**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Análise computadorizada de imagens de plântulas para avaliação do vigor
de sementes de milho, em comparação a testes tradicionais**

Danielle Otte Carrara Castan

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

**Piracicaba
2014**

Danielle Otte Carrara Castan
Engenheira Agrônoma

**Análise computadorizada de imagens de plântulas para avaliação do vigor de sementes
de milho, em comparação a testes tradicionais**

Orientador:
Prof. Dr. **JULIO MARCOS FILHO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2014

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Castan, Danielle Otte Carrara

Análise computadorizada de imagens de plântulas para avaliação do vigor de sementes de milho, em comparação a testes tradicionais / Danielle Otte Carrara Castan. - - Piracicaba, 2014.

61 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2014.

1. *Zea mays* L. 2. Potencial fisiológico 3. Vigor 4. SVIS[®] 5. Vigor-S I. Título

CDD 633.15
C229a

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

DEDICO

Aos meus pais, Carla Maria Otte e Danilo Antonio Carrara Castan, pelo apoio, carinho, amor e incentivo que sempre me deram. Pela aprendizagem que tenho com vocês a cada dia, pelo exemplo de honestidade e dedicação. Devo muito a vocês por hoje ser quem eu sou.

Meu maior orgulho, meus pais.

À minha irmã, Duanne Castan Furtado, e toda minha família que sempre estiveram presentes na minha vida.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela presença em minha vida, por abençoar-me com saúde e com a família que tenho.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (USP/ESALQ) pela oportunidade valiosa de realizar Pós-Graduação.

Ao professor Julio Marcos Filho, pela dedicada orientação, paciência e inúmeros conhecimentos transmitidos que muito contribuíram para minha formação profissional. Muito obrigada pela confiança e oportunidade de poder tê-lo como meu orientador.

Aos professores Ana Dionísia da Luz Coelho Novembre e Sílvio Moure e Cicero, pelos ensinamentos e pela amizade.

Ao Eng. Agr. Dr. Francisco Guilhien Gomes Junior pela valiosa contribuição na condução dessa pesquisa, pela aprendizagem constante e pela amizade.

À Helena M. C. P. Chamma, pela amizade, carinho, dedicação e apoio nas análises de laboratório de sementes.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudo concedida no período de março de 2013 a julho de 2013.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pela bolsa de Mestrado concedida no período de agosto de 2013 a janeiro de 2015 e apoio financeiro.

À empresa Dow AgroSciences, pela cessão das sementes.

Aos funcionários do laboratório e do campo Hodair, Adilson, João, Ereinaldo, Ananias, Edson e secretários Luciane e Kaká.

Aos funcionários da Biblioteca Central da ESALQ, pelo atendimento e atenção dispensada.

Ao Professor Marco Eustáquio de Sá pela valiosa orientação na minha formação acadêmica, pelos conhecimentos transmitidos, pelo carinho e amizade. Admiro-o muito pela competência e pela humildade.

Ao meu namorado, Mateus Defavari Sarto pelo companheirismo, amor e carinho em todos os momentos.

Aos meus amigos, Adriana Bellemo, Cibele Zacaroni, Clíssia Barboza, Denis Costa, Francisco Santos, Greice Leal, Haynna Abud, Henrique Brant, Iuri Dario, José Luis Marchi, Larissa Chamma, Maicon Javorski, Marcella Freitas, Márcio Blanco, Marcos Altomani, Natalia Arruda, Nayara Gonçalves, Roberta Ferreira, Rodrigo Pescim, Sibelle Santanna, Simone Silva, Tatiana Moraes, Tatiane Tokairin e Victor Forti.

Aos amigos do GOU (Grupo de Oração Universitário) por serem pessoas iluminadas por Deus, pelo carinho e convívio.

EPIÍGRAFE

*“Senhor, fazei de mim um instrumento de vossa paz.
Onde houver ódio, que eu leve o Amor.
Onde houver ofensa, que eu leve o Perdão.
Onde houver discórdia, que eu leve a União.
Onde houver dúvidas, que eu leve a Fé.
Onde houver erro, que eu leve a Verdade.
Onde houver desespero, que eu leve a Esperança.
Onde houver tristeza, que eu leve a Alegria.
Onde houver trevas, que eu leve a luz!
Ó Mestre, fazei que eu procure mais:
consolar, que ser consolado;
compreender, que ser compreendido;
amar, que ser amado.
Pois é dando, que se recebe.
Perdoando que se é perdoado.
E é morrendo, que se vive para a vida eterna!”*

Oração de São Francisco

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 DESENVOLVIMENTO.....	17
2.1 Revisão bibliográfica.....	17
2.2 Material e métodos	22
2.2.1 Obtenção de lotes com diferentes potenciais fisiológicos	23
2.2.2 Avaliações do desempenho das sementes	24
2.2.2.1 Teor de água	24
2.2.2.2 Germinação.....	25
2.2.2.3 Envelhecimento acelerado (procedimento tradicional)	25
2.2.2.4 Envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl (EASS).....	25
2.2.2.5 Teste de frio	25
2.2.2.6 Emergência de plântulas em campo	26
2.2.2.7 Análise computadorizada de imagens de plântulas (SVIS [®] e Vigor-S).....	26
2.2.2.8 Análise estatística	31
2.3 Resultados e discussão	31
2.3.1 Híbrido 20A55 (Híbrido 1).....	31
2.3.2 Híbrido 2B604PW (Híbrido 2).....	43
2.3.3 Considerações gerais	52
3 CONCLUSÃO.....	53
REFERÊNCIAS	55

RESUMO

Análise computadorizada de imagens de plântulas para avaliação do vigor de sementes de milho, em comparação a testes tradicionais

O aprimoramento dos testes de vigor e a possibilidade da inserção de novos recursos computacionais para avaliação eficiente do potencial fisiológico de sementes tem despertado grande interesse da pesquisa e dos tecnologistas de sementes. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o potencial fisiológico de sementes de milho utilizando sistemas de análise computadorizada de imagens de plântulas (SVIS[®] e Vigor-S), comparativamente a outros métodos utilizados para avaliação do vigor dessa espécie. Utilizaram-se dois híbridos de milho, cada um representado por sete lotes de sementes, conduzindo-se avaliações da germinação e vigor (teste de frio, envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl e porcentagem de emergência de plântulas), em três épocas experimentais. Para a avaliação do vigor das sementes mediante a análise de imagens de plântulas, foram comparados o Seed Vigor Imaging System (SVIS[®]), desenvolvido pela Ohio State University/EUA e o sistema Análise Automatizada do Vigor de Sementes (Vigor-S), em desenvolvimento mediante colaboração entre USP/ESALQ e EMBRAPA/Instrumentação Agropecuária (CNPDIA). Os dados foram submetidos a análise da variância, em delineamento inteiramente casualizado (testes em laboratório) e em blocos ao acaso (testes em campo); as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Os resultados indicaram que a utilização da análise computadorizada de imagens de plântulas com o Vigor-S é promissora para avaliação do vigor de sementes de milho. O envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl, no período de 96 horas a 41 °C, é eficiente para avaliar o vigor de sementes de milho.

Palavras-chave: *Zea mays* L.; Vigor; SVIS[®]; Vigor-S

ABSTRACT

The use of computerized imaging analysis of seedlings to evaluate vigor of corn seed compared to traditional tests

The improvement of existing tests and the possibility of inserting new computational resources to accurately evaluate the physiological potential of seeds have gained great interest in seed research and from seed technologists. The objective of this research was to evaluate the physiological potential of corn seeds using systems of computerized imaging analysis of seedlings (SVIS[®] and Vigor-S) compared to other methods used to assess vigor of these seeds. Two corn hybrids were used, each represented by seven seed lots, assessing germination and vigor (cold test, traditional and saturated solution of NaCl accelerated aging and percentage of seedling emergence) in three experimental times. To evaluate the vigor of seed through the seedling imaging analysis, the Seed Vigor Imaging System (SVIS[®]), developed by Ohio State University/USA, with the system of Automated Analysis of Seed Vigor (Vigor-S), developed in cooperation between USP/ESALQ and EMBRAPA Agricultural Instrumentation (CNPDIA). The data were subjected to the analysis of variance in a completely randomized design (laboratory tests) and in randomized blocks (field tests) and the averages were compared by Tukey test ($p \leq 0.05$). The results showed that the use of computerized imaging analysis of seedlings with Vigor-S is promising to evaluate vigor of corn seeds. The accelerated aging with NaCl saturated solution in the period of 96 hours at 41°C is efficient to assess vigor of corn seeds.

Keywords: *Zea mays* L.; Vigor; SVIS[®]; Vigor-S

1 INTRODUÇÃO

A utilização de sementes com alto potencial fisiológico é imprescindível para o sucesso de culturas de expressão econômica devido à contribuição significativa para o estabelecimento adequado do estande e desenvolvimento inicial das plântulas em campo. Desta maneira, a avaliação segura desse parâmetro é fundamental, pois permite obter informações referentes ao potencial de desempenho das plântulas sob diferentes condições de ambiente, além de constituir referência importante para a seleção de lotes destinados à semeadura ou ao armazenamento.

Para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de milho, a literatura contempla diversos testes considerados eficientes; no entanto, faz-se necessária, a inclusão e o aprimoramento de novos procedimentos visando ampliar as alternativas para determinar o vigor dos lotes. Neste sentido, o envelhecimento acelerado com uso de solução saturada de NaCl, eficiente para diversas culturas mas ainda não suficientemente estudado para o milho, pode se constituir em outra opção a ser inserida em programas de controle de qualidade de sementes dessa espécie.

Outras contribuições relevantes para o progresso da análise do vigor de sementes de milho referem-se a testes componentes da análise de imagens que, amparados por sistemas computadorizados, destacam-se por sua precisão e objetividade. A utilização da análise de imagens está cada vez mais inserida nas pesquisas em Tecnologia de Sementes, com a obtenção de resultados consistentes para determinação de vários atributos da qualidade de sementes, dentre eles o vigor. A análise de imagens permite a avaliação do desempenho de plântulas, mediante a coleta de dados referentes ao crescimento e uniformidade de plântulas, como no Seed Vigor Imaging System (SVIS[®]).

A necessidade de aprimoramento dos sistemas com a possibilidade da inserção de novos recursos computacionais, incentivam o desenvolvimento de novos programas específicos para a avaliação do vigor de sementes de diferentes espécies. Nessa linha de pesquisa, o Sistema de Análise Automatizada do Vigor de Sementes (Vigor-S), em programa de colaboração entre a Universidade de São Paulo (USP/ESALQ) e a EMBRAPA/Instrumentação Agropecuária (CNPDI), foi projetado e está em fase de desenvolvimento, visando proporcionar maior eficiência e objetividade na avaliação do potencial fisiológico das sementes.

Diante da busca por novos conhecimentos e aprimoramento dos testes de vigor que possam ser eficientes e seguros para avaliação do potencial fisiológico de sementes de milho, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar o potencial fisiológico de sementes de

milho utilizando sistemas de análise computadorizada de imagens de plântulas (SVIS[®] e Vigor-S), comparativamente a outros métodos utilizados para avaliação do vigor dessa espécie, incluindo diferentes procedimentos para realização do teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão bibliográfica

O potencial fisiológico é um dos atributos que compõem a qualidade de sementes e sua estimativa está associada ao comportamento das sementes no teste de germinação e em testes de vigor. De acordo com Marcos-Filho (1998), a qualidade de sementes é o conjunto de características que determinam seu valor para a semeadura, indicando que o potencial de desempenho das sementes somente pode ser identificado, de maneira consistente, quando é considerada a interação dos atributos de natureza genética, física, fisiológica e a sanidade.

O teste de germinação, empregado rotineiramente para avaliação do potencial fisiológico de sementes sob condições controladas, pode fornecer resultados que superestimam o desempenho das sementes, em comparação ao verificado quando expostas a situações menos favoráveis de ambiente (WATERS; BLANCHETTE, 1983). Por isso, a utilização dos testes de vigor é fundamental para avaliar o potencial de desempenho das sementes sob ampla variação ambiental, sendo inadequada a adoção de um único teste, seja esse fisiológico, bioquímico ou de resistência a estresse (HAMPTON; COOLBEAR, 1990). Embora os resultados de testes de vigor não sejam incluídos em padrões para a comercialização de sementes, sua utilização é muito importante em programas de controle de qualidade conduzidos por empresas produtoras de sementes.

Segundo Delouche e Baskin (1973), após a maturidade fisiológica podem ocorrer alterações degenerativas nas sementes, de modo que potencial fisiológico pode ser mantido ou decrescer, dependendo das variáveis climáticas no período que antecede a colheita, dos cuidados durante a colheita, secagem, beneficiamento e armazenamento. A deterioração das sementes resulta na combinação de vários eventos pós-maturidade; por exemplo, o sistema de membranas celulares perde a permeabilidade seletiva, as enzimas tornam-se menos eficientes para exercer sua atividade catalítica (MARCOS-FILHO, 2005). Além disso, o decréscimo do potencial fisiológico também pode ser provocado pela degradação das macromoléculas essenciais para germinação (McDONALD, 1988); esse envelhecimento é resultado de um processo degenerativo contínuo, irreversível, que se inicia após a maturidade fisiológica culminando com a morte das sementes (DELOUCHE, 1963). Assim, o baixo vigor das sementes pode ser identificado de várias maneiras, dentre elas a maior demanda de tempo para germinação e emergência de plântulas e a menor tolerância a situações menos favoráveis de ambiente.

