



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA  
GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**WESLEY EUSEBIO DE ABREU**

**ANÁLISE DE IMAGENS NA AVALIAÇÃO DA MORFOLOGIA INTERNA E DO  
VIGOR DE SEMENTES DE *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés**

**FORTALEZA**

**2018**

WESLEY EUSEBIO DE ABREU

ANÁLISE DE IMAGENS NA AVALIAÇÃO DA MORFOLOGIA INTERNA E DO VIGOR  
DE SEMENTES DE *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés

Monografia apresentada à Coordenação do curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Engenheiro Agrônomo. Área de concentração: Fitotecnia.

Orientadora: Prof. Dra. Haynna Fernandes Abud.

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

A99a Abreu, Wesley Eusébio de.  
Análise de imagens na avaliação da morfologia interna e do vigor de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés / Wesley Eusébio de Abreu. – 2018.  
28 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Agronomia, Fortaleza, 2018.  
Orientação: Profa. Dra. Haynna Fernandes Abud.

1. Raio X. 2. Potential fisiológico. 3. Desempenho de plântulas. I. Título.

CDD 630

---

WESLEY EUSEBIO DE ABREU

ANÁLISE DE IMAGENS NA AVALIAÇÃO DA MORFOLOGIA INTERNA E DO VIGOR  
DE SEMENTES DE *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés.

Monografia apresentada à Coordenação do curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Engenheiro Agrônomo. Área de concentração: Fitotecnia

Aprovada em: 23/11/2018.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof.<sup>a</sup> D.Sc. Haynna Fernandes Abud (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>o</sup> D.Sc. Sebastião Medeiros Filho  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

M.Sc. Charles Lobo Pinheiro  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus.

A meu Avós: Antónia Carlos e Luiz  
Evangelista.

A meus Pais, Edivaldo e Marlúcia.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida concedida, a todos os meus familiares, em especial a minha mãe MarluCIA, meu pai, José Edivaldo e ao meu padrasto Ronaldo por mesmo em momentos difíceis, optaram por continuar a me dar suporte financeiro e emocional para que eu pudesse completar a graduação como um todo. A meu falecido avô Francisco Evangelista que mesmo não estando presente foi minha maior inspiração para a escolha do curso, minha avó Antônia Carlos por todo o suporte antes deste momento, e aos demais Familiares.

Agradeço em especialmente à minha orientadora Haynna Abud por acreditar em meu trabalho, me orientar da melhor forma possível, a ponto de muitas das vezes estar comigo no laboratório em momentos que deveriam ser de descanso, por não hesitar em repetir explicações quando não eu não entendia determinado assunto, sem ela seria impossível desfrutar deste resultado, juntamente com todos os meus amigos do grupo de estudos: Sérgio Rios, Kelly Andressa, Timóteo Oliveira, Hiago Rodrigues, Vanessa Sarmento, por terem me auxiliado nos testes durante o experimento.

Agradeço também a Fabio Oliveira Diniz juntamente ao Laboratório de Análise de Imagens da Escola Superior de Agricultura-ESALQ pela obtenção das imagens radiográficas, assim como a todos do Laboratório de Análise de Sementes onde iniciei de fato a pesquisa no início da graduação, através de Selma Brito e Charles Lobo que me mostraram a importância da pesquisa não somente no meio acadêmico, mas sua contribuição para a sociedade.

A todos os meus amigos dentro da Universidade, que estiveram comigo durante a madrugada estudando em véspera de prova, em especial ao Felipe Oliveira que tem grande contribuição em minhas aprovações, assim como Brendo Bezerra, Valeska Alves, Nicholas Ribeiro, Yago Campelo, Laís Cavalcante, Marco Lisboa por muitas das vezes deixar o trabalho de lado para me ajudar e ao saudoso Márcio Régis, por seus resumos que salvaram muitas aprovações durante a graduação dos estudantes de agronomia desta Universidade.

## RESUMO

Objetivou-se estudar a morfologia interna de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, por meio de análise de imagens radiográficas e associá-la ao potencial fisiológico. Estudou-se a morfologia interna das sementes dos três lotes, as quais foram avaliadas utilizando o teste de raios X e submetidas ao teste de germinação, com avaliação aos sete dias após a instalação do teste. As imagens radiográficas foram analisadas com o *software ImageJ*, sendo avaliado área total, área interna preenchida por embrião e endosperma, comprimento, largura, e em seguida calculando-se a porcentagem ocupada pela área do embrião e endosperma em relação a área total da semente. As sementes foram classificadas em quatro classes em função da área interna preenchida pelo endosperma e embrião. Posteriormente, foi realizado o teste de vigor, e ao sétimo dia as plântulas foram escaneadas para medição do comprimento. Em seguida, avaliou-se simultaneamente as imagens radiográficas e as imagens computadorizadas de plântulas. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos à análise de variância e comparação de médias por meio do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Conclui-se que a análise de imagens, por meio da técnica de raios X possibilita avaliar a morfologia interna das sementes de braquiária. É possível a classificação das sementes em diferentes níveis de preenchimento, Além disso, é possível relacionar as características morfológicas com o potencial fisiológico.

