.

FIGURA 3 - Sementes de milho da Classe 2: viáveis e não vigorosas; A e C: embrião com extremidade do coleóptilo descolorida; B e E: dano mecânico atingindo as regiões inferiores do escutelo, coleorriza e radícula; regiões dos nós escutelaes, coleóptilo, plúmula e região de ligação com o escutelo preservadas; D: região superior do escutelo danificada; F: região próxima aos nós escutelaes descolorida, afetando a radícula e porção inferior do escutelo.



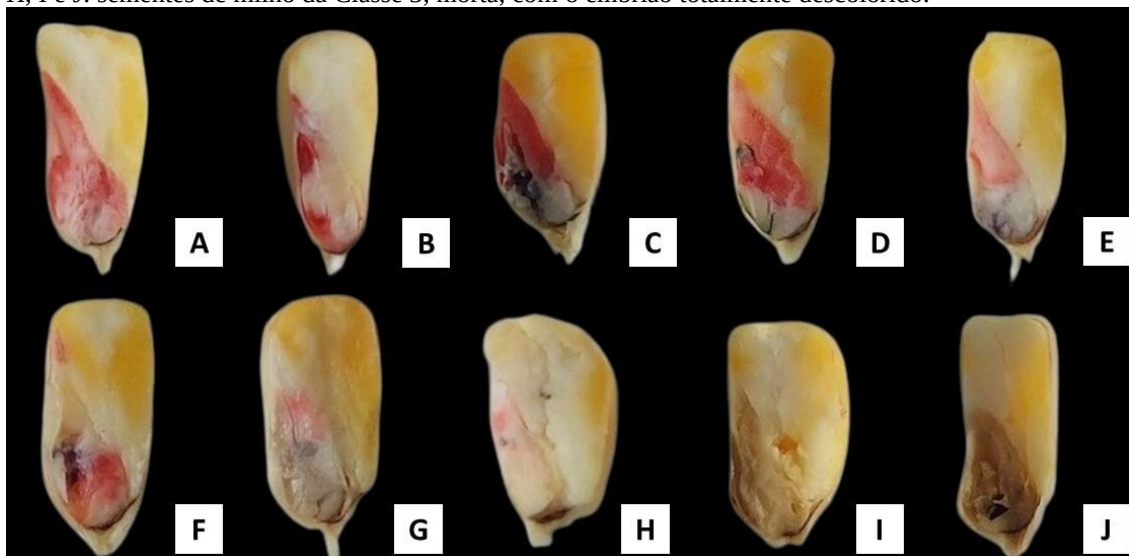
Fonte: Autor 2023.

Classe 2: Sementes viáveis e não vigorosas – Apresentaram o embrião com coloração vermelha intensa e profunda, indicando maior permeabilidade dos tecidos devido à deterioração (Figura 3, A-D). Também, foram incluídas nessa classe, as sementes que apresentaram danos mecânicos em áreas maiores do escutelo, desde que a região central não tenha sido atingida (Figura 3, E-F). O que indicou a capacidade para produzir uma plântula normal.

A Figura 3, ainda, ilustrou danos ocorrendo na região da coleorriza e radícula (Figura 3, A, B e E), bem como em regiões no escutelo na porção superior do mesmo ou próximas ao pedicelo (Figura 3, D e E), resultando em tecidos na coloração vermelho intenso ou branco leitoso (descolorido); regiões dos nós escutelaes, coleóptilo, plúmula e região de ligação com o escutelo preservadas, com coloração vermelho carmin normal.

Sementes da Classe 3 foram mostradas na Figura 4.

FIGURA 4 - Sementes de milho da Classe 3: não viáveis; A: extremidades superior e inferior do escutelo deterioradas, afetando a plúmula e radícula; B: eixo embrionário totalmente deteriorado (branco leitoso); C, D e E: 50% ou mais do embrião descolorido; F: plúmula, coleóptilo e parte do escutelo descoloridos; G, H, I e J: sementes de milho da Classe 3, morta, com o embrião totalmente descolorido.



Fonte: Autor 2023.

Classe 3: Sementes não viáveis – As sementes dessa classe apresentaram o embrião colorido, mas devido a danos críticos ou áreas descoloridas na região da plúmula e/ou do coleóptilo e/ou da radícula e a região dos nós escutelares e/ou porção central do escutelo, foram julgadas incapazes de produzir plântulas normais, após a semeadura (Figura 4, A-F). Nessa classe, também foram incluídas sementes com todo escutelo e parte ou todo o eixo embrionário descolorido, ou ainda, com o embrião totalmente descolorido, portanto fisiologicamente mortas (Figura 4, G-J).

Notaram-se, por exemplo, diversos tipos de danos ocorrendo nas regiões da plúmula, coleóptilo, radícula, coleoriza, nós escutelares e extremidades superior e inferior do escutelo (A-F). Nas Figuras 4G a 4J foram ilustradas sementes mortas.

Para se obter o coeficiente de correlação, as imagens das sementes submetidas ao teste de tetrazólio foram analisadas para determinar o número de sementes viáveis e inviáveis em cada lote. Com base nessa análise, as sementes foram classificadas dentro das três classes e a quantidade de sementes de cada classe por lote foi determinada em percentual. Lote 1 (39% classe 1; 52% classe 2 e 9% classe 3), lote 2 (48% classe 1; 46% classe 2 e 6% classe 3), lote 3 (12% classe 1; 50% classe 2 e 38% classe 3), lote 4 (83% classe 1; 17% classe 2 e 0% classe 3) e lote 5 (66% classe 1; 33% classe 2 e 1% classe 3). A partir desses dados, foi possível calcular o coeficiente de correlação entre as diferentes variáveis estudadas.

Vários autores utilizam imagens digitalizadas ou computadorizadas como recursos para avaliar a viabilidade de sementes por meio de diferentes técnicas.

Teixeira *et al.* (2006), utilizaram a análise computadorizada de imagens para avaliar o vigor de sementes de milho. A técnica digital permitiu a associação dos dados obtidos no processamento das imagens com eventuais diferenças de vigor existentes em lotes de sementes de milho, de maneira similar a outros métodos destinados à avaliação do vigor.

Garcia *et al.* (2020), avaliando a eficiência do teste de tetrazólio através da avaliação por análise de imagens digitalizadas na determinação da qualidade fisiológica de sementes de trigo, agruparam os lotes em três níveis de vigor. Esses autores observaram que o método foi eficiente na 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.

Pinto *et al.* (2012) verificaram que a técnica de análise de imagens foi de grande utilidade na avaliação de danos mecânicos em sementes de soja, possibilitando a análise detalhada dos efeitos de diferentes fatores. Pinto, Cicero e Forti (2007) avaliaram a eficiência da técnica de análise de imagens, por meio do teste de raios X, na identificação dos danos por umidade em sementes de soja, comparativamente ao teste de tetrazólio. Com os resultados obtidos, esses autores afirmaram que a análise de imagens se mostrou eficiente na detecção dos danos por umidade em sementes de soja.

A análise dos coeficientes de correlação na Tabela 1, corrobora a alta relação entre as variáveis estudadas. A correlação acima de 0,8 positivo sugere que as variáveis são altamente relacionadas. A partir desses resultados, foi possível observar que as variáveis de viabilidade de sementes (Tzv), vigor de sementes (Tzvg), produto da viabilidade e vigor (Tzvgv), germinação (G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de plântula (CP) e massa seca de plântulas (MSP) estão altamente correlacionadas.

Foi observado que o número de sementes viáveis (Tzv) e o percentual de germinação (G) apresentaram uma alta correlação positiva ($r=0,97$). Isso indica que essas duas variáveis estão altamente relacionadas e podem ser utilizadas em conjunto para avaliar a qualidade das sementes, em ambos os testes o resultado dessas variáveis coincidiu. Além disso, foi verificado que as sementes vigorosas (Tzvg) também apresentaram uma alta correlação positiva com o comprimento de plântula (CP), índice de velocidade de germinação (IVG) e massa seca da plântula (MSP), com coeficientes $r=0,90$, $r=0,89$ e $r=0,80$ sucessivamente.

TABELA 1 - Estimativa do coeficiente de correlação entre sementes viáveis (Tzv), sementes vigorosas (Tzvg), produto da viabilidade e vigor (Tzvvg), germinação (G), Índice de Velocidade de Germinação (IVG), comprimento de plântula (CP) e massa seca de plântulas (MSP) de milho.

	Tzv	Tzvg	Tzvvg	G	IVG	CP	MSP
Tzv	-	0,90**	0,89**	0,97**	0,91**	0,83**	0,88**
Tzvg	-	-	0,99**	0,92**	0,89**	0,90**	0,80**
Tzvvg	-	-	-	0,92**	0,88**	0,91**	0,80**
G	-	-	-	-	0,95**	0,94**	0,96**
IVG	-	-	-	-	-	0,92**	0,94**
CP	-	-	-	-	-	-	0,94**
MSP	-	-	-	-	-	-	-

** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.

Fonte: Autor 2023.

Outra relação importante observada foi entre a germinação (G) e o índice de velocidade de emergência (IVG), que apresentaram uma alta correlação positiva com um coeficiente de 0,95. Essa relação indica que as sementes que germinam rapidamente também apresentam um bom potencial de crescimento.

Comparando estes resultados com o vigor avaliado pelo teste de tetrazólio, constata-se que houve coerência quanto à separação dos lotes em níveis de vigor, o que foi confirmado pela análise de correlação,

A correlação positiva e significativa entre esses testes também foi observada em sementes de soja (BARROS; MARCOS-FILHO, 1997), abobrinha (BARROS *et al.*, 2005) e melancia (BHERING *et al.*, 2005; NERY *et al.*, 2007).

Como foram observadas correlações positivas e altamente significativas entre os resultados obtidos pelo teste de tetrazólio e pelo teste de germinação, pode-se constatar que a separação dos lotes em níveis de vigor por meio da técnica de análise de imagens foi coerente. Esses resultados indicam que a análise de imagens pode ser uma ferramenta eficiente na avaliação do potencial fisiológico das sementes de milho, permitindo uma avaliação mais rápida e precisa do vigor das sementes e, conseqüentemente, uma seleção mais criteriosa dos lotes para uso na produção agrícola (GARCIA *et al.*, 2020).

Com base nesses resultados, pode-se afirmar que a análise de imagens na determinação da viabilidade de lotes de sementes de milho pelo teste de tetrazólio é uma técnica eficiente na avaliação do potencial fisiológico das sementes. Os resultados da análise estão altamente correlacionados aos resultados do teste de germinação, o que valida o método de análise de imagens. Portanto, a técnica de análise de imagens pode ser uma ferramenta valiosa para a seleção de lotes de sementes de milho com alto

potencial de germinação e crescimento, permitindo a detecção de danos e anomalias que afetam a germinação e o desenvolvimento das plantas, o que pode contribuir para a melhoria da produtividade agrícola (TEIXEIRA *et al.*, 2006).

5 CONCLUSÃO

A utilização de imagens na interpretação do teste de tetrazólio permite uma análise mais rápida, eficiente e objetiva dos resultados, possibilitando a detecção de danos e anomalias que afetam a germinação e o desenvolvimento das plantas.

A correlação positiva e altamente significativa entre os resultados obtidos pelos métodos de análise de imagens e de germinação comprovam a validade da técnica.

A análise de imagens se mostrou uma ferramenta valiosa na determinação do vigor e viabilidade de sementes de milho em um período curto quando comparado a métodos convencionais, possibilitando a seleção de lotes com alto potencial de germinação e crescimento, o que pode impactar positivamente a produtividade agrícola.

REFERÊNCIAS

ABDUL-BAKI, A. A.; ANDERSON, J. D. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. **Crop Science**, Wisconsin, v. 13, n. 6, p. 630-633, 1973.

ABUCARMA, V. M. **Avaliação de sementes de variedades de milho em sistema de produção orgânica qualidade fisiológica e armazenabilidade das sementes**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon - PR, 2008. 61 p.

AGUIAR, R. P. **Obtenção de classes de vigor e viabilidade em sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu, através de imagens de teste de tetrazólio**. 71p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, 2017.

BARROS, J. F. C. e CALADO, J. G. **A cultura do milho**. Escola de Ciências e Tecnologia, Departamento de Fitotecnia, Universidade de Évora, 52 p., 2014.

BARROS, D.I.; DIAS, D.C.F.S.; BHERING, M.C.; DIAS, L.A.S.; ARAÚJO, E.F. Uso do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de abobrinha. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 27, n. 2, p. 165-171, 2005.

BARROS, A.S.R.; MARCOS FILHO, J. Testes para avaliação rápida do vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 2, p. 288-294, 1997.

BHERING, M. C.; DIAS, D. C. F. S.; BARROS, D. I. Adequação da metodologia do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melancia. **Revista Brasileira de sementes**, UFPB, Areia, PB, v.27, p.176-182, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-31222005000100022>

BITTENCOURT, S. R. M.; GRZYBOWSKI, C. R. S.; PANOBIANCO, M.; VIEIRA, R. D. Metodologia alternativa para condução do teste de envelhecimento acelerado em sementes de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.42, n.8, p.1360-1365, ago. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782012000800005>

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009. 395 p.

BRISTOT, J. C. S. **Avaliação do potencial germinativo da soja em função da profundidade de semeadura e tamanho da semente**. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó – SC, 2020. 33 p.

CARVALHO, N. M. O conceito de vigor em sementes. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 1-30.

CARVALHO, T. C.; KRZYŻANOWSKI, F. C.; OHLSON, O. C.; PANOBIANCO, M. Tetrazolium test adjustment for wheat seeds. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 3, p. 361-367, 2013. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S2317-15372013000300013>

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Acompanhamento da safra brasileira grãos, v. 9 – safra 2021/22 – Décimo segundo levantamento. Brasília, agosto 2020. 62 p. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos>>. Acesso em: 5 Dez 2022.

CORRÊA, P. D.; CICERO, S. M.; ABUD, H. F. Evaluation cottonseed vigor through computer image analysis of the seedlings. **Journal of Seed Science**, v. 41, n. 1, p. 67-74, jan. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/2317-1545v41n1200649>

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**, v. 34, n. 2, p. 177-183, jun. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-31222012000200020>

CZABATOR, F. J. Germination value: an index combining speed and completeness of pine seed germination. **Forest Science**, Washington, v. 8, n. 4, p. 386-396, 1962. DOI: <https://dx.doi.org/10.1093/forestscience/8.4.386>

DIAS, M.C.L. L.; BARROS, S.A.R. **Avaliação da qualidade de sementes de milho**. (IAPAR.Circular Técnica, 88). Londrina - PR, 1995. 43 p. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-90161998000200023>

FERREIRA, A. S.; DEMARTELAERE, A. C. F.; PEREIRA, M. D.; PRESTON, H. A. F.; FEITOSA, S. S.; MEDEIROS, J. G. F.; PÁDUA, G. V. G.; MEDEIROS, M. L. S. Inteligência artificial como método complementar na avaliação da qualidade fisiológica em sementes de *Leucaena leucocephala* (Lam.) Wit. **Brazilian Journal of Development**, [S. l.], v. 6, n. 8, p. 63157–63172, 2020. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n8-665>

FERREIRA, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>

FONTANIVE, D. E.; BIANCHETTO, R.; BESTER, G. F. B.; CARPES FILHO, L. E. N.; CEZIMBRA, J. C. G.; SOUZA, E. L. Produtividade de milho crioulo em três anos agrícolas, cultivado em sistema de baixa tecnologia no noroeste do Rio Grande do Sul. In: **IX SIEPEX-IX Salão Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão**. Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2019.

FRANÇA-NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Soja. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Londrina, PR: Embrapa Soja, 2018. 108 p. (Documentos/Embrapa Soja, ISSN 2176-2937; n. 406).

GARCIA, E. B.; ÁVILA, M. R.; FONSECA JÚNIOR, N. S.; NAGASHIMA, G. T. Imagens digitalizadas na avaliação do teste de tetrazólio em sementes de trigo. **Colloquium Agrariae**, Presidente Prudente, v. 16, n. 6, p. 67-78, 2020. DOI: <https://dx.doi.org/10.5747/ca.2020.v16.n6.a408>

KOLCHINSKI, E. M.; SCHUCH, L. O. B.; PESKE, S. T. Vigor de sementes e competição intraespecífica em soja. **Ciência Rural**, v. 35, p. 1248-1256, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000600004>

KRZYŻANOWSKI, C. F. Relato de testes de vigor disponíveis para as grandes culturas. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 1, n. 2, p. 59-61, 1994.

LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Lima: Secretaria Geral da OEA, c1983. 173 p. (OEA-Serie de Biologia. Monografia, 24).

LABOURIAU, L. G.; VALADARES, M. E. B. On the germination of seeds of *Calotropis procera* (Ait.) Ait.f. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 48, n. 2, p. 263-284, 1976.

MAGUIRE, J. D. Seed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962. DOI: <https://dx.doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2. ed. Londrina: ABRATES, 2015. 659 p.

MARCOS-FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past , presente and future perspective. **Scientia Agricola**, v.72, n.4, p.363-374, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0007>

MARCOS-FILHO, J. Utilização de testes de vigor em programas de controle de qualidade de sementes. **Informativo ABRATES**, Brasília, v.4, n.2, p.59-61. 1995.

MARCOS-FILHO, J.; KIKUTI, A. L. P.; LIMA, L. B. Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo a análise computadorizada de imagens. **Revista brasileira de sementes [Brazilian seed journal]**, v. 31, n. 1, p. 102–112, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-31222009000100012>

MASULLO, L. S.; PIÑA-RODRIGUES, M. C. F.; FIGLIOLIA, M. B.; AMÉRICO, C. Optimization of tetrazolium tests to assess the quality of *Platymiscium floribundum*, *Lonchocarpus muehlbergianus* and *Acacia polyphylla* DC. seeds. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 189-197, 2017. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v39n2167534>

MENEZES, M. O.; TAYLOR, N. P.; MACHADO, M. C.; COELHO, P. J. A.; CORREIA, D. Diversity and distribution of Cactaceae in Ceará state, northeastern Brazil. **Bradleya**, v. 2011, n. 29, p. 13-43, 2011.

MENEZES, N. L. **A semente e sua germinação**. Santa Maria: UFSM, 2012. 132 p.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYŻANOSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.2.1-2.24.

NERLING, D. **Qualidade fisiológica de sementes na obtenção de linhagens e híbridos de milho**. Tese de doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 2017. 153 p.

NERY, M. C.; CARVALHO, M. L. M.; OLIVEIRA, L. M. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de melancia. **Semina**, v. 28, n. 3, p. 365-372, 2007.

OHLSON, O. C.; KRZYZANOWSKI, F. C.; CAIEIRO, J. T.; PANOBIANCO, M. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de trigo. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.4, p.118-124, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-31222010000400013>

PEREIRA FILHO, I. A.; BORGHI, E. **Mercado de sementes de milho no Brasil: safra 2016/2017**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2016.

PINHEIRO, R. M.; GADOTTI, G. I.; MONTEIRO, R. C. M.; BERNARDY, R. Inteligência artificial na agricultura com aplicabilidade no setor sementeiro. **Diversitas Journal**, [S. l.], v. 6, n. 3, p. 2996–3012, 2021. DOI: https://doi.org/10.48017/Diversitas_Journal-v6i3-1857

PINHEIRO, A. P. F. **Efeito do tratamento de sementes com ozônio na cultura do milho**. Trabalho de Conclusão de Curso de graduação em Agronomia – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2016, 42 p.

PINTO, T. L. F.; CICERO, S. M.; FORTI, V. A. Avaliação de danos por umidade, em sementes de soja, utilizando a técnica da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes, Brasília**, v. 29, n. 3, p. 31-38, 2007. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0101-31222007000300004>

PINTO, T. L. F.; MONDO, V. H. V.; GOMES-JÚNIOR, F. G. G.; CICERO, S. M. Análise de imagens na avaliação de danos mecânicos em sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 42, n. 3, p. 310-316, 2012.

PRIMACK, R. B. Variation in the phenology of natural populations of montane shrubs in New Zealand. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 68, n. 3, p. 849-862, 1980. DOI: <https://dx.doi.org/10.2307/2259460>

RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. How and why to measure the germination process? **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 1-11, 2006. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-84042006000100002>

RIBEIRO, S. S. Cultura do milho no Brasil. **Revista Científica Semana Acadêmica**, Fortaleza, v. 1, n. 49, p. 59-71, 2014.

SAMPAIO, L. S. V.; SAMPAIO, H. S. V. Viabilidade e vigor de sementes de milho híbrido precoce. **Tópicos em ciências agrárias**, UFRB, v. 1, p. 106, 2009.

SANTOS, D. M.; BALDONI, A. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho. **GETEC**, Monte Carmelo, v. 7, n. 19, p. 19-30, 2018.

SILVA, M. A. P.; LIMA, J. J. P.; BIAGGIONI, M. A. M.; CAVARIANI, C.; FERREIRA, G. Seed quality of crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) submitted to different drying methods. Revista: **Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 47, n. 2, p. 358-365, abr./jun. 2016. DOI: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20160042>

SILVEIRA, D. C.; BONETTI, L. P.; TRAGNAGO, J. L.; NETO, N.; MONTEIRO, V. Caracterização agromorfológica de variedades de milho crioulo (*Zea mays* L.) na região noroeste do Rio Grande do Sul. Revista: **Ciência e Tecnologia**, Rio Grande do Sul, v. 1, n. 1, p. 01-11, 2015.

SOUZA-JUNIOR, M. **Classificação de imagens de soja baseada em aprendizado profundo**. 115 f. Dissertação (Mestrado em Informática) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Cornélio Procópio - PR, 2018.

TEIXEIRA, E. F.; CICERO, S. M.; NETO, D. D. Análise de imagens digitais de plântulas para avaliação do vigor de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 2, p. 159-167, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-31222006000200022>

TORREZAN, L. F. N. **É possível determinar a maturidade fisiológica das sementes de milho (*Zea mays*) utilizando o sal de tetrazólio?** 2016. 57 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba – SP. 2016. DOI: <https://doi.org/10.11606/D.11.2016.tde-05072016-105617>

VIANA, P. A.; FARIA, L. A.; JORGE, L. A. C.; MANTOVANI, E.; ANDREOLI, C. A interpretação do teste de tetrazólio em sementes de milho com o emprego da técnica de análise de imagens. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 23., 2000, Uberlândia, MG. A inovação tecnológica e a competitividade no contexto dos mercados globalizados: resumos expandidos. Sete Lagoas: ABMS: **Embrapa Milho e Sorgo**; Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2000.

VIEIRA, R. D. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal, FUNEP, 1994. 30 p.