



**Análise de imagens na determinação da viabilidade de sementes de milho
pelo teste de tetrazólio**

**Image analysis in the determination of maize seed viability through the
tetrazolium test**

DOI: 10.55905/revconv.16n.9-067

Recebimento dos originais: 14/08/2023

Aceitação para publicação: 14/09/2023

Gian Carlos Rodrigues Santos

Graduando em Agronomia

Instituição: Universidade Federal de Alagoas

Endereço: Rio Largo – AL, Brasil

E-mail: gian.santos@ceca.ufal.br

João Luciano de Andrade Melo Junior

Doutor em Agronomia

Instituição: Universidade Federal de Alagoas

Endereço: Rio Largo – AL, Brasil

E-mail: joão.junior@ceca.ufal.br

Luan Danilo Ferreira de Andrade Melo

Doutor em Agronomia

Instituição: Universidade Federal de Alagoas

Endereço: Rio Largo – AL, Brasil

E-mail: luan.melo@ceca.ufal.br

Mileny dos Santos de Souza

Doutora em Agronomia

Instituição: Universidade Federal de Alagoas

Endereço: Rio Largo – AL, Brasil

E-mail: mileny.souza@ceca.ufal.br

Reinaldo de Alencar Paes

Doutor em Agronomia

Instituição: Universidade Federal de Alagoas

Endereço: Rio Largo – AL, Brasil

E-mail: reinaldo.paes@ceca.ufal.br

César Auguste Badji

Doutor em Entomologia

Instituição: Universidade Federal do Agreste de Pernambuco

Endereço: Garanhuns - PE, Brasil

E-mail: cesar.badji@ufape.edu.br



Jaqueline Figueredo de Oliveira Costa

Doutora em Proteção de Plantas

Instituição: Universidade Federal de Alagoas

Endereço: Rio Largo – AL, Brasil

E-mail: jaqueline.costa@ceca.ufal.br

Natália Marinho Silva Crisóstomo

Mestranda em Produção Vegetal

Instituição: Universidade Federal de Alagoas

Endereço: Rio Largo – AL, Brasil

E-mail: natalia.crisostomo@ceca.ufal.br

RESUMO

O milho é uma das principais culturas agrícolas do mundo e uma fonte importante de amido, açúcar, óleo e proteínas. 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 ficou mais clara foram colocadas 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 em ambiente 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 60 segundos de lavagem e conservadas imersas em água. Para avaliar a viabilidade e o vigor das sementes, foi examinado criteriosamente o embrião com o auxílio de uma lupa com a ampliação de 6x 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, conseqüentemente, 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.

Keywords: agricultural productivity, vigor, *Zea mays* L.

1 INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays* L.) é extremamente importante para a economia mundial e está relacionada as mais variadas formas de utilização (RIBEIRO, 2014). É fonte de alimento, de combustível, de forragem, é uma das matérias primas mais utilizadas na indústria. O milho é cultivado em todas as regiões do país, em sistemas de sequeiro e irrigado. 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 ao ataque de pragas e doenças, o que garante uma produção mais eficiente 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 (FRANÇA-NETO; KRZYZANOWSKI, 2018). 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, conseqüentemente, 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 dos resultados do vigor e da viabilidade de sementes submetidas ao teste de tetrazólio, equiparando se a análises realizadas com microscopia óptica (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), as sementes que passaram pelo teste de tetrazólio são escaneadas e em seguida as imagens capturadas são armazenadas em formatos diversos. 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 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 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 cinco lotes de sementes de milho, provenientes da safra de 2022, coletadas em diversos municípios de Alagoas.

2.2 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FISIOLÓGICO INICIAL DAS SEMENTES

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

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

2.3 VARIÁVEIS ANALISADAS

2.3.1 Porcentagem de germinação (G)

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

2.3.2 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).



2.3.3 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.

2.3.4 Tempo médio de germinação (t)

O tempo médio de germinação foi obtido pela fórmula $t = \sum_{k=1}^k (n_i t_i) / \sum_{k=1}^k n_i$, 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).

2.3.5 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).

2.3.6 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).

2.3.7 Índice de sincronia (z)

Para o índice de sincronia, adotou-se a fórmula $Z = \sum C_{n1,2} / N \approx C_{n1,2} = n_i(n_i-1)/2$; $N = \sum n_i(\sum n_i-1)/2$, 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).



2.3.8 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.

2.3.9 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.

2.4 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 cinco 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 três 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 com auxílio de uma lupa na ampliação de 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).

2.5 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, massa seca de plântula, Tzv, Tzvg e Tzvvg foram submetidos à análise de variância. Para as variáveis Tzv, Tzvg e Tzvvg também se aplicou-se o teste de correlação.