**Palavras-chave:** Raio X, Potential fisiológico, Desempenho de plântulas.

## ABSTRACT

The objective of this study was to study an internal morphology of seeds of *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, through the analysis of radiographic images and associate it with the physiological potential. The internal morphology of the lots of three lots was studied, as were the X-ray tests and were submitted to the germination test, with evaluation seven days after the installation of the test. The radiographic images were analyzed with the ImageJ software, being used in relation to the embryo and endosperm area in relation to a total area of the seed. The seeds were classified into four classes according to the internal capacity of endosperm and embryo. Afterwards the germination test was performed, and on the seventh day as seedlings were scanned for length measurement. Then it was evaluated simultaneously as radiographic images and as computerized images of seedlings. The experimental design was completely randomized. The data were analyzed by means of the variance and the means comparison by means of the Tukey test at the 5% probability level. It is concluded that the analysis of images by means of the X-ray technique can be considered an internal morphology of the seeds of *Brachiaria*. This is a separating the species of morphological levels of physiological potential.

**Keywords:** X-ray, physiological Potential, Seedling performance

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>11</b>
<b>3 OBJETIVO.....</b>	<b>14</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>15</b>
<b>4.1 Determinação do teor de água.....</b>	<b>15</b>
<b>4.1.2 Determinação do peso de mil sementes .....</b>	<b>15</b>
<b>4.2 Análise de imagens na avaliação da morfologia interna e do potencial fisiológico das sementes.....</b>	<b>15</b>
<b>4.2.1 Medição da estrutura de sementes de brachiaria com o software Imagej.....</b>	<b>17</b>
<b>4.3 Teste degerminação.....</b>	<b>18</b>
<b>4.4 Análises computadorizada de imagens de plântulas no imagej como técnica de avaliação do vigor de sementes de brachiaria.....</b>	<b>18</b>
<b>4.5 Teste de tetrazólio.....</b>	<b>20</b>
<b>4.6 Análise estatística para comprimento de plântulas.....</b>	<b>21</b>
<b><u>5</u> RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>21</b>
<b>5.1 Teor de água e peso de mil sementes.....</b>	<b>21</b>
<b>5.2 Análises de imagens na avaliação da morfologia interna .....</b>	<b>21</b>
<b>5.3 Teste de tetrazólio.....</b>	<b>25</b>
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>27</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>28</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Com a demanda crescente de sementes de alta qualidade, para o estabelecimento de uma agricultura mais produtiva e sustentável, cresce também o monitoramento de cada fase do processo produtivo da indústria de sementes. A qualidade da semente, caracterizada pelos aspectos genéticos, físicos, sanitários e fisiológicos, é de fundamental importância no processo produtivo de qualquer espécie vegetal, por influenciar o desenvolvimento da cultura (Imolesi et al., 2001).

Assim, é cada vez mais requerido a utilização de métodos que permitam avaliar com agilidade e eficiência a qualidade fisiológica de sementes. O teste de raios X é um método rápido e não destrutivo, que é recomendado pela ISTA (1999) para a análise das estruturas internas das sementes, possibilitando a detecção de sementes cheias, defeituosas e vazias. A informação sobre a ocorrência de sementes defeituosas e vazias é altamente desejável, já que essas sementes influenciam os resultados de germinação de um lote (Craviotto et al., 2002).

Machado & Cícero (2003) salientaram que a técnica de raios X é eficiente na detecção de danos e anormalidades em embriões de *Lithraea molleoides* (aroeira-branca) e que o descarte dessas sementes pode melhorar a germinação do lote.

A análise de imagens obtidas pelo uso dos raios X para a determinação de danos em sementes destaca-se como uma eficiente ferramenta, pois se trata de um método de grande precisão, que permite imagens detalhadas das áreas danificadas, além de ser um método não destrutivo (Cícero et al., 1998).