Com a sofisticação das técnicas de manejo cultural, aumenta a necessidade da utilização de sementes de alto potencial fisiológico (McDONALD, 1998). Segundo Souza, Yamashita e Carvalho (2007), o uso de sementes vigorosas com alta porcentagem de germinação é imprescindível para o estabelecimento da população adequada de plantas no campo e obtenção de produtividade elevada. Além disso, com o auxílio de testes de vigor é possível à identificação dos lotes apropriados para a semeadura, com base no potencial de emergência das plântulas em campo (MARCOS-FILHO, 1999). Dentre os testes mais utilizados para avaliação do vigor de sementes de milho estão o teste de frio (CÍCERO; VIEIRA, 1994; CASEIRO; MARCOS-FILHO, 2000), envelhecimento acelerado (MEDINA; MARCOS-FILHO, 1990; MIGUEL; MARCOS-FILHO, 2002; BAALBAKI et al., 2009); condutividade elétrica (TORRES, 1998), tetrazólio (DIAS; BARROS, 1995; CHAMMA; NOVENBRE, 2007) e comprimento das plântulas (ÁVILA; BRACCINI; SCAPIM, 2007).

De acordo com Cícero e Vieira (1994) o teste de frio foi desenvolvido inicialmente para avaliar o vigor de sementes de milho e, posteriormente, adaptado para outras espécies. Esse teste simula condições desfavoráveis como excesso de água no solo e baixas temperaturas que ocorrem, com frequência, durante a época de semeadura na área dos EUA conhecida por Cinturão do Milho. É o teste mais utilizado para avaliar o vigor de sementes de milho; a combinação de baixas temperaturas e excesso de água no substrato é utilizada para permitir apenas a sobrevivência das sementes mais vigorosas, pois esses fatores geralmente provocam redução da velocidade de emergência de plântulas e favorecem o desenvolvimento de microrganismos patogênicos.

Embora existam diversos trabalhos empregando o teste de frio para avaliação do vigor de sementes de outras espécies, os estudos com relação aos aspectos metodológicos e sua utilização se concentram com sementes de milho (BARROS et al., 1999). Comparando quatro procedimentos para a condução do teste em sementes de milho, Caseiro e Marcos-Filho (2000), concluíram que o procedimento “em bandeja” oferece maior facilidade para a padronização e permite a obtenção de resultados mais consistentes do que o teste com “terra em caixas”, inclusive quanto à relação com a emergência de plântulas em campo. O teste de frio também foi considerado eficiente para a avaliação do vigor de sementes de milho por Burris e Navratil (1979), Loeffler et al. (1985), Martin et al. (1988), TeKrony et al. (1989), Bruggink et al. (1991) e Woltz et al. (1998).

Outro procedimento frequentemente pesquisado para avaliação do vigor de sementes de diversas espécies é o teste de envelhecimento acelerado. O princípio desse teste consiste no aumento da taxa de deterioração das sementes pela sua exposição a níveis

elevados de temperatura e umidade relativa do ar, considerados os fatores ambientais de maior influência na intensidade e velocidade de deterioração (TEKRONY, 1995; MARCOS-FILHO, 1999). Permite distinguir, com segurança, lotes com maior ou menor probabilidade de apresentar bom desempenho após a semeadura e/ou durante o armazenamento (MARCOS-FILHO, 1994), sendo considerado eficiente para análise do vigor em sementes de milho (DELOUCHE; BASKIN, 1973; SCOTT, 1981; TEKRONY et al., 1989; WOLTZ; TEKRONY, 2001).

Jianhua e McDonald (1977) desenvolveram um procedimento com a exposição das sementes a soluções saturadas de sais, em substituição à água; retardando e uniformizando a absorção de água pelas sementes, a umidade relativa nos compartimentos individuais (NaCl: 76%, KCl: 87% ou NaBr: 55% de U.R.) é inferior à mantida no teste tradicional e, conseqüentemente, são reduzidas a velocidade e intensidade de absorção de água, o mesmo ocorrendo com a deterioração.

Dentre as vantagens do envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl, destaca-se a uniformização do teor de água das sementes, atingindo em torno de 11% a 14% ao final do período de envelhecimento, ou seja, mais próximo do verificado durante o armazenamento das sementes da maioria das espécies cultivadas (MARCOS-FILHO, 2005). Panobianco e Marcos-Filho (2001) trabalhando com sementes de dois híbridos de tomate, observaram que o uso da solução saturada de NaCl promoveu maior uniformização do teor de água das sementes quando comparado ao envelhecimento sem o uso da solução salina; foi observado ainda que o uso desse procedimento retardou a absorção de água pelas sementes em relação ao teste de envelhecimento acelerado tradicional, mas não acarretou perda da eficiência do teste para identificação de amostras com diferentes níveis de vigor.

A literatura documenta vários trabalhos comprovando a eficiência do teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl para avaliação do potencial fisiológico de sementes de soja (MARCOS-FILHO; NOVEMBRE; CHAMMA, 2001), trigo (FANAN et al., 2006), milho doce (BENNETT; EVANS; GRASSBAUGH, 2001; ALVARENGA; MARCOS-FILHO; GOMES-JUNIOR, 2012), amendoim (ROSSETTO; LIMA, GUIMARÃES, 2004), beterraba (SILVA; VIEIRA, 2006), cebola (RODO; MARCOS-FILHO, 2003), pimentão (PANOBIANCO; MARCOS-FILHO, 1998), pepino (BHÉRING et al., 2000), maxixe (TORRES; MARCOS-FILHO, 2001), rúcula (RAMOS et al., 2004), alface (KIKUTI; MARCOS-FILHO, 2012), couve-flor (KIKUTI; MARCOS-FILHO, 2008). No entanto, o envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl ainda não foi suficientemente avaliado para sementes de milho.

Apesar da existência de vários procedimentos para avaliação do vigor de sementes, gerando resultados confiáveis, deve-se considerar, sempre, a possibilidade de inclusão de alternativas inovadoras, favorecendo a padronização, precisão, objetividade e redução do período necessário para realização dos testes (MARCOS-FILHO, 2010). A análise computadorizada de imagens de plântulas constitui umas dessas alternativas, favorecendo tanto a redução do período necessário para condução do teste em comparação aos outros procedimentos, como a consistência das informações obtidas (ALVARENGA; MARCOS-FILHO; GOMES-JUNIOR, 2012).

Segundo Baalbaki et al. (2009), uma das primeiras tentativas para a utilização da análise de imagens para determinação do vigor de sementes foi realizada por McCormac et al. (1990), em cenoura e alface, e por Howarth e Stanwood (1993), em alface e sorgo. Posteriormente, Sako et al. (2001) desenvolveram nos EUA um sistema automatizado para avaliação do vigor de sementes de alface, denominado Seed Vigor Imaging System (SVIS[®]). Recentemente, mediante uma parceria entre a USP/ESALQ e a Embrapa Instrumentação Agropecuária (CNPDIA), está sendo desenvolvido o sistema Análise Automatizada do Vigor de Sementes (Vigor-S), que apresenta princípio semelhante ao SVIS[®] para avaliação do vigor de sementes.

O SVIS[®] consiste na captação de imagens digitais múltiplas em escâner, de plântulas, geralmente com três a quatro dias de idade, seguida pelo processamento das imagens com o uso de um programa de computação especialmente desenvolvido para esse fim; o processamento das imagens gera valores numéricos que, coletivamente, representam o potencial fisiológico das sementes, com base em parâmetros preestabelecidos (MARCOS-FILHO, 2005). Os dados podem incluir os comprimentos de parte aérea, da raiz primária e de toda plântula e, também, a uniformidade do desenvolvimento de plântulas (SAKO et al., 2001).

Embora o SVIS[®] tenha sido inicialmente desenvolvido para avaliação do vigor de sementes de alface (SAKO et al., 2001), sua eficiência foi comprovada na avaliação do potencial fisiológico de sementes de soja (HOFFMASTER et al., 2003; MARCOS-FILHO et al. 2009), milho (HOFFMASTER et al., 2005; OTONI; McDONALD, 2005) e melão (MARCOS-FILHO et al., 2006) dentre vários outros, após adaptações dos algoritmos computacionais originais.

Entretanto, mesmo havendo a necessidade da realização de ajustes manuais para identificação correta das partes das plântulas, o uso desse sistema tem apresentado resultados satisfatórios para avaliação do vigor de sementes de mamona (KOBORI et al.,

2010), pepino (CHIQUITO; GOMES-JUNIOR; MARCOS-FILHO, 2012), amendoim (MARCHI, 2010), milho superdoce (ALVARENGA; MARCOS-FILHO; GOMES-JUNIOR, 2012), *Crotalaria juncea* (SILVA et al., 2012), girassol (ROCHA, 2012) trigo (SILVA; GOMES-JUNIOR; CICERO, 2012) e feijão (GOMES-JUNIOR et al., 2014).

De acordo com Carvalho (2010), a rapidez na detecção de imagens digitais e no processamento de dados informatizados e a crescente diminuição dos custos tem tornado os sistemas de análise de imagens mais atraentes na avaliação automática de diferentes aspectos da qualidade e classificação de produtos agrícolas; as técnicas de processamento de imagens digitais propiciam uma maior sensibilidade da análise, inerente ao processamento computacional, permitindo a identificação de características que seriam difíceis de serem observadas. Nesse contexto, o SVIS[®] tem promovido informações rápidas e consistentes sobre o vigor de sementes, possibilitando a obtenção de resultados reproduzíveis, sem a interferência direta do analista (CHIQUITO; GOMES-JUNIOR; MARCOS-FILHO, 2012). O período necessário para gerar um índice de vigor a partir de imagens de plântulas escaneadas é menor que o requerido para executar, manualmente, o teste de comprimento de plântulas (HOFFMASTER et al., 2005) e os resultados completos para uma amostra de 50 sementes podem ser obtidos em dois a três minutos (GOMES-JUNIOR et al., 2009).

Os estudos da análise automatizada têm sido realizados visando, basicamente, a comparação dos resultados do SVIS[®] com os observados em testes de vigor mais recomendados, conforme constatado em melão (MARCOS-FILHO et al., 2006), soja (MARCOS-FILHO et al., 2009), pepino (CHIQUITO; GOMES-JUNIOR; MARCOS-FILHO, 2012), milho superdoce (ALVARENGA; MARCOS-FILHO; GOMES-JUNIOR, 2012), crotalária (SILVA et al., 2012), trigo (SILVA; GOMES-JUNIOR; CICERO, 2012) e outras espécies. Outras aplicações do SVIS[®] também foram dirigidas à avaliação do efeito do condicionamento fisiológico de sementes de mutamba (*Guazuma ulmifolia*), por BRANCALION et al., (2010) e milho doce (GOMES-JUNIOR et al., 2009) e do efeito do tratamento de sementes de amendoim (MARCHI et al., 2011) e de mamona (KOBORI et al., 2010).

Entretanto, uma das dificuldades encontradas na utilização do SVIS[®] para a avaliação do vigor de sementes de várias espécies, tem sido a necessidade de realizar ajustes com o auxílio do mouse após o processamento das imagens escaneadas, para identificar corretamente as partes das plântulas e posterior obtenção automática dos parâmetros que caracterizam o vigor da amostra. Estes ajustes manuais exigem cautela dos analistas para que

as partes das plântulas sejam devidamente identificadas pelo sistema, além de demandarem maior tempo para a finalização das análises.

Com a necessidade de aprimoramento dos sistemas e possibilidade da inserção de novos recursos computacionais para maior eficiência na avaliação do potencial fisiológico das sementes, o desenvolvimento de novos programas específicos para cada espécie tem sido de grande interesse, destacando-se o Sistema de Análise Automatizada do Vigor de Sementes (Vigor-S) concebido para esta finalidade. Considerando os benefícios da utilização da análise de imagens na pesquisa em sementes, destacados anteriormente, a confirmação da eficiência do Vigor-S para a identificação de diferenças no vigor entre lotes de sementes de milho com germinação semelhante, poderá constituir importante ferramenta para ser integrada aos programas de controle de qualidade de empresas produtoras de sementes.

2.2 Material e métodos

A pesquisa foi realizada nos Laboratórios de Análise de Sementes e de Análise de Imagens do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (USP/ESALQ), em Piracicaba, SP.

Foram utilizados dois híbridos de milho, 20A55 (Híbrido 1) e 2B604PW (Híbrido 2), produzidos pela empresa Dow AgroSciences[®], cada um representado por sete lotes de sementes não submetidas a tratamento químico, com germinação semelhante e diferenças de vigor. As informações fornecidas pela empresa com relação aos tamanhos das sementes dos dois híbridos (20A55 e 2B604PW) especificaram os tamanhos C2L e C3M. Para verificar a distribuição do tamanho das sementes nos lotes de cada híbrido, realizou-se o teste de uniformidade, conforme Brasil (2009). Verificou-se, nos lotes do Híbrido 1, a predominância de retenção de sementes em peneiras de crivos circulares com diâmetro de 9,1 mm (23/64”) e 8,7 mm (22/64”) e, para o Híbrido 2, 8,3 mm (21/64”) e 7,9 mm (20/64”).