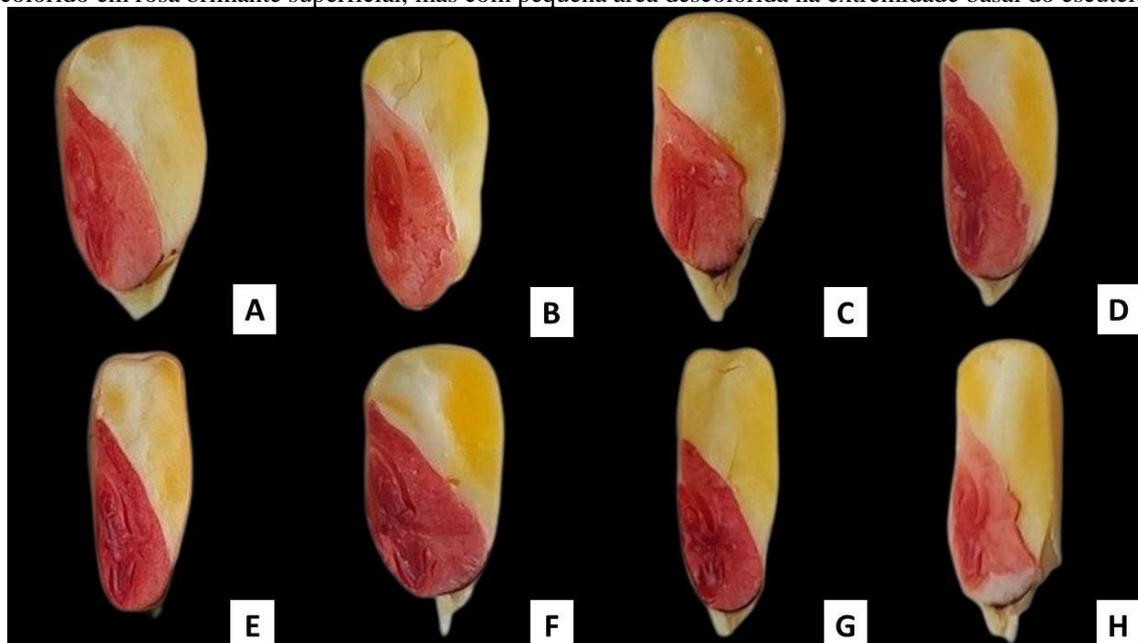
As análises estatísticas foram realizadas no programa Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2014).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes de milho colhidas em diferentes municípios de Alagoas foram classificadas em três classes de acordo com o teste de tetrazólio. Na Classe 1, foram incluídas as sementes vigorosas (Figura 1); na Classe 2, as viáveis com baixo vigor (Figura 2; e, na Classe 3, as sementes não viáveis; de acordo com o nível de danos e a deterioração (Figura 3).



Figura 1 - 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.



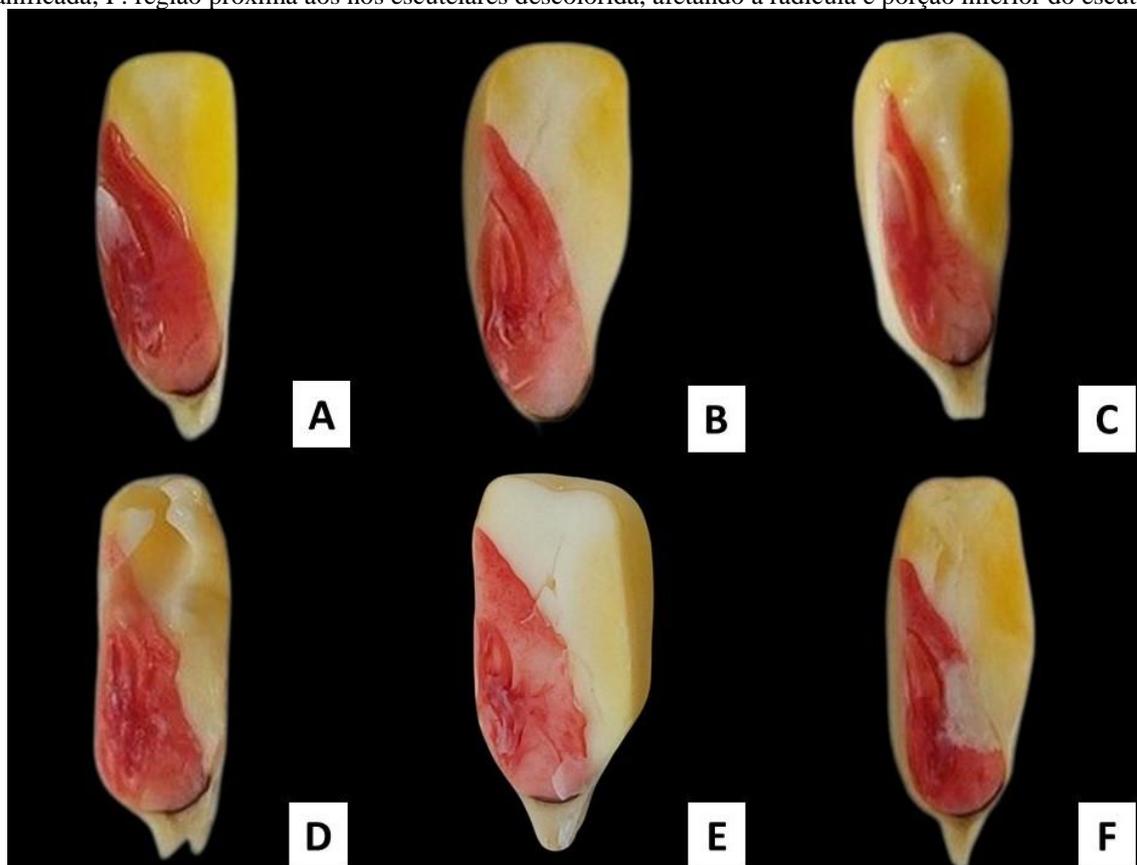
Fonte: Autor 2023.

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 1, 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 1H).

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 1).



Figura 2 - 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 escutelares, coleóptilo, plúmula e região de ligação com o escutelo preservadas; D: região superior do escutelo danificada; F: região próxima aos nós escutelares descolorida, afetando a radícula e porção inferior do escutelo.



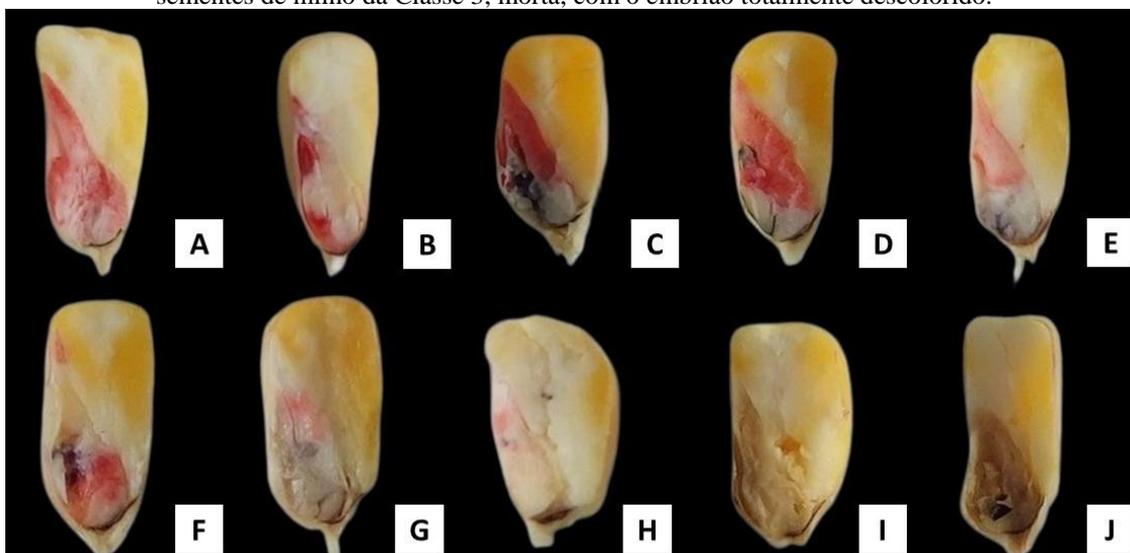
Fonte: Autor 2023.

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 2, 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 2, E-F). O que indicou a capacidade para produzir uma plântula normal.

A Figura 2, ainda, ilustrou danos ocorrendo na região da coleorriza e radícula (Figura 2, A, B e E), bem como em regiões no escutelo na porção superior do mesmo ou próximas ao pedicelo (Figura 2, D e E), resultando em tecidos na coloração vermelho intenso ou branco leitoso (descolorido); regiões dos nós escutelares, coleóptilo, plúmula e região de ligação com o escutelo preservadas, com coloração vermelho carmin normal.



Figura 3 - 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 3, 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 3, G-J).

Notaram-se, por exemplo, diversos tipos de danos ocorrendo nas regiões da plúmula, coleóptilo, radícula, coleorriza, nós escutelares e extremidades superior e inferior do escutelo (A-F). Nas Figuras 3G a 3J 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.

De acordo com a análise dos coeficientes de correlação, existe uma alta taxa de correlação entre as variáveis estudadas (Tabela 1). 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 (Tzvvg), 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 (Tzvgg), germinação (G), Índice de Velocidade de Germinação (IVG), comprimento de plântula (CP) e massa seca de plântulas (MSP) de milho.

	Tzv	Tzvg	Tzvgg	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**
Tzvgg	-	-	-	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).

4 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.

O teste de tetrazólio comprovou que as sementes de milho produzidas no estado de Alagoas possuem classes distintas e variam entre: sementes vigorosas, sementes viáveis e com baixo vigor, e sementes não viáveis.



REFERÊNCIAS

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>

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.

CORREA, 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>

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>

KRZYZANOWSKI, 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>

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>

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.

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

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.

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 Agronômica*, Fortaleza, v. 47, n. 2, p. 358-365, abr./jun. 2016. DOI: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20160042>

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>

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.