O uso de testes de raios X em sementes pode trazer grandes contribuições tecnológicas, já que aspectos morfológicos da sementes impedem a visualização de embriões defeituosos ou sementes cuja a área do endosperma se encontre vazias, algo que é comum em sementes de braquiária, assim o descarte de sementes apresentando estas características, contribuem de forma positiva para o aumento da germinação e vigor de um lote.

## REFERENCIAL TEÓRICO

O teste de germinação, conduzido de acordo com as instruções contidas nas Regras para Análise de Sementes, tem alto grau de confiabilidade como um dos parâmetros utilizados para a normatização da produção e comercialização de sementes, mas apresenta limitações quanto ao uso dos resultados para estimar o potencial de emergência de plântulas sob condições de ambiente menos favoráveis (Marcos Filho, J., 2010)

As sementes mais vigorosas originam plântulas com maior desenvolvimento em relação ao seu comprimento, traduzindo a eficiência da ação de mecanismos de reparo e da mobilização de reservas e de síntese de novos tecidos durante a germinação. A avaliação do desempenho de plântulas constitui um dos procedimentos mais antigos de avaliação do vigor de lotes de sementes; além de detectar diferenças no vigor, são muito úteis para identificar sintomas de fitotoxicidade provocada pela aplicação de produtos químicos em plantas ou em sementes, geralmente identificados por atrofia no sistema radicular ou desenvolvimento anormal da parte aérea. Quando conduzidos em laboratório, geralmente seguem as instruções contidas em Regras para a Análise de Sementes, procurando atingir grau elevado de padronização dos resultados. Graças à sua simplicidade, podem ser utilizados para a avaliação do potencial fisiológico de praticamente todas as espécies cultivadas (MARCOS FILHO, J., 2010)

Um dos requisitos básicos para a identificação de problemas associados com o potencial fisiológico de sementes é a avaliação da sua morfologia interna. Para algumas espécies, como a soja e o milho, o conhecimento sobre a morfologia interna das sementes proporciona eficiente apoio aos programas de controle de qualidade, principalmente com a utilização do teste de tetrazólio. Entretanto, para espécies ainda pouco exploradas pela pesquisa, como as florestais, a caracterização da morfologia interna das sementes, com a identificação das partes que as compõem, são fundamentais para a elucidação de dúvidas sobre a anormalidade de plântulas ou a presença de sementes não germinadas no teste de germinação (GOMES JUNIOR, 2010).

A busca por testes rápidos, que geram resultados representativos da qualidade das sementes é uma constante preocupação de empresas produtoras, onde o tempo para a execução dos testes têm se tornado um fator limitante. Além do tempo, a subjetividade presente nas

avaliações de tais testes têm sido foco de estudos que visam solucionar tais problemas (BRANDANI, 2017).

A disponibilidade de testes eficientes para análise é fundamental para o controle de qualidade na produção de sementes. O potencial fisiológico de sementes pode ser avaliado por meio dos testes de germinação e de vigor, contudo, como o teste de germinação é realizado em condições ótimas, pode superestimar o potencial de lotes de sementes (ROCHA, 2015).

Nos últimos anos, a pesquisa sobre a avaliação da morfologia interna de sementes tem sido baseada em técnicas de análise de imagem, portanto, análise de imagem é uma recente alternativa para compreender vários aspectos do desenvolvimento das sementes, permitindo o estabelecimento de uma relação entre a morfologia interna e integridade estrutural e permitindo que o potencial fisiológico de lotes de sementes a ser determinado (MARCOS FILHO, 2010).

Dentre os métodos utilizados para esta finalidade, destaca-se o teste de raios X, que propicia rápida e eficiente avaliação das partes constituintes da semente da maioria das espécies. O estudo da morfologia interna de sementes por meio da análise de raios X tem gerado informações importantes para o processamento de sementes, principalmente para as espécies florestais, com a eliminação de sementes vazias e mal formadas (GOMES JUNIOR, 2010). Sabe-se ainda que uma semente vazia se torna incapaz de gerar uma planta normal, tendo em vista que sem seu embrião não será possível que ocorra uma germinação, diante deste fato, o monitoramento dos lotes com o uso da análise de imagens através das técnicas de raios X é possível identificação de sementes vazias ou má formadas dentro de um lote, consequentemente, sendo capaz de evitar que estas sementes sejam plantadas, vindo deixar falhas na linhas de cultivo, o que ocasiona prejuízos ao produtor.