A condução da pesquisa foi realizada em três épocas experimentais, com intervalos aproximadamente mensais, visando verificar a consistência dos resultados. Os lotes originais fornecidos pela empresa permaneceram armazenados em ambiente controlado (20 °C e 50% umidade relativa do ar), até que fosse finalizada a constituição dos lotes. Após a conclusão desta etapa, as sementes permaneceram armazenadas em embalagens permeáveis de papel, em câmara fria e seca, a 10 °C e 30% de umidade relativa do ar durante todo o período experimental, para não permitir o progresso acentuado da deterioração.

2.2.1 Obtenção de lotes com diferentes potenciais fisiológicos

Como a empresa não tinha disponibilidade de lotes de cada híbrido com potenciais fisiológicos diferentes, foi necessário efetuar o envelhecimento artificial de partes dos lotes de cada híbrido para a constituição dos lotes necessários à realização da pesquisa. Para tanto, foram conduzidos testes preliminares para a determinação da resposta das sementes de cada híbrido a esse envelhecimento. Assim, amostras dos lotes recebidos foram expostas a 41 °C e 100% de umidade relativa do ar durante 24, 48, 72, 96, 120, 144 horas e, com base na germinação dessas amostras envelhecidas, foram identificados e definidos períodos de envelhecimento artificial visando à obtenção de lotes com potencial fisiológico distinto. A constituição dos lotes dos dois híbridos constou da combinação de diferentes proporções de sementes com base no desempenho das amostras após diferentes períodos de envelhecimento artificial, procurando obter lotes com germinação superior à mínima estabelecida para comercialização de sementes de milho (85%) e diferenças no vigor.

Para o Híbrido 1 foi mantida uma quantidade de sementes não envelhecidas, constituindo o lote original; o restante foi dividido em duas partes, cada uma submetida ao envelhecimento artificial durante 24 e 48 horas, respectivamente, a 41 °C. Para o Híbrido 2 também foi mantida uma quantidade de sementes não envelhecidas, constituindo o lote original e, o restante, dividido em três partes, cada uma submetida ao envelhecimento artificial durante 24, 48 e 96 horas, respectivamente, a 41 °C. As combinações dos diferentes períodos de exposição das sementes ao envelhecimento acelerado artificial para os Híbridos 1 e 2 são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Períodos de exposição das sementes de cada híbrido, ao envelhecimento artificial para a constituição de lotes com diferentes potenciais fisiológicos

Híbrido	Lote	Períodos de exposição dos lotes originais ao envelhecimento artificial e combinações utilizadas para a constituição dos lotes definitivos
20A55	1	0 horas – Original
	2	24 horas
	2A	48 horas*
	3	70% L1 + 30% L2
	4	80% L1 + 20% L2
	5	80% L1 + 20% L2A
	6	90% L1 + 10% L2
	7	90% L2 + 10% L1
2B604PW	8	0 horas – Original
	9	24 horas
	10	48 horas
	10A	96 horas*
	12	70% L8 + 30% L9
	13	80% L8 + 20% L9
	14	80% L8 + 20% L10
	15	90% L8 + 10% L10A

* Lotes de sementes utilizados apenas para combinação com outros lotes

Após a composição dos lotes, foi realizada a homogeneização utilizando-se o divisor de solo e, em seguida, as sementes foram armazenadas em ambiente controlado (20 °C e 50% UR) com o objetivo de reduzir os teores de água (8,5-9,1%) após o envelhecimento. Ressalta-se, ainda, que a uniformização do teor de água das sementes é imprescindível para a obtenção de resultados comparáveis (MARCOS-FILHO, 1999).

Posteriormente à secagem e constituição dos lotes, iniciaram-se as avaliações correspondentes à primeira época; as sementes de cada lote destinadas à condução da segunda e terceira épocas de testes foram mantidas em câmara fria e seca (10 °C e 30% UR) em embalagem de papel.

2.2.2 Avaliações do desempenho das sementes

2.2.2.1 Teor de água

Determinado pelo método da estufa a 105 °C (± 3 °C) durante 24 horas (BRASIL, 2009), com duas amostras de 5g de sementes para cada lote. Os resultados foram expressos em porcentagem média (base úmida) por lote. Essa determinação também foi

realizada após a exposição das sementes ao envelhecimento acelerado (procedimento tradicional e com solução saturada de NaCl).

2.2.2.2 Germinação

Avaliada em quatro repetições de 50 sementes em rolos de papel-toalha umedecidos com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco, a 25 °C. As contagens foram efetuadas aos 4 e aos 7 dias após a semeadura, de acordo com os critérios estabelecidos em Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais para cada lote.

2.2.2.3 Envelhecimento acelerado (procedimento tradicional)

Realizado mediante a distribuição de amostras de sementes, em camada única, sobre uma tela suspensa no interior de uma caixa de plástico (11 cm x 11 cm x 3 cm) contendo 40 mL de água. Em seguida, as caixas foram mantidas em câmara B.O.D. regulada a 41 °C, durante 96 horas (MARCOS-FILHO, 1999). Transcorrido esse período, foi conduzido teste de germinação, conforme descrito no item 3.2.2., durante quatro dias e os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais para cada lote.

2.2.2.4 Envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl (EASS)

Conduzido conforme o procedimento descrito para a realização do teste de envelhecimento acelerado tradicional (3.2.3.); porém, o volume de água adicionado às caixas de plástico foi substituído por 40 mL de solução saturada de NaCl, visando proporcionar um ambiente com 76% de umidade relativa do ar, segundo Jianhua e McDonald (1996). As sementes foram submetidas aos períodos de 96, 120 e 144 horas de envelhecimento, a 41 °C, para identificação do mais adequado para avaliar, de maneira consistente, o vigor dos lotes estudados. Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais para cada lote.

2.2.2.5 Teste de frio

Conduzido com quatro repetições de 50 sementes por lote, utilizando-se bandejas de plástico de 34 cm x 23 cm x 7 cm, com 1 kg de mistura de terra e areia na proporção de 1:3. Em cada bandeja, após a adição do substrato, foram distribuídas duas repetições de 50 sementes e cobertas com 1 kg do mesmo substrato, conforme Caseiro e Marcos-Filho (2000). A disponibilidade de água do substrato foi ajustada para 70% da sua

capacidade de retenção e a água foi previamente resfriada a 10 °C. Finalizada a distribuição do substrato, das sementes e da água, cada bandeja foi colocada no interior de um saco de plástico transparente, para reduzir a evaporação, e, em seguida, mantida em câmara fria, a 10 °C, por sete dias. Após esse período, cada bandeja foi transferida para o germinador a 25 °C, sendo o registro das porcentagens de plântulas normais realizado aos cinco dias; os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais para cada lote.

2.2.2.6 Emergência de plântulas em campo

Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes, cada uma representada por um sulco de 4 m de comprimento e espaçado de 40 cm, onde as sementes foram distribuídas de maneira equidistante; os sulcos tinham cerca de 7 cm de profundidade e, a cobertura, efetuada com, aproximadamente, 3 cm de terra. As plântulas foram irrigadas por aspersão, de acordo com a necessidade. Registrou-se diariamente o número de plântulas emersas para determinar o índice de velocidade de emergência (MAGUIRE, 1962) e, ao final do décimo quarto dia, foi calculada a porcentagem de emergência de plântulas, obtendo-se valores médios por lote.

2.2.2.7 Análise computadorizada de imagens de plântulas (SVIS[®] e Vigor-S)

Utilizaram-se cinco repetições de 20 sementes por lote de cada híbrido, distribuídas em duas fileiras no terço superior sobre duas folhas de papel-toalha e cobertas com uma terceira folha. O substrato foi umedecido previamente com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a sua massa seca.

Para utilização do Seed Vigor Imaging System (SVIS[®]) os rolos contendo as sementes foram mantidos em germinador a 25 °C durante dois e três dias. Finalizados esses períodos, as plântulas de cada repetição foram transferidas do rolo de papel toalha para uma folha de cartolina de coloração preta com área de 30 cm x 22 cm, correspondente ao tamanho da área útil do escâner, a fim proporcionar o contraste necessário para análise pelo sistema. Em seguida, realizou-se a digitalização das imagens de plântulas por meio de escâner HP Scanjet G2410, instalado em posição invertida no interior de uma caixa de alumínio (60 x 50 x 12 cm), ajustado na resolução de 100dpi e acoplado a um computador.

As imagens foram processadas pelo Seed Vigor Imaging System (SVIS[®]) sendo gerados os índices de uniformidade de desenvolvimento e de vigor conforme Sako et al., (2001), compreendendo valores de 0 a 1000. Após o processamento das imagens, foram obtidos os valores médios dos índices de vigor e de uniformidade de desenvolvimento das

plântulas para cada lote, conforme descrito por Hoffmaster et al. (2003) e Marcos-Filho et al. (2006).

Para a obtenção dos resultados com o uso do SVIS[®], fixou-se o tamanho máximo das plântulas em seis polegadas (15,24 cm) e em uma polegada (2,54 cm) para as análises efetuadas em plântulas com três e dois dias, respectivamente. Esses tamanhos previamente fixados foram baseados em testes preliminares com amostras dos lotes dos Híbridos 1 e 2, identificando os valores mais adequados para serem utilizados na pesquisa em função das diferenças de tamanho das plântulas aos dois e três dias. A contribuição do valor do crescimento e da uniformidade para o cálculo do índice de vigor foi de 70% e 30%, respectivamente.

Para a utilização do Vigor-S (Figuras 1 e 2), os rolos contendo as sementes foram colocados em germinador a 25 °C durante três dias. Transcorrido esse período, as plântulas de cada repetição foram transferidas do rolo de papel toalha para duas folhas umedecidas de papel toalha (Germitest) de coloração azul, com área de 30 cm x 22 cm, correspondente ao tamanho da área útil do escâner HP Scanjet 200, instalado em posição invertida no interior de uma caixa de alumínio (60 x 50 x 12 cm), ajustado para resolução 300dpi e acoplado a um computador.

A contribuição do valor do crescimento e da uniformidade para o cálculo do índice de vigor também foi de 70% e 30%, respectivamente. Os índices de vigor e de uniformidade de desenvolvimento e o comprimento total de plântulas, em centímetros, foram gerados conforme os procedimentos ilustrados nas Figuras 3, 4 e 5. É possível obter informações sobre o comprimento da parte aérea (coleoptilo, identificado pelo sistema como hipocótilo) e raiz em centímetros e a relação parte aérea/raiz (identificada pelo sistema como hipocótilo/raiz) de cada plântula (Figura 6).

Figura 1 - Aspectos gerais da tela inicial característica do sistema Vigor-S

Figura 2 – Características gerais da tela que identifica o sistema Vigor-S ao iniciar os procedimentos para a análise computadorizada de imagem de plântulas

Figura 3 - Procedimento após a configuração inicial do sistema, para obtenção dos resultados referentes ao vigor dos lotes, selecionando em “abrir imagem” e “milho”

Figura 4 - Etapa seguinte, destinada à identificação da amostra em análise

Figura 5 - Valores referentes aos índices de vigor, de uniformidade de desenvolvimento e comprimento médio de plântulas (cm). Na tabela lateral encontram-se resultados correspondentes ao comprimento do hipocótilo (cm), da raiz (cm), do hipocótilo (pixels), da raiz (pixels), comprimento total (cm) e relação hipocótilo/raiz de cada plântula apresentada na imagem

Figura 6 - Imagem ampliada, com valores referentes ao comprimento do hipocótilo (cm), da raiz (cm), do hipocótilo (pixels), da raiz (pixels), comprimento total (cm) e relação hipocótilo/raiz de cada plântula apresentada na imagem

Com a finalidade de avaliar comparativamente a eficiência dos dois sistemas, as mesmas amostras de cada repetição de cada lote, após permanecerem o período de três dias em germinador, foram analisadas pelo Vigor-S e, em seguida, pelo SVIS®.

2.2.2.8 Análise estatística

Os dados foram submetidos a análise da variância, em delineamento inteiramente casualizado (Tabela 2), com exceção dos dados de emergência de plântulas em campo, analisados segundo delineamento blocos ao acaso (Tabela 3). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) e os dados expressos em porcentagem foram transformados em $\arcsin(x / 100)^{1/2}$.

Tabela 2 - Esquema da análise da variância para os testes realizados em laboratório

Causas de variação	GL
Lotes (L)	6
Épocas (E)	2
E x T	12
Resíduo	63
Total	83

Tabela 3 - Esquema da análise da variância para os testes realizados em laboratório

Causas de variação	GL
Lotes (L)	6
Épocas (E)	2
E x T	12
Blocos	3
Resíduo	60
Total	83

2.3 Resultados e discussão

2.3.1 Híbrido 20A55 (Híbrido 1)

As análises da variância dos dados obtidos não revelaram diferenças significativas para os efeitos da interação lotes x épocas sobre a germinação, primeira contagem de germinação, teste de frio, porcentagem e velocidade de emergência de plântulas e envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl (durante 96, 120 e 144 horas) em

todas as épocas de avaliação; os efeitos dessa interação, foram significativos para os dados obtidos no teste de envelhecimento acelerado tradicional.

Quanto aos efeitos dos lotes, não foram verificadas diferenças significativas para a maioria dos testes, enquanto efeitos de épocas ocorreram no teste de frio e na velocidade de emergência de plântulas. As médias obtidas nos testes de germinação e vigor (primeira contagem de germinação, frio, envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl e porcentagem e velocidade de emergência de plântulas) e os coeficientes de variação encontram-se na Tabela 4.

Apesar da realização de envelhecimento artificial para a composição dos lotes destinados à realização desta pesquisa, as diferenças de vigor dos lotes foram estreitas; verifica-se que o potencial fisiológico, avaliado pelos testes de germinação, primeira contagem de germinação, frio, porcentagem e velocidade de emergência de plântulas e envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl, não variou significativamente entre os lotes, mostrando que o procedimento adotado não foi suficiente para provocar variações entre os lotes, ou nenhum desses testes mostrou sensibilidade para detectá-las. Por outro lado, no teste de frio, verificaram-se variações entre épocas, com a intensificação da deterioração entre a segunda e a terceira épocas, não sendo possível identificar as razões dessa ocorrência, acusada apenas por esse teste.

As informações obtidas no teste de envelhecimento acelerado tradicional apresentaram coerência na identificação do lote menos vigoroso (L2), nas três épocas de avaliação; no entanto, essa mesma coerência não foi verificada para a identificação do lote mais vigoroso pois, na primeira época, destacou-se o lote 4, na segunda o lote 1 e, na terceira, os lotes 1, 3, 4, 5, 6 e 7. Diante dos resultados de germinação e vigor, verificou-se que, de maneira geral, as épocas pouco influenciaram o desempenho dos lotes.

Os resultados do envelhecimento acelerado, geralmente são traduzidos pelo grau de tolerância a condições adversas de temperatura e umidade relativa do ar, expressas por eventos da deterioração que precedem a morte das sementes, como reações químicas que determinam a velocidade de germinação e a taxa de crescimento de plântulas (CARNEIRO; GUEDES, 2002).

De acordo com Spinola, Cicero e Melo (2000), que avaliaram as alterações bioquímicas e fisiológicas que ocorrem nas sementes de milho submetidas a períodos de envelhecimento acelerado (100% UR e 41 °C), é provável que os resultados de outros testes de vigor não correspondam aos obtidos com o envelhecimento, pois as condições impostas às sementes neste teste, normalmente promovem efeitos negativos mais intensos a partir de 72

horas de exposição a temperatura e umidade relativa elevada, como alterações em isoenzimas, que independentemente do potencial fisiológico dos lotes, podem não ser detectadas por outros testes. Diante disso, faz-se necessário a utilização de resultados de mais de um teste de vigor para se obter informações mais detalhadas e diminuir possíveis erros de interpretação conduzidos à decisão de se aceitar ou rejeitar um lote de sementes para armazenamento ou semeadura (MENDONÇA et al., 2008). Além disso, conforme mostram os resultados obtidos nos testes apresentados na Tabela 4, as diferenças dos potenciais fisiológicos dos lotes foram estreitas, revelando alto vigor das sementes componentes das amostras avaliadas.

Informações semelhantes às proporcionadas pelos testes de germinação e de primeira contagem de germinação foram obtidas com o teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl, onde não foram constatados efeitos significativos dos lotes e das épocas. As condições desse teste promoveram efeitos pouco drásticos às sementes, em função da menor captação de água no decorrer do envelhecimento, de modo que a intensidade de deterioração foi reduzida, em relação a verificada após o envelhecimento acelerado tradicional. A utilização de períodos de até 144 h de exposição das sementes à solução saturada de NaCl não resultaram em estresse acentuado para as sementes, pois, as porcentagens de germinação permaneceram entre 97% e 100% nas três épocas de avaliação, diferentemente do envelhecimento tradicional, onde houve redução significativa da germinação dos lotes. O comportamento das sementes no teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl foi coerente, pois também não foram detectadas diferenças de vigor entre os lotes e épocas.

Tabela 4 - Valores médios referentes às avaliações de germinação (Germ.), primeira contagem de germinação (1ª Cont.), teste de frio, porcentagem (Porc. Emerg.) e velocidade de emergência de plântulas (Vel. Emerg.), envelhecimento acelerado tradicional (EA Trad.) e com solução saturada de NaCl nos períodos de 96 horas (EASS 96h), 120 horas (EASS 120h) e 144 horas (EASS 144h) de sete lotes de sementes de milho do Híbrido 20A55 (Híbrido 1), em três épocas de avaliação

Híbrido 1															
Lotes	Germinação			1ª Cont.			Teste de Frio			Porc. Emerg.			Vel. Emerg.		
	-----%-----														
	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3
L1	97Aa	99Aa	100Aa	96Aa	99Aa	99Aa	81Ab	80Aa	31Ac	96Aa	93Aa	98Aa	10,17Ab	10,76Aa	7,39Ac
L2	100Aa	100Aa	99Aa	100Aa	100Aa	99Aa	72Ab	85Aa	30Ac	90Aa	94Aa	95Aa	9,12Ab	10,45Aa	6,99Ac
L3	98Aa	100Aa	99Aa	97Aa	100Aa	99Aa	76Ab	91Aa	18Ac	97Aa	94Aa	96Aa	10,00Ab	10,72Aa	7,27Ac
L4	99Aa	100Aa	99Aa	99Aa	100Aa	99Aa	74Ab	89Aa	31Ac	94Aa	96Aa	95Aa	9,82Ab	10,90Aa	7,13Ac
L5	99Aa	99Aa	99Aa	98Aa	99Aa	99Aa	78Ab	81Aa	23Ac	97Aa	94Aa	94Aa	9,90Ab	10,65Aa	6,99Ac
L6	99Aa	100Aa	99Aa	99Aa	100Aa	99Aa	71Ab	84Aa	27Ac	97Aa	92Aa	97Aa	10,10Ab	10,49Aa	7,23Ac
L7	100Aa	98Aa	99Aa	100Aa	98Aa	99Aa	67Ab	83Aa	22Ac	95Aa	93Aa	95Aa	9,68Ab	10,48Aa	7,08Ac
C.V. (%)	1,78			1,82			11,63			5,07			6,34		

Lotes	EA Trad.			EASS 96h			EASS 120h			EASS 144h		
	-----%-----											
	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3
L1	67ABab	76Aa	61Ab	98Aa	98Aa	96Aa	99Aa	97Aa	99Aa	99Aa	98Aa	99Aa
L2	58Ba	55Ca	40Bb	97Aa	99Aa	99Aa	100Aa	96Aa	98Aa	97Aa	98Aa	99Aa
L3	62ABa	68ABCa	65Aa	99Aa	100Aa	99Aa	98Aa	100Aa	100Aa	99Aa	100Aa	98Aa
L4	72Aa	66ABCa	65Aa	99Aa	100Aa	99Aa	99Aa	100Aa	100Aa	100Aa	99Aa	99Aa
L5	62ABa	62BCa	64Aa	99Aa	99Aa	100Aa	99Aa	100Aa	99Aa	99Aa	98Aa	99Aa
L6	64ABa	73ABa	69Aa	99Aa	99Aa	100Aa	98Aa	100Aa	100Aa	98Aa	100Aa	99Aa
L7	65ABa	62BCa	59Aa	98Aa	99Aa	99Aa	99Aa	99Aa	98Aa	99Aa	100Aa	98Aa
C.V. (%)	9,43			1,70			2,25			1,77		

Letras maiúsculas: comparações entre médias dentro de cada coluna; letras minúsculas, comparações dentro de cada linha, separadamente para cada teste conduzido (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$)

Os teores de água dos lotes no início das avaliações e após os testes de envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl encontram-se na Tabela 5. Os teores de água foram próximos, isto é, 8,0 a 10,5%, 8,0 a 8,9% e 7,4 a 8,8 na primeira, segunda e terceira época, respectivamente. A variação do teor de água das sementes após o envelhecimento acelerado tradicional foi de 1,0% na primeira, 3,3% na segunda e 2,4% na terceira época, destacando a uniformidade das condições do teste. Variações de 3 a 4% são consideradas toleráveis de acordo com a literatura (MARCOS-FILHO, 1999); pesquisas mais recentes sugerem variação de até 2,0%, a fim de proporcionar maior confiabilidade dos resultados (MARCOS-FILHO, 2005).

Tabela 5 – Teor de água (%) antes do início das avaliações (GU Inicial) e depois dos testes de envelhecimento acelerado tradicional (GU EATrad.) e com solução saturada de NaCl durante 96 horas (GU EASS96h), 120 horas (GU EASS120 h) e 144 horas (GU EASS144h) de sete lotes de sementes de milho do Híbrido 20A55 (Híbrido 1), nas três épocas de avaliações

Híbrido 1										
Lotes	GU Inicial			GU EATrad			GU EASS96h			
	-----%-----									
	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3	
L1	8,0	8,1	7,8	24,0	23,6	23,8	11,6	11,1	11,4	
L2	10,5	8,9	7,9	23,1	24,2	24,3	12,0	11,2	11,6	
L3	8,9	8,6	7,7	23,4	23,5	24,2	11,5	11,0	10,7	
L4	8,6	8,4	8,3	23,8	22,9	23,7	11,7	11,5	11,4	
L5	8,4	8,3	7,4	23,0	26,2	22,6	11,9	10,8	11,4	
L6	8,6	8,0	7,7	23,5	24,1	22,7	11,8	10,9	11,0	
L7	9,5	8,6	8,8	23,1	24,1	21,9	12,1	10,7	11,0	
GU EASS120h										
Lotes	-----%-----									
	Época 1		Época 2		Época 3		Época 1		Época 2	
	Época 3						Época 3			
L1	11,1		11,0		11,2		11,0		11,4	
L2	11,3		11,6		11,4		11,8		11,7	
L3	11,1		11,3		11,1		11,5		11,3	
L4	11,1		11,6		11,1		11,1		11,5	
L5	11,1		11,6		11,1		10,9		10,7	
L6	11,2		11,2		11,3		11,1		10,9	
L7	11,6		11,7		11,8		11,3		10,9	

Verificou-se que os teores de água das sementes após os testes de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl durante 96, 120 e 144 horas, foram menores e mais uniformes (variações de 0,5 a 1,0% entre os lotes nas três épocas) em comparação aos verificados no envelhecimento acelerado tradicional. Esses resultados foram

semelhantes aos obtidos em pesquisas com diferentes espécies, como cenoura, (RODO; PANOBIANCO; MARCOS-FILHO, 2000), soja (MARCOS-FILHO; NOVEMBRE; CHAMMA, 2001), cebola (RODO; MARCOS-FILHO, 2003), rúcula (RAMOS et al., 2004) e pepino (TORRES, 2005).

O menor teor de água das sementes ao final desse teste é atribuído à adsorção das moléculas de água ao sal, restringindo sua disponibilidade no interior das caixas. Com isso, a taxa de evaporação é menor, o que acarreta menor umidade relativa do ar e resultando na redução da intensidade de deterioração (JIANHUA; McDONALD, 1996). Outra consequência dos níveis baixos de água atingidos pelas sementes é a interferência negativa e até mesmo a interrupção do crescimento dos patógenos que, quando presentes, contribuem para intensificar o processo de deterioração (SOAVE; WETZEL, 1987; JIANHUA; MCDONALD, 1996); além disso, mais uma vantagem do uso do NaCl é a estabilidade do grau de saturação sob diferentes temperaturas (SUN, 2002). Os resultados do teste de envelhecimento acelerado com o uso de solução saturada de NaCl com diferentes períodos de exposição das sementes comprovaram que, as diferenças entre os potenciais fisiológicos dos lotes eram estreitas.

Em relação aos testes de emergência de plântulas, nas três épocas de avaliação, os lotes sofreram baixa influência das condições climáticas, pois as porcentagens de emergência de plântulas foram semelhantes, inclusive às de germinação. As semeaduras foram realizadas no dia 12 de fevereiro (1ª época), 07 de abril (2ª época) e 09 de junho de 2014 (3ª época) e parâmetros climáticos encontram-se na Figura 7 (ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ” - ESALQ, 2014). Os limites de temperaturas considerados favoráveis à germinação e desenvolvimento inicial das plântulas de milho, situam-se entre 25 a 30 °C (FRATTINI, 1975).

Figura 7 - Variáveis climáticas: temperaturas máximas, médias e mínimas, umidade relativa do ar e precipitação pluvial durante a condução do teste no campo na primeira, segunda e terceira época de avaliação.

Fonte - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (2014)

Verificou-se que a velocidade de emergência das plântulas foi diferente entre as épocas de avaliação. Isto ocorreu principalmente porque na terceira época de avaliação, a temperatura média durante a condução do teste (inferior a 21,4 °C) atingiu níveis inferiores aos mais favoráveis à emergência das plântulas de milho. A redução da temperatura, exercendo efeitos sobre a velocidade de embebição e de mobilização de reservas, pode provocar decréscimo acentuado da velocidade de germinação (MARCOS-FILHO, 2005); em função disso, a germinação foi mais lenta em relação às verificadas na primeira e segunda época de avaliação, como mostraram os menores valores da velocidade de emergência de plântulas.

As análises da variância dos dados obtidos em testes SVIS[®] e Vigor-S revelaram diferenças significativas para os efeitos da interação lotes x épocas, para a maioria dos parâmetros analisados nos dois sistemas, ou seja: no SVIS[®], aos dois dias de germinação, para índice de vigor, uniformidade e comprimento de plântulas; no SVIS[®], aos três dias de germinação, para índice de vigor e comprimento de plântulas; e, finalmente, para o Vigor-S, índice de vigor, uniformidade e comprimento de plântulas. Os efeitos de épocas foram verificados para uniformidade de desenvolvimento de plântulas no SVIS[®] aos três dias de germinação; não foram constatados efeitos de lotes para os parâmetros avaliados.

Quanto aos efeitos de lotes, não houve diferenças significativas consistentes no potencial fisiológico, nas três épocas, considerando a maioria dos parâmetros avaliados pelos dois sistemas (Tabela 6). Verificou-se tendência dos lotes 1 e 3 serem os mais vigorosos, conforme o índice de vigor e a avaliação do comprimento de plântulas com o SVIS[®], aos dois dias de germinação, em duas das três épocas conduzidas. No entanto, essas informações não foram confirmadas quando se consideram os resultados obtidos com o SVIS[®] aos três dias de germinação, indicando que se trataram de diferenças esporádicas, conforme as já relatadas para o teste de envelhecimento acelerado tradicional. Nesse procedimento, a identificação dos lotes mais vigorosos ocorreu somente quanto ao índice de vigor, na segunda época, e ao comprimento de plântulas na segunda e terceira épocas. Desta maneira, o conjunto de resultados obtidos com o SVIS[®] não permitiu identificar, de maneira consistente, lotes mais e menos vigorosos, indicando forte tendência para similaridade do potencial fisiológico dos lotes aqui estudados.

A possível vantagem da avaliação ser efetuada aos dois dias germinação seria a economia de tempo necessário para a obtenção dos resultados, o que é altamente desejável na realização de testes de vigor. Embora, diferenças acentuadas no vigor entre os lotes não tenham sido constatadas, tanto aos dois dias quanto aos três dias de germinação, observou-se que os lotes que apresentaram diferenças numéricas no comprimento de plântulas aos dois dias, não seguiram essa mesma tendência aos três dias, indicando que o período de dois dias não foi suficiente para identificar diferenças consistentes no vigor (Tabela 6). Vale ressaltar que os resultados referentes ao comprimento das plântulas aos três dias, foram mais consistentes quando comparados a outros testes, pois, em geral, não houve diferenças no desempenho dos lotes. Isto pode ser ilustrado pela divergência entre os resultados, pois aos dois dias (primeira época) os lotes 2, 6 e 7 foram identificados como menos vigorosos e, aos três dias, não foram detectadas diferenças no vigor entre os lotes. Aspectos das plântulas aos dois e três dias após a semeadura podem ser visualizados nas Figuras 8 e 9.

Os testes de vigor baseados no desempenho de plântulas são fundamentados no fato de que as sementes mais vigorosas originam plântulas mais desenvolvidas, traduzindo a eficiência da ação dos mecanismos de reparo, da mobilização de reservas e de síntese de novos tecidos durante a germinação (MARCOS-FILHO, 2010). Além disso, a determinação da velocidade e uniformidade de crescimento constitui-se um dos métodos mais importantes para avaliação do vigor de sementes (HOFFMASTER et al., 2003) que, associados à análise computadorizada, permitiram a obtenção dos resultados coerentes com os outros testes de vigor e em período de tempo relativamente menor (três dias de germinação).

Os índices de uniformidade de desenvolvimento das plântulas tanto aos dois quanto aos três dias de germinação, conforme o SVIS[®], indicaram que os lotes eram constituídos por sementes que originaram plântulas com desenvolvimento uniforme, com exceção dos resultados obtidos na segunda época de avaliação com plântulas com dois dias de idade. Esse índice constitui de mais uma informação relevante, pois a uniformidade de desenvolvimento das plântulas interfere no estande final; sabe-se que o vigor de sementes está diretamente relacionado ao crescimento inicial das plantas de milho (MONDO et al., 2012). A emergência desuniforme pode conduzir a atrasos no desenvolvimento, variações no crescimento das plantas em diversos estádios fenológicos, interferência na qualidade do produto e nas características da planta relacionadas à eficiência da colheita (MARCOS-FILHO, 2005).

As informações fornecidas no SVIS[®] foram compatíveis com as obtidas nos outros testes de vigor utilizados (com exceção do envelhecimento acelerado tradicional), indicando que as diferenças entre o potencial fisiológico dos lotes eram estreitas ou inexistentes e, por isso, não identificadas. É natural que lotes com vigor elevado semelhante, conforme detectaram os testes de vigor conduzidos com sementes do Híbrido 1, origem plântulas com desenvolvimento uniforme, conforme indicaram as análises SVIS[®].

Figura 8 - Imagem de plântulas aos dois dias de germinação, conforme análise do SVIS[®]

Figura 9 - Imagem de plântulas submetidas à análise do SVIS® aos três dias de germinação

Resultados semelhantes aos verificados em análises SVIS® foram obtidos com o Vigor-S, não havendo identificação de diferenças consistentes no vigor entre os lotes, nas três épocas; além disso, evidenciou-se novamente o alto potencial fisiológico dos lotes. Na segunda época de avaliação, os resultados do Vigor-S foram coerentes com os obtidos no SVIS® quanto ao índice de vigor, que identificou o lote menos vigoroso (L5) e ao comprimento de plântulas, indicando o lote mais (L1) e o menos vigoroso (L5), aos três dias de germinação. No entanto isso não foi suficiente para caracterizar diferenças de vigor entre os lotes, acompanhando os resultados dos demais testes aqui conduzidos.

A possibilidade de inclusão do Vigor-S para avaliação do potencial fisiológico de sementes constitui-se de mais um avanço na área de análise de imagens. Em relação à aquisição das imagens, esse sistema permite a digitalização das plântulas diretamente sobre o papel de germinação (Germitest) de coloração azul, sem a necessidade de transferência das plântulas para a cartolina de coloração preta a fim de produzir o contraste necessário para o processamento das imagens. Isto implica diretamente na otimização do tempo de duração do teste, onde a rapidez na obtenção dos resultados é altamente desejável. Além disso, o Vigor-S proporciona, um dos fatores primordiais inerentes aos testes de vigor, maior precisão das análises com melhor identificação das partes das plântulas, graças à aquisição das imagens com maior resolução (300 dpi), reduzindo ainda mais a interferência humana na avaliação.

Diante dos resultados obtidos pelo conjunto de testes de germinação e de vigor observou-se que, mesmo com o envelhecimento artificial para a composição dos lotes do **Híbrido 1**, as diferenças entre os lotes foram estreitas, detectadas apenas pelo teste de envelhecimento acelerado tradicional. A inclusão do Vigor-S para análise de vigor de sementes, com base no desempenho de plântulas seguiu a mesma tendência dos resultados proporcionados pelo SVIS[®], do mesmo modo que as informações provenientes do teste de envelhecimento acelerado com solução de NaCl foram compatíveis com as originadas nos testes de germinação, frio, porcentagem e velocidade de emergência de plântulas. Considera-se que, em função dos potenciais fisiológicos dos lotes serem muito próximos, os resultados da análise computadorizada de imagens de plântulas pelo SVIS[®] aos dois e três dias de germinação não apontaram as diferenças de vigor.

Tabela 6- Valores médios referentes aos índices de vigor (IV), de uniformidade (IU) e comprimento de plântulas (Compr. - cm) analisados pelo SVIS[®], aos dois e três dias de germinação, e Vigor-S aos três dias de germinação de sete lotes de sementes de milho do Híbrido 20A55 (Híbrido 1), em três épocas de avaliações

Híbrido 1									
Lotes	SVIS® 2 DIAS								
	IV			IU			Comp. - cm		
	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3
L1	890Aa	657Ab	618ABb	890Aa	892Aa	856Ab	2,28Aa	1,40Ab	1,26ABb
L2	805ABa	545Bc	637ABb	902Aa	850Bb	862Ab	1,92Ba	1,00Bc	1,32ABb
L3	845ABa	649Ab	696Ab	893Aa	890Aa	865Aa	2,08ABa	1,36Ab	1,52Ab
L4	801ABa	647Ab	657ABb	895Aa	880ABab	866Ab	1,94ABa	1,38Ab	1,38ABb
L5	858ABa	625ABb	592Bb	901Aa	853Bb	848Ab	2,14ABa	1,26ABb	1,16Bb
L6	790Ba	628ABb	617ABb	901Aa	871ABb	882Aab	1,90Ba	1,28ABb	1,26ABb
L7	801ABa	610ABb	586Bb	897Aa	876ABa	847Ab	1,90Ba	1,28ABb	1,18ABb
C.V.(%)	7,37			2,14			12,29		
Lotes	SVIS® 3 DIAS								
	IV			IU			Comp. - cm		
	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3
L1	784Ab	885Aa	672Ac	906Aa	888Ab	901Ab	10,84Ab	13,22Aa	8,66ABc
L2	763Aab	797BCDa	701Ab	896Aa	899Ab	898Ab	10,52Aab	11,48BCDa	9,42ABb
L3	735Aa	751CDa	729Aa	899Aa	894Ab	894Ab	10,06Aa	10,38CDa	10,08Aa
L4	789Aa	750CDab	699Ab	911Aa	897Ab	895Ab	11,14Aa	10,38CDab	9,30ABb
L5	787Aa	721Db	653Ac	908Aa	898Ab	899Ab	11,12Aa	9,84Da	8,34Bb
L6	773Ab	843ABa	667Ac	910Aa	899Ab	896Ab	10,90Ab	12,62ABa	8,68ABc
L7	773Aa	806BCa	662Ab	913Aa	900Ab	892Ab	10,90Aa	11,72ABCa	8,52ABb
C.V.(%)	5,43			1,49			8,37		
Lotes	Vigor-S 3 DIAS								
	IV			IU			Comp. - cm		
	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3
L1	692Aab	748ABa	654Ab	704ABa	584Bb	732Aa	11,12Ab	14,08Aa	9,78Ab
L2	739Aa	747Ba	689Aa	777Aa	657ABb	746Aa	11,46Aab	12,20BCa	10,54Ab
L3	705Aa	702Ba	690Aa	701ABa	663ABa	705Aa	11,22Aa	11,52BCa	10,88Aa
L4	698Aa	720Ba	687Aa	702ABa	724Aa	775Aa	11,22Aa	11,36BCa	10,36Aa
L5	718Aa	710Ba	634Ab	750ABa	714Aa	736Aa	11,78Aa	11,14Ca	9,30Ab
L6	659Ab	836Aa	649Ab	646Bb	746Aa	749Aa	10,70Ab	14,40Aa	9,66Ab
L7	723Aa	790ABa	647Ab	725ABa	733Aa	711Aa	11,60Ab	13,00ABa	9,82Ac
C.V.(%)	6,53			7,89			8,07		

Letras maiúsculas: comparações entre médias dentro de cada coluna; letras minúsculas, comparações dentro de cada linha, separadamente para cada teste conduzido (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$)

2.3.2 Híbrido 2B604PW (Híbrido 2)

As análises da variância dos dados obtidos com as sementes do **Híbrido 2** para não revelaram diferenças significativas para os efeitos da interação lotes x épocas sobre todos os testes de germinação e vigor (primeira contagem de germinação, teste de frio, porcentagem e velocidade de emergência de plântulas, envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl durante 96, 120 e 144 horas).

Em relação aos efeitos dos lotes, não foram verificadas diferenças significativas para os testes de germinação, primeira contagem de germinação, frio, porcentagem e velocidade de emergência de plântulas; esses efeitos foram significativos para os dados obtidos no teste de envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl, em todos os períodos de tempo e nas épocas de avaliação. Os efeitos de épocas foram nos testes de frio, porcentagem e velocidade de emergência de plântulas. As médias obtidas nos testes de germinação e vigor e os respectivos coeficientes de variação encontram-se na Tabela 7.

Verificou-se que, embora tenha sido realizado o envelhecimento artificial para a composição dos lotes, as diferenças de vigor dos lotes foram estreitas e não variaram significativamente quando avaliadas pelos testes de germinação, primeira contagem de germinação, frio, porcentagem e velocidade de emergência de plântulas. Por outro lado, houve variações significativas entre épocas no teste de frio, com redução expressiva da viabilidade das sementes na segunda para a terceira épocas; possivelmente em consequência do envelhecimento artificial inicial que intensificou a deterioração das sementes submetidas nesse teste.

As informações proporcionadas pelos resultados dos testes de envelhecimento acelerado tradicional (96 horas a 41 °C) permitiram identificar diferenças no vigor dos lotes, revelando o lote 8 como o mais vigoroso, nas três épocas de avaliação. No entanto, houve redução drástica na germinação (inferior a 28%) após o envelhecimento, em todas as épocas, subestimando o vigor dos lotes, o que tornou os resultados sem valor comparativo aos outros testes utilizados. Diante desses resultados, as informações referentes ao vigor foram comprometidas, pois os lotes apresentaram baixo vigor, que possivelmente implicaria na baixa probabilidade de apresentar desempenho adequado após a semeadura ou durante o armazenamento.

Em função do teste de envelhecimento acelerado tradicional expressar a sobrevivência das sementes, ou seja, a porcentagem de plântulas normais, e não eventos que

precedem a deterioração, testes relacionando a velocidade de germinação e a taxa de crescimento de plântulas podem complementar as informações obtidas a respeito do vigor dos lotes (CARNEIRO; GUEDES, 2002).

Os testes de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl a 41 °C durante 96, 120 e 144 horas, foram sensíveis para identificar diferenças significativas de vigor dos lotes, coerentes entre si, permitindo inferir os lotes mais (L8, L9, L10, L12, L13 e L14) e o menos vigoroso (L15), em todas as épocas de avaliação. Verificou-se que mesmo com a redução do teor de água das sementes após o teste, na média houve pequena redução da germinação, mas suficiente para a identificação dos níveis de vigor. Os resultados desse teste evidenciaram comportamento inferior do lote 15, de maneira semelhante à verificada no envelhecimento tradicional, embora este último teste, tenha promovido maior deterioração nas sementes.

Considerando a eficiência dos testes de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl nos diferentes períodos, o período menor de tempo (96 horas), foi eficiente e sensível para avaliação do potencial fisiológico dos lotes, em relação ao envelhecimento acelerado tradicional, que promoveu acentuada deterioração nas sementes, verificada pela redução drástica da germinação, inviabilizando a utilização dos resultados.

Especificamente para o milho, são escassas as informações sobre a utilização da solução saturada de NaCl no teste de envelhecimento acelerado, ao contrário de sementes de hortaliças, nas quais este teste é frequentemente estudado. Entretanto, as informações obtidas nesta pesquisa, que devido à presença da solução saturada de sal, os efeitos da deterioração foram menos intensos, mas suficiente para promover estresse nas sementes e fornecer informações referentes ao vigor dos lotes, concordando com o constatado em diversos trabalhos (RAMOS et al., 2004; FESSEL et al., 2005; ALVES et al., 2012). Outra vantagem da utilização do teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl consiste em determinar o potencial fisiológico dos lotes submetidos à condições adversas mais compatíveis com as geralmente predominantes durante o armazenamento.

Tabela 7 - Valores médios referentes às avaliações de germinação (Germ.), primeira contagem de germinação (1ª Cont.), teste de frio, porcentagem (Porc. Emerg.) e velocidade de emergência de plântulas (Vel. Emerg.), envelhecimento acelerado tradicional (EA Trad.) e com solução saturada de NaCl nos períodos de 96 horas (EASS 96h), 120 horas (EASS 120h) e 144 horas (EASS 144h) de sete lotes de sementes de milho do Híbrido 2B604PW (Híbrido 2), em três épocas de avaliação

Híbrido 2															
Lotes	Germinação			1ª Cont.		Teste de Frio				Porc. Emerg.			Vel. Emerg.		
	-----%														
	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3
L8	100Aa	100Aa	99Aa	100Aa	97Aa	99Aa	67Ab	79Aa	20Ac	95Ab	100Aa	97Ab	9,89Ab	11,69Aa	9,96Ac
L9	100Aa	100Aa	100Aa	99Aa	99Aa	100Aa	66Ab	86Aa	17Ac	94Ab	98Aa	97Ab	9,59Ab	11,24Aa	6,95Ac
L10	98Aa	99Aa	99Aa	97Aa	99Aa	99Aa	76Ab	83Aa	19Ac	97Ab	99Aa	95Ab	10,00Ab	11,32Aa	6,82Ac
L12	100Aa	99Aa	100Aa	100Aa	99Aa	100Aa	74Ab	81Aa	21Ac	96Ab	98Aa	98Ab	10,08Ab	11,44Aa	7,24Ac
L13	100Aa	97Aa	99Aa	99Aa	96Aa	99Aa	72Ab	82Aa	17Ac	95Ab	98Aa	96Ab	9,86Ab	11,41Aa	6,89Ac
L14	99Aa	98Aa	98Aa	98Aa	98Aa	98Aa	67Ab	82Aa	19Ac	98Ab	100Aa	95Ab	10,12Ab	11,27Aa	6,99Ac
L15	98Aa	98Aa	99Aa	97Aa	97Aa	98Aa	68Ab	84Aa	22Ac	94Ab	97Aa	97Ab	9,77Ab	11,17Aa	7,02Ac
C.V. (%)	1,55			1,95			11,69			3,16			4,99		

EA Trad.													EASS 96h			EASS 120h			EASS 144h		
Lotes	-----%																				
	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3						
L8	28Aa	21Aa	25Aa	99Aa	98Aa	98Aa	99Aa	100Aa	98Aa	100Aa	99Aa	100Aa	99Aa	99Aa	100Aa						
L9	12Ba	14Ba	14Ba	98Aa	100Aa	99Aa	99Aa	99Aa	100Aa	97Aa	99Aa	100Aa	99Aa	99Aa	100Aa						
L10	10Ba	9Ba	11Ba	99Aa	99Aa	96Aa	98Aa	100Aa	99Aa	99Aa	99Aa	99Aa	99Aa	99Aa	100Aa						
L12	10Ba	15Ba	11Ba	98Aa	99Aa	99Aa	99Aa	98Aa	98Aa	98Aa	99Aa	99Aa	99Aa	99Aa	98Aa						
L13	13Ba	9Ba	20Ba	99Aa	100Aa	99Aa	98Aa	99Aa	100Aa	99Aa	100Aa	99Aa	100Aa	99Aa	99Aa						
L14	14Ba	13Ba	9Ba	99Aa	98Aa	99Aa	99Aa	98Aa	99Aa	98Aa	99Aa	98Aa	100Aa	99Aa	98Aa						
L15	17Ba	16Ba	13Ba	93Ba	95Ba	92Ba	94Ba	96Ba	94Ba	94Ba	94Ba	94Ba	95Ba	99Aa	91Ba						
C.V. (%)	35,34			2,37			2,08			2,08			2,08								

Letras maiúsculas: comparações entre médias dentro de cada coluna; letras minúsculas, comparações dentro de cada linha, separadamente para cada teste conduzido (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$)

Os teores de água das sementes no início das avaliações e após os testes de envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl à 41 °C durante 96, 120 e 144 horas encontram-se na Tabela 8. Inicialmente, as sementes apresentaram valores entre 8,5 a 10,6%, 8,0 a 8,8% e 8,1 a 9,9%, respectivamente para cada época. Após o envelhecimento acelerado tradicional os teores de água situaram-se entre 23,3 a 24,3% na primeira, 22,6 a 25,0% na segunda e 21,4 a 23,4% na terceira época de avaliação. É importante ressaltar que esses valores foram superiores aos obtidos após o envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl, em todas as épocas nos diferentes períodos de exposição das sementes. Essas informações podem ser relacionadas ao desempenho dos lotes nos testes; quando submetidas a situações de estresses, com alto teor de água nas sementes associada à alta temperatura (41 °C), a intensidade de deterioração foi maior. Por outro lado, em condições adversas com alta temperatura (41 °C), mas teor de água das sementes em torno de 10,7 a 12,3%, a intensidade de deterioração foi menor e a germinação menos influenciada.

Tabela 8 – Teor de água (%) antes do início das avaliações (GU Inicial) e depois dos testes de envelhecimento acelerado tradicional (GU EATrad.) e com solução saturada de NaCl durante 96 horas (GU EASS96h), 120 horas (GU EASS120 h) e 144 horas (GU EASS144h) de sete lotes de sementes de milho do Híbrido 2B604PW (Híbrido 2)

Híbrido 2									
Lotes	GU Inicial			GU EATrad			GU EASS96h		
	-----%-----								
	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3
L8	8,5	8,4	8,6	23,3	24,2	22,6	10,7	11,1	11,5
L9	10,6	8,8	9,9	24,0	23,9	23,4	11,1	11,3	11,3
L10	9,8	8,5	8,1	23,8	25,0	23,3	11,2	11,1	11,4
L12	9,2	8,2	8,2	23,7	23,5	23,0	11,1	11,0	11,3
L13	8,7	8,6	8,2	24,2	23,8	21,4	11,2	11,7	12,0
L14	9,3	8,2	8,3	24,3	22,6	23,3	11,2	11,2	11,6
L15	8,7	8,0	8,5	22,9	22,8	24,2	11,2	11,3	11,5
Híbrido 3									
Lotes	GU EASS120h			GU EASS144h					
	-----%-----								
	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3			
L8	11,2	11,6	11,5	11,7	11,0	11,4			
L9	11,9	11,2	12,0	12,3	11,8	11,3			
L10	12,1	11,7	11,8	12,0	11,6	11,5			
L12	11,3	11,6	11,9	11,5	11,8	11,6			
L13	11,3	11,2	11,2	11,3	11,4	11,6			
L14	11,2	11,5	11,6	11,5	11,2	11,2			
L15	11,7	11,4	11,3	11,5	11,7	11,4			

Em relação aos testes que avaliaram a emergência de plântulas, constatou-se que a os lotes apresentaram comportamento pouco influenciado pelas condições ambientais

durante esse teste, revelando semelhança dos resultados com os obtidos no teste de germinação; no entanto, a porcentagem e a velocidade de emergência de plântulas foram diferentes entre as épocas. As sementeiras da primeira, segunda e terceira épocas foram realizadas no dia 12 de fevereiro, 07 de abril e 09 de junho de 2014, respectivamente e as variáveis climáticas encontram-se na Figura 7 (ESALQ, 2014). Na terceira época de avaliação, a temperatura média durante a condução do teste (inferior a 21,4 °C), atingiu níveis inferiores aos mais favoráveis à germinação e desenvolvimento inicial das plântulas de milho (25 a 30 °C). Em consequência da redução da temperatura, a velocidade de germinação foi reduzida, mas não houve interferência na porcentagem de emergência das plântulas, visto que os resultados foram semelhantes aos do teste de germinação e o comportamento dos lotes foi semelhante.

As análises da variância dos dados obtidos no SVIS[®] e no Vigor-S revelaram diferenças significativas para os efeitos da interação lotes x épocas, para a maioria dos parâmetros analisados nos dois sistemas, ou seja: no SVIS[®] aos dois dias de germinação, para índice de vigor, uniformidade e no comprimento de plântulas; no SVIS[®], aos três dias de germinação, para índice de vigor e comprimento de plântulas e no Vigor-S, para o índice de vigor, uniformidade e comprimento de plântulas. Os efeitos de épocas foram significativos para uniformidade no SVIS[®] aos três dias de germinação e os efeitos de lotes não foram constatados para esses parâmetros acima avaliados.

As médias obtidas na análise computadorizada de imagens de plântulas aos dois e três dias de germinação utilizando o SVIS[®] e o Vigor-S são apresentadas na Tabela 9. As informações fornecidas pelo índice de vigor e comprimento de plântulas, no SVIS[®] aos dois dias de germinação, foram semelhantes em duas das três épocas de avaliação, na identificação do lote mais vigoroso (lote 14). Entretanto, para os lotes menos vigorosos, os resultados foram divergentes entre as épocas e parâmetros avaliados; o lote 12, por exemplo, pelo índice de vigor na primeira época foi o menos vigoroso, diferentemente dos resultados da segunda e terceira épocas. Os índices de uniformidade identificaram que o lote 8 foi constituído por plântulas com desenvolvimento uniformes, em três épocas de avaliação.

Em relação aos resultados obtidos no SVIS[®] aos três dias de germinação, verificou-se plena concordância dos índices de vigor, uniformidade e comprimento de plântulas na identificação do lote mais vigoroso (lote 8), nas três épocas de avaliação. Constatou-se que o índice de vigor e a uniformidade de desenvolvimento de plântulas em uma das épocas e o comprimento de plântulas em duas das épocas, foram compatíveis com os

resultados obtidos aos dois dias de germinação, identificando o lote 8 como mais vigoroso e maior uniformidade de plântulas em relação aos outros lotes.

A maior confiabilidade dos resultados dos testes de comprimento de plântulas foi constatada aos três dias de germinação, mediante maior desenvolvimento das plântulas, verificado pelo maior comprimento de plântulas aos três dias (acréscimo na média de 7,92 cm) e maior coerência com os resultados, para o lote mais vigoroso, com os testes de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl, em relação aos dois dias de germinação. Além disso, a análise SVIS[®] aos dois dias de germinação forneceu resultados divergentes nas três épocas de avaliação, com informações referentes ao vigor dos lotes que, aos três dias, não prevaleceram, sendo assim, considerado um período de tempo insuficiente para obtenção de resultados seguros.

Por outro lado, Mondo, Dias e McDonald (2011) avaliaram a viabilidade de se utilizar plântulas de milho aos dois e três dias de germinação no SVIS[®]; os resultados aos dois dias foram semelhantes aos três dias de germinação e coerentes com os testes de envelhecimento acelerado e frio. Concluíram que a análise efetuada aos dois dias foi suficiente para fornecer informações sobre a vigor dos lotes, diferentemente do obtido nessa pesquisa.

As informações obtidas com a utilização do Vigor-S aos três dias de germinação foram compatíveis entre si em duas das três épocas de avaliação, permitindo identificar níveis de vigor dos lotes. Os índices de vigor e comprimento de plântulas identificaram os lotes 8 e 12 como os mais vigorosos, sendo estes, identificados como dois dos seis mais vigorosos no teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl. Verificou-se também, com o Vigor-S concordância entre os resultados dos índices de vigor e comprimento de plântulas para a identificação do lote mais vigoroso (lote 8) em relação aos obtidos no SVIS[®] aos três dias de germinação. No entanto, os resultados obtidos com os índices de uniformidade de desenvolvimento de plântulas, foram divergentes nas três épocas de avaliação, mesmo que, calculados da mesma maneira em ambos os sistemas. Isso pode ser atribuído à característica inerente do Vigor-S, em que a aquisição das imagens é realizada com maior precisão devida a maior resolução (300 dpi), diferentemente das imagens no SVIS[®] (100 dpi), refletindo assim, nos resultados da avaliação.

Na primeira época de avaliação, o índice de vigor e o comprimento de plântulas no Vigor-S proporcionaram resultados semelhantes comparativamente ao SVIS[®]; na segunda e terceira época, a concordância das informações foi verificada na identificação do lote mais vigoroso (lote 8). Observou-se maior distinção significativa resultante da análise de

comprimento de plântulas em ambos os sistemas na segunda e terceira época de avaliação. Estes resultados concordaram com Nakagawa (1999) em que o teste de comprimento de plântulas ou de suas partes é considerado eficiente para detectar diferentes níveis do vigor de sementes de várias espécies. Além disso, a análise de imagens permitiu a redução da subjetividade das análises baseadas na observação visual do analista, contribuindo significativamente para padronização dessa metodologia (MARCOS-FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009).

A utilização do Vigor-S proporcionou resultados com tendências semelhantes ao SVIS[®], onde ambos os sistemas com imagens aos três dias de germinação identificaram diferenças significativas no potencial fisiológico dos lotes. Ressalta-se que, o Vigor-S mesmo em fase de desenvolvimento, foi sensível para detectar diferenças no vigor dos lotes, embora apenas para os mais vigorosos, constituindo uma alternativa promissora, principalmente por permitir avaliação mais precisa, e redução da interferência do analista, que dentre outros, são argumentos para serem aceitos pela comunidade de análise de sementes (McDONALD, 1975; HAMPTON, 1993; MARCOS-FILHO, 1998).

Outro propósito, inserido no Vigor-S para maior aproveitamento dos resultados obtidos da mesma avaliação, foi proporcionar, automaticamente, a obtenção de informações referentes à parte aérea e o sistema radicular separadamente para cada plântula, sem a necessidade de interferir na análise realizada pelo sistema. Além disso, os resultados das análises das imagens com os respectivos valores dos índices de vigor, uniformidade e comprimento das plântulas, podem ser exportados em extensões de Excel e em pdf, permitindo melhor organização das informações obtidas e facilidade para posterior interpretação dos resultados pelo analista de sementes.

Diante da maior precisão, obtenção informações sobre o vigor das plântulas às partes específicas (parte aérea, sistema radicular e comprimento total de plântulas), redução do período de tempo da análise e da interferência humana, destaca-se o custo reduzido da aquisição do sistema Vigor-S; que constitui-se de um dos fatores primordiais para inserção nos laboratórios de controle de qualidade de sementes.

O Vigor-S, em desenvolvimento pela Universidade de São Paulo (USP/ESALQ) e a EMBRAPA/Instrumentação Agropecuária (CNPDIA), foi projetado com o intuito de permitir maior difusão aos analistas de sementes e possibilidade de atualizações do sistema. Isto reflete diretamente na redução do custo de aquisição, que apresenta seu valor diluído, em função dos benefícios proporcionados pelo sistema na avaliação do vigor das sementes. Ressalta-se principalmente, a maior precisão da análise, a qual implica em maior

segurança dos resultados obtidos e pela redução do tempo, mediante digitalização das plântulas diretamente sobre o papel de germinação (Germitest) de coloração azul, diferentemente do SVIS[®], cujo sistema, precisa do contraste da cartolina de coloração preta para aquisição das imagens das plântulas e não permite atualização do sistema.

Diante dos resultados obtidos pelo conjunto dos testes de germinação e vigor (primeira contagem de germinação, frio, porcentagem de emergência de plântulas e procedimentos da análise computadorizada de imagens de plântulas), verificou-se que os lotes de sementes do **Híbrido 2** apresentaram alto potencial fisiológico, com diferenças estreitas de vigor, ainda que, realizado também o envelhecimento artificial para composição dos lotes. A utilização do Vigor-S para análise de vigor de sementes, com base no desempenho de plântulas, seguiu a mesma tendência dos resultados proporcionados pelo SVIS[®] aos três dias de germinação, constituindo-se uma alternativa promissora para avaliação do vigor de sementes de milho.

Tabela 9 - Valores médios referentes ao índice de vigor (IV), índice de uniformidade (IU), comprimento de plântulas (Compr. - cm) analisados pelo SVIS® aos dois e três dias de germinação e Vigor-S aos três dias de germinação de sete lotes de sementes de milho do Híbrido 2B604PW (Híbrido 2), em três épocas de avaliações

Lotes	SVIS® 2 DIAS								
	IV			IU			Comp. - cm		
	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3
L8	866Ba	642Cb	643Ab	890Aa	891Aa	862Aa	2,14Ba	1,32Ab	1,36Ab
L9	823BCa	567ABb	555ABb	891Aa	864Aa	860Aa	2,00Ba	1,08ABb	1,02BCDb
L10	782BCa	504Bb	513BCb	880Aa	854Aa	853ABa	1,88Ba	0,84Bb	0,92CDb
L12	771Ca	605Ab	626Ab	884Aa	857Aa	867Aa	1,82Ba	1,18Ab	1,28ABb
L13	961Aa	592ABb	462Cc	902Aa	865Ab	813Bc	2,50Aa	1,18Ab	0,70Dc
L14	961Aa	655Ab	585ABb	903Aa	870Aab	861Ab	2,50Aa	1,38Ab	1,16ABCb
L15	857BCa	603Ab	561ABb	863Aa	858Aab	829ABb	2,02Ba	1,22Ab	1,06ABCb
C.V.(%)	6,95			2,51			11,80		
Lotes	SVIS® 3 DIAS								
	IV			IU			Comp. - cm		
	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3
L8	767Aa	823Aa	681Ab	910Aa	894Ab	894Ab	10,78Aa	11,98Aa	8,88Ab
L9	750Aa	770ABa	615ABCb	913Aa	891Ab	889Ab	10,38Aa	10,84ABa	7,52ABCb
L10	743Aa	710BCa	596BCb	902ABa	889ABb	890ABb	10,10Aa	9,64BCa	7,16BCb
L12	760Aa	681Cb	660ABb	901ABa	898ABb	893ABb	10,56Aa	8,96Cb	8,56ABb
L13	762Aa	742BCa	540Cb	899ABa	893ABb	872ABb	10,52Aa	10,14BCa	5,98Cb
L14	700Aa	726BCa	619ABCb	896ABa	888ABb	892ABb	9,30Aa	10,02BCa	7,66ABCb
L15	704Ab	775ABa	611ABcc	887Ba	878Bb	877Bb	9,18Ab	10,84ABa	7,90ABb
C.V.(%)	6,02			1,73*			9,56		
Lotes	Vigor-S 3 DIAS								
	IV			IU			Comp. - cm		
	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3	Época 1	Época 2	Época 3
L8	727Aab	759Aa	663Ab	740Aa	613Bb	731Aa	11,22Ab	13,22Aa	9,90Ab
L9	723Aa	656Aab	603ABb	787Aa	613Bb	733Aa	11,02Aa	10,82BCa	8,56ABb
L10	727Aa	530Bb	598ABb	743Aa	471Cb	730Aa	11,50Aa	8,94Cb	8,52ABb
L12	739Aa	659Aab	654Ab	719Aa	696ABa	754Aa	12,12Aa	10,18BCb	9,68Ab
L13	740Aa	749Aa	515Bb	766Aa	752Aa	682Aa	11,62Aa	12,12ABa	6,98Bb
L14	710Aa	718Aa	615ABb	758Aa	667ABa	735Aa	10,92Aa	11,82ABa	8,88ABb
L15	670Aa	746Aa	567ABb	717Aa	673ABa	645Aa	10,36Ab	12,34ABa	8,50ABc
C.V.(%)	8,35			8,79			10,95		

Letras maiúsculas: comparações entre médias dentro de cada coluna; letras minúsculas, comparações dentro de cada linha, separadamente para cada teste conduzido (Teste de Tukey, $p \leq 0,05$)

2.3.3 Considerações gerais

Diante dos resultados obtidos pelo conjunto dos testes de germinação e vigor, nas três épocas de avaliação do **Híbrido 1**, verificou-se que as diferenças nos potenciais fisiológicos dos lotes eram pequenas ou inexistentes e, por isso, não identificadas de maneira consistente pelos testes realizados.

É importante ressaltar que, embora o envelhecimento acelerado tradicional tenha reduzido drasticamente a germinação dos lotes do **Híbrido 2**, o que não permitiu a comparação destes resultados com os outros testes de vigor, não significa que esse procedimento seja ineficiente. O teste de envelhecimento acelerado tradicional é um dos testes mais utilizados no Brasil e no mundo, particularmente para sementes de milho e soja (HAMPTON, TEKRONY, 1995; MARCOS-FILHO, 1999) em função do alto grau de padronização e reprodutibilidade (DELOUCHE, 1976) dentre outras vantagens.

De fato, para a identificação do vigor das sementes é recomendada a realização de mais de um teste, para segurança das informações obtidas na avaliação do vigor das sementes, em função do vigor reunir um conjunto de características que determinam seu potencial fisiológico (FESSEL et al., 2005) podendo apresentar desempenho diferenciado quando submetidas a diferentes condições.

A utilização do teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl nos diferentes períodos utilizados, constituiu mais uma alternativa para avaliação do vigor de lotes de sementes de milho, verificada pela consistência dos resultados para os dois híbridos nas três épocas de avaliações.

Os resultados desta pesquisa proporcionaram informações relevantes referentes à determinação do potencial fisiológico de sementes de milho, mediante aos avanços da análise computadorizada de imagens, com possibilidade da inclusão de novas tecnologias para análise do vigor de sementes em comparação aos testes tradicionalmente utilizados. A utilização do Vigor-S, em fase de desenvolvimento, proposto para aperfeiçoar os procedimentos da avaliação do vigor de sementes baseado no desempenho de plântulas, consiste em uma tecnologia promissora, em função de favorecer a padronização do teste, maior precisão e objetividade, redução de tempo para obtenção segura dos resultados e custo acessível para aquisição do sistema pelos profissionais dessa área, em relação ao SVIS[®].

A utilização da análise computadorizada de imagens de plântulas com o Vigor-S e o SVIS[®] foram compatíveis entre si na avaliação do vigor das sementes e com os resultados obtidos nos testes de frio e porcentagem de emergência em plântulas.

3 CONCLUSÃO

A análise dos dados e a interpretação dos resultados da presente pesquisa permitiram concluir que:

a-) A utilização da análise computadorizada de imagens de plântulas com o Vigor-S é uma alternativa promissora para avaliação do vigor de sementes de milho.

b-) O envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl no período de 96 horas a 41 °C é eficiente para avaliar o vigor de sementes de milho.

REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, R.O.; MARCOS-FILHO, J.; GOMES-JUNIOR, F.G. Avaliação do vigor de sementes de milho superdoce por meio da análise computadorizada de imagens de plântulas. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 488-494, 2012.
- ALVES, C.Z.; GODOY, A.R.; CANDIDO, A.C.S.; OLIVEIRA, N.C. Qualidade fisiológica de sementes de jiló pelo teste de envelhecimento acelerado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 1, p. 58-63, 2012.
- ÁVILA, M.R.; BRACCINI, A.L.; SCAPIM, C.A. Teste de comprimento de plântulas sob estresse hídrico na avaliação do potencial fisiológico das sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 117-124, 2007.
- BAALBAKI, R.; ELIAS, S.; MARCOS-FILHO, J.; McDONALD, M.B. **Seed vigor testing handbook**. Ithaca: Association of Official Seed Analysts, 2009. 341 p. (Contribution, 32).
- BARROS, A.S.R.; DIAS, M.C.L.L.; CÍCERO, S.M.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de frio. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 5.1-5.13.
- BENNETT, M.A.; EVANS, A.F.; GRASSBAUGH, E.M. Saturated salt accelerated aging (SSAA) test for assessing and comparing sh2 and se sweet corn seed lots. ISTA CONGRESS, 26., 2001, Angers. **Abstracts...** Angers: ISTA, 2001. p. 11.
- BHÉRING, M.C., DIAS, D.C.F.S.; GOMES, J.M.; BARROS, D.I. Métodos para avaliação do vigor de sementes de pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 22, n. 2, p. 171-175, 2000.
- BRANCALION, P.H.S.; TAY, D.; NOVEMBRE, A.D.L.C.; RODRIGUES, R.R.; MARCOS-FILHO, J. Priming of pioneer tree *Guazuma ulmifolia* (Malvaceae) seeds evaluated by an automated computer image analysis. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 67, n. 3, p. 274-279, 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, , 2009. 399 p.
- BRUGGINK, H.; KRAAK, H.L.; BEKENDAM, J. Some factors affecting maize (*Zea mays* L.) cold test results. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 19, p. 15-23, 1991.
- BURRIS, J.S.; NAVRATIL, R.J. Relationship between laboratory cold-test methods and field emergence in maize inbreds. **Agronomy Journal**, Madison, v. 71, p. 985-988, 1979.
- CARNEIRO, J.W.P.; GUEDES, T.A. Dinâmica de ocorrências germinativas em amostras de sementes envelhecidas artificialmente. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 12, n. 1/3, p. 44-51, 2002.
- CARVALHO, M.L.M. Utilização da análise de imagem: conceitos, metodologias e usos. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 20, n. 3, p. 45-47, 2010.

CASEIRO, R.F.; MARCOS-FILHO, J. Procedimentos para a condução do teste de frio visando a avaliação do vigor de sementes de milho. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, p. 459-466, 2000.

CHAMMA, H.M.C.P.; NOVENBRE, A.D.L.C. Teste de tetrazólio para as sementes de milho: período de hidratação e de coloração das sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 125-129, 2007.

CHIQUITO, A.A.; GOMES-JUNIOR, F.G.; MARCOS-FILHO, J. Assessment of physiological potential of cucumber seeds using the software Seed Vigor Imaging System[®]. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 255-263, 2012.

CICERO, S.M.; VIEIRA, R.D. Teste de frio. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 151-164

DELOUCHE, J.C. Seed deterioration. **Seed World**, Chicago, v. 92, n. 4, p. 14-15, 1963.

_____. Standardization of vigor tests. **Journal of Seed Technology**, Lincoln, v. 1, p. 75-86, 1976.

DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, n. 2, p. 427-452, 1973.

DIAS, M.C.L.L.; BARROS, A.S.R. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de milho. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B.(Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 8.4.1-8.4.10.

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTRA “LUIZ DE QUEIROZ”. Departamento de Engenharia de Biosistemas. **Base de dados da estação convencional área de física e meteorologia - LEB - ESALQ – USP**. Disponível em:

<<http://www.leb.esalq.usp.br/exceldados/DCE2014.TXT>>. Acesso em: 01 jul. 2014.

FANAN, S.; MEDINA, P.F.; LIMA, T.C.; MARCOS FILHO, J. Avaliação do vigor de sementes de trigo pelos testes de envelhecimento acelerado e de frio. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 2, p. 152-158, 2006.

FESSEL, S.A.; SILVA, L.J.R.; GALLI, J.A.; SADER, R. Uso de solução salina (NaCl) no teste de envelhecimento acelerado em sementes de brócolis (*Brassica oleracea* L. var. *italica* Plenck). **Científica**, Jaboticabal, v. 33, n. 1, p. 27-34, 2005.

FRATTINI, J.A. **Cultura do milho**: instruções sumárias. Campinas: CATI/COT, 1975. 26 p.

GOMES-JUNIOR, F.G.; CHAMMA, H.M.C.P.; CICERO, S.M. Automated image analysis of seedlings for vigor evaluation of common bean seeds. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 36, n. 2, p. 195-200, 2014.

GOMES-JUNIOR, F.G.; MONDO, V.H.V.; CICERO, S.M.; McDONALD, M.B.; BENNETT, M.A. Evaluation of priming effects on sweet corn seeds by SVIS. **Seed Technology**, Lincoln, v. 31, n. 1, p. 95-100, 2009.

HAMPTON, J. The ISTA perspective of seed vigor testing. **Journal of Seed Technology**, Lincoln, v. 17, p. 105-109, 1993.

HAMPTON J.G.; COOLBEAR P. Potential versus actual seed performance can vigour testing provide an answer? **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 18, n. 2, p. 215-228, 1990.

HAMPTON, J.G.; TEKRONY, D.M. **Handbook of vigour test methods**. 3rd ed. Zurich: ISTA, 1995. 17 7p.

HOFFMASTER, A.L.; FUJIMURA, K.; McDONALD, M.B.; BENNETT, M.A. An automated system for vigour testing three-day-old soybean seedlings. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 31, n. 3, p. 701-713, 2003.

HOFFMASTER, A.L.; XU, L.; FUJIMURA, K.; McDONALD, M.B.; BENNETT, M.A.; EVANS, A.F. The Ohio State University Seed Vigor Imaging System (SVIS) for soybean and corn seedlings. **Seed Technology**, Lincoln, v. 27, n. 1, p. 7-26, 2005.

HOWARTH, M.S.; STANWOOD, P.C. Measurement of seedling growth rate by machine vision. **Transactions of American Society of Agricultural Engineering**, St Joseph, v. 36, n. 3, p. 959-963, 1993.

JIANHUA, Z.; McDONALD, M.B. The saturated salt accelerated aging test for small-seeded crops. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 25, n. 1, p. 123-131, 1996.

KIKUTI, A.L.P.; MARCOS-FILHO, J. Physiological potential of cauliflower seeds. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 65, n. 4, p. 374-380, 2008.

_____. Testes de vigor em sementes de alface. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 1, p. 44-50, 2012.

KOBORI, N.N.; MASTRANGELO, T.; CICERO, S.M.; CASSIERI, P.; MORAES, M.H.D.; WALDER, J.M.M. Effects of gamma radiation on physiological and phytosanitary qualities of Brazilian Castor Bean seeds, *Ricinus communis* (cv. IAC Guarani). **Research Journal of Seed Science**, New York, v. 3, n. 2, p. 70-81, 2010.

LOEFFLER, N.L.; MEIER, J.L.; BURRIS, J.S. Comparison of two cold test procedure for use in maize-drying studies. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 13, p. 653-658, 1985.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, Madison, v. 2, p. 176-177, 1962.

MARCHI, J.L. **Avaliação da qualidade de sementes de amendoim tratadas com fungicida e inseticida, incluindo a análise de imagem**. 2010. 88 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

MARCHI, J.L.; CICERO, S.M.; GOMES-JUNIOR, F.G. Utilização da análise computadorizada de plântulas na avaliação do potencial fisiológico de sementes de amendoim tratadas com fungicida e inseticida. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 4, p.652-662, 2011.

MARCOS-FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 133-150.

_____. New approaches to seed vigor testing. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, n. esp., p. 27-33, 1998.

_____. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKY, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 3.1-3.24.

_____. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p.

_____. Sistema computadorizado de análise de imagens de plântulas (SVIS[®]) para avaliação do vigor de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 20, n.3, p. 40-44, 2010.

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**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 102-112, 2009.

MARCOS-FILHO, J.; BENNETT, M.A.; EVANS, A.S.; GRASSBAUGH, E.M. Assessment of melon seed vigour by an automated computer imaging system compared to traditional procedures. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 34, n. 2, p. 507-519, 2006.

MARCOS-FILHO, J.; NOVENBRE, A.D.C.; CHAMMA, H.M.C.P. Testes de envelhecimento acelerado e de deterioração controlada para avaliação do vigor de sementes de soja. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 58, n. 2, p. 421-426, 2001.

McCORMAC, A.C.; KEFFE, P.D.; DRAPER, R.S. Automated vigour testing of field vegetables using image analysis. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 18, n. 1, p. 103-112, 1990.

McDONALD, M.B. A review and evaluation of seed vigor tests. **Proceedings of the Association of Official Seed Analysts**, Lincoln, v. 65, p. 109-139, 1975.

_____. Improving our understanding of vegetable and flower seed quality. **Seed Technology**, Lincoln, v. 20, p. 121-124, 1998.

_____. Seed quality assessment. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 8, n. 2, p. 265-275, 1988.

MEDINA, P.F.; MARCOS-FILHO, J. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho. **Anais da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"**, Piracicaba, v. 47, n. 1, p. 47-70, 1990.

MENDONÇA, E.A.F.; AZEVEDO, S.C.; GUIMARÃES, S.C.; ALBUQUERQUE, M.C.F. Testes de vigor em sementes de algodoeiro herbáceo. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 1-9, 2008.

MIGUEL, M.V.C.; MARCOS-FILHO, J. Potassuim leakage and maize seed physiological potential. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 59, n. 2, p. 315-319, 2002.

MONDO, V.H.V.; DIAS, M.A.N.; McDONALD, M.B. Seed vigour imaging system for a 2-day old corn seedling evaluation. **Seed Technology**, Ithaca, v. 33, n. 2, p. 191-196, 2011.

MONDO, V.H.V.; CICERO, S.M.; DOURADO-NETO, D.; PUPIM, T.L.; DIAS, M.A.N. Vigor de sementes e desempenho de plantas de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 143-155, 2012.

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

OTONI, R.R.; McDONALD, M.B. Moisture and temperature effects on maize and soybean seedlings using the seed vigor imaging system. **Seed Technology**, Lincoln, v. 27, n. 2, p. 243-247, 2005.

PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Comparação entre métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pimentão. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 20, n. 2, p. 306-310. 1998.

_____. Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de tomate. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 3, p. 525-531, 2001.

RAMOS, N.P.; FLOR, E.P.O.; MENDONÇA, E.A.F.; MINAMI, K. Envelhecimento acelerado em sementes de rúcula (*Eruca sativa* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 98-103, 2004.

ROCHA, C.R.M. **Avaliação da qualidade de sementes de girassol por meio de análise de imagens**. 2012. 69 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

RODO, A.B.; MARCOS-FILHO, J. Accelerated aging and controlled deterioration for the determination of the physiological potential of onion seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 3, p. 465-469, 2003.

RODO, A.B.; PANOBIANCO, M.; MARCOS-FILHO, J. Metodologia alternativa do teste de envelhecimento acelerado para sementes de cenoura. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 289-292, 2000.

ROSSETTO, C.A.V.; LIMA, T.M.; GUIMARÃES, E.C. Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de amendoim. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 8, p. 795-801, 2004.

SAKO, Y.; McDONALD, M.B.; FUJIMURA, K.; EVANS, A.F.; BENNETT, M.A. A system for automated seed vigor assessment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 29, n. 3, p. 625-636, 2001.

SANTOS, J.F.; ALVARENGA, R.O.; TIMÓTEO, T.S.; CONFORTO, E.C.; MARCOS-FILHO, J.; VIEIRA, R.D. Avaliação do potencial fisiológico de lotes de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 743-751, 2011.

SCOTT, G.E. Improvement for accelerated aging response of seed in maize populations. **Crop Science**, Madison, v. 21, p. 41-43, 1981.

SILVA, C.B.; LOPES, M.M.; MARCOS-FILHO, J.; VIEIRA, R.D. Automated system of seedling image analysis (SVIS) and electrical conductivity to assess sun hemp seed vigor. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 55-60, 2012.

SILVA, V.N.; GOMES JUNIOR, F.G.; CICERO, S.M. Computerized imaging analysis of seedlings for assessment of physiological potential of wheat seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 589-596, 2012.

SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. da (Ed.). **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. 480 p.

SOUZA, L.C.D.; YAMASHITA, O.M.; CARVALHO, M.A.C. Qualidade de sementes de arroz utilizadas no norte de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 223-228, 2007.

SPINOLA, M.C.M.; CICERO, S.M.; MELO, M. Alterações bioquímicas e fisiológicas em sementes de milho causadas pelo envelhecimento acelerado. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 263-270, 2000.

SUN, W.Q. Methods for the study of water relations under desiccations stress. In: BLACK, M.; PRITCHARD, H.W. (Ed.). **Desiccation and survival in plants: drying without dying**. Wallingford, CABI Publ., 2002. p. 48-83.

TEKRONY, D.M. Accelerated aging. In: VAN DER VENTER, H.A. (Ed.). **Seed vigor testing seminar**. Copenhagen: The International Seed Testing Association, 1995. p. 53-72.

TEKRONY, D.M.; EGLI, D.B.; WICKHAM, D.A. Corn seed vigor effect on no-tillage field performance. II. Plant growth and grain yield. **Crop Science**, Madison, v. 29, p. 1528-1531, 1989.

TORRES, S.B. Teste de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 20, n. 1, p. 55-59, 1998.

_____. Envelhecimento acelerado em sementes de pepino com e sem solução salina saturada. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.2, p.303-306, 2005.

TORRES, S.B.; MARCOS-FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de maxixe (*Cucumis anguria* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 23, n. 2, p. 108-112, 2001.

WATERS, L.; BLANCHETTE, B. Prediction of sweet corn field emergence by conductivity and cold tests. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 108, n. 5, p. 78-781, 1983.

WOLTZ, J.M.; TEKRONY, D.M. Accelerated aging test for corn. **Journal of Seed Technology**, Lincoln, v. 23, p. 21-34, 2001.

WOLTZ, J.M.; TeKRONY, D.M.; EGLI, D.B.; VINCELLI, P. Corn cold test germination as influenced soil moisture, temperature and pathogens. **Seed Technology**, Lincoln, v. 20, n. 1, p. 57-70, 1998.