O princípio da técnica baseia-se na absorção diferencial de raios X por tecidos de sementes, dependendo da espessura, densidade e composição desses tecidos, para além do comprimento de onda da radiação. As sementes são colocadas entre uma fonte de energia de raios X e um filme fotossensível. Quando os raios X atravessam a semente e atingir o filme, uma imagem latente é criado. Após a revelação do filme, uma imagem de sombras claras e escuras é formado, uma imagem permanente sobre a película de raios X. As áreas mais escuras do raio X correspondem às partes nas quais os Raios X penetram mais facilmente, enquanto que as áreas mais claras representam partes mais densas da semente (SIMAK, 1991). Este mesmo raciocínio se aplica a interpretação de imagens obtidas por equipamento de raios X

digital (sem uso de filme), com a vantagem de uma maior velocidade de aquisição de imagens e de melhor qualidade (de contraste e resolução) (ARRUDA, 2016).

Na área de sementes a análise de imagens se torna bastante útil, tendo em vista que por ser um método rápido e principalmente um método não destrutivo, vem a se tornar como solução para que se possa analisar o percentual germinativo de um lote, e assim estimar qual o melhor lote para se levar a campo, tudo isso podendo ser realizado sem que venha ocasionar a perda da semente, pois como foi citado acima se trata de um método não destrutivo, vindo então a acabar com o problema que muitas empresas têm ao efetuar testes que seja necessário a perda da semente, semente essa que muitas das vezes tem um alto valor comercial.

Cicero et al. (1998), utilizando a análise de imagens para identificar os efeitos dos danos mecânicos sobre a germinação de sementes de milho, concluíram que a técnica pode ser utilizada para avaliar danos mecânicos localizados externa e internamente nas sementes, diretamente relacionados com as anormalidades de plântulas ou com a morte dos embriões; constataram que as rupturas presentes no endosperma, causando restrições na translocação de nutrientes para o eixo embrionário, ou as que ocorriam diretamente sobre o eixo embrionário, eram as que afetavam negativamente a germinação das sementes.

Injúrias representam um fator limitante para a viabilidade de sementes e, dependendo da sua intensidade, podem reduzir o seu vigor, produzindo plântulas fracas e, conseqüentemente, mais susceptíveis às condições adversas (CARVALHO & NAKAGAWA, 2000). Porém muitos destes danos é imperceptível ao olho humano assim como também pode passar de forma despercebida aos métodos tradicionais de beneficiamento de sementes, podendo assim sementes de baixo vigor fazer parte de lotes comerciais, o que para o produtor acarretará em prejuízos, tendo em vista que a semente possivelmente não resultará em uma planta normal e produtiva como se espera em lotes comerciais.

Pesquisas com sementes de forrageiras são necessárias para desenvolver novas técnicas que complementam os atuais métodos de avaliação da qualidade das sementes. Mesmo com os vários testes existentes produzindo resultados confiáveis, sempre há espaço para a continuidade da pesquisa e aprimoramento de metodologia ou inclusão de alternativas inovadoras (MARCOS FILHO, 2009).

A utilização de raios X em tecnologia de sementes no Brasil está, ainda, restrita aos trabalhos de pesquisa, que têm demonstrado o seu grande potencial para avaliar a qualidade de sementes. A pesquisa tem feito adequadamente o seu papel, ou seja, contribuído com

informações técnicas e científicas sobre a viabilidade de utilização de imagens radiográficas em sementes; resta agora implementar a sua introdução em laboratórios de rotina, envolvidos em programas de controle de qualidade (CICERO, 2010).

A técnica de raios X quando associada a programas computacionais e interpretação de imagens, permite mensurar a área da semente e calcular o seu espaço interno preenchido e relacioná-lo com seu potencial fisiológico (CARVALHO, 2010).

Um programa gratuito chamado “*ImageJ*”, desenvolvido por um americano do *National Institutes of Health*, chamado Wayne Rasband; este *software* é bastante utilizado na medicina, porém pode ser utilizada em sementes, por meio da função *Threshold*, que mensura área de imagens. Silva et. al. (2010) utilizou o software ImageJ para mensurar espaços internos vazios em sementes de *Acca sellowiana*.

### **3 OBJETIVO**

Com a presente pesquisa objetivou-se avaliar a morfologia interna das sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, por meio de análises radiográficas e relacionar o percentual de preenchimento interno com o potencial fisiológico.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Federal do Ceará, utilizaram-se três lotes de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Xaraés, produzidas em três anos diferentes (2008, 2016 e 2018), no estado do Mato Grosso.

### 4.1 Determinação do teor de água

Determinou-se o teor de água das sementes pelo método da estufa a  $105 \pm 3^\circ\text{C}$  por 24 horas, conforme descrito na metodologia prescrita nas Regras para Análise de Sementes, utilizando-se duas repetições de um grama para cada lote. Os resultados foram expressos em porcentagem com base na massa úmida das sementes.

#### 4.1.2 Determinação do peso de mil sementes

Para a determinação do peso de mil sementes, foi utilizado oito repetições contendo 100 sementes cada, em que quando o coeficiente de variação (CV) inferior a quatro por cento, realizou-se a média das amostras e então multiplicou-se por 10, e seu valor expresso em gramas (BRASIL, 2009).

### 4.2 Análise de imagens na avaliação da morfologia interna e do potencial fisiológico das sementes.

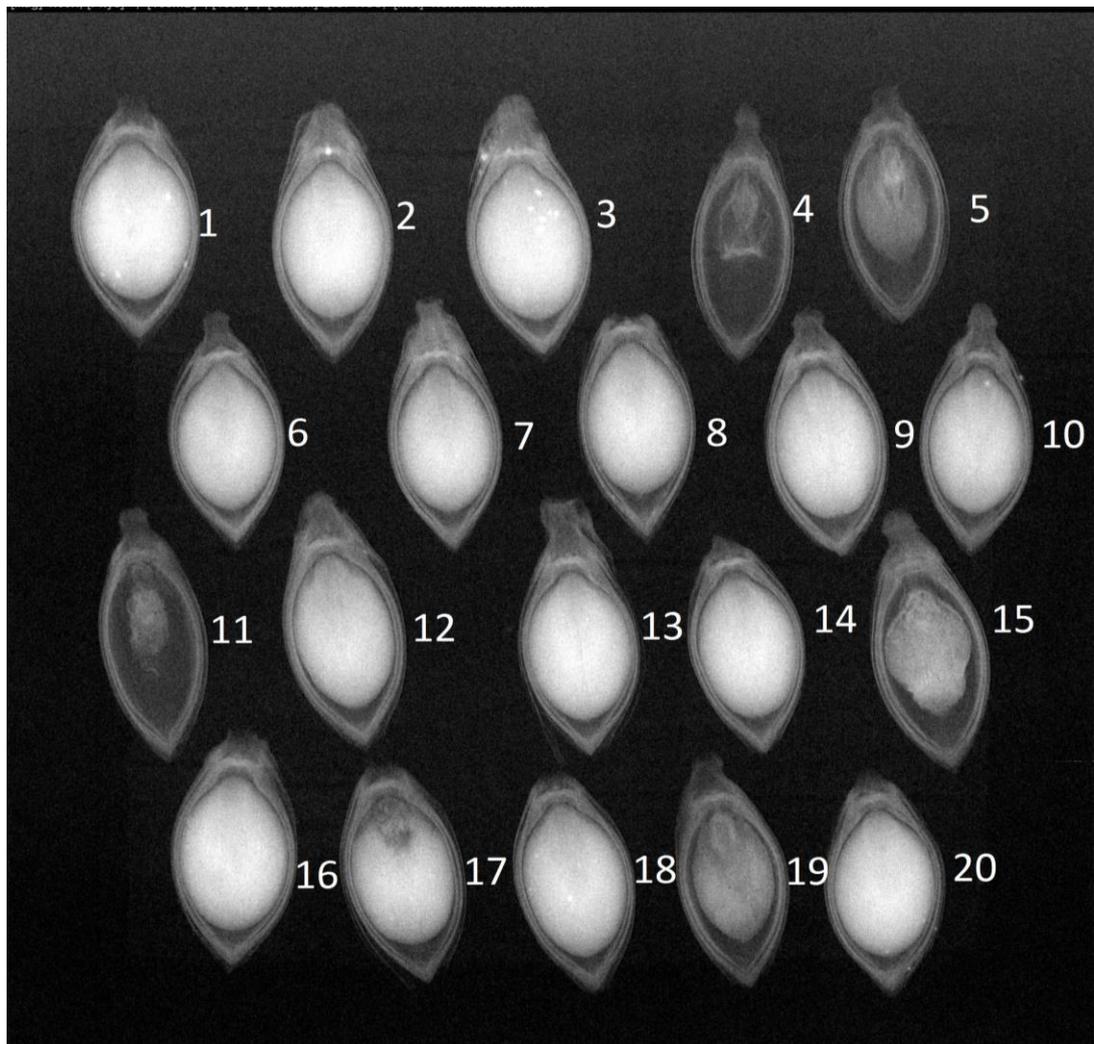
As imagens radiográficas foram realizadas no Laboratório de Análise de Imagens da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, em Piracicaba, São Paulo.

Para obtenção das imagens radiográficas utilizaram-se dez repetições de 20 sementes para cada lote. As sementes foram distribuídas em folhas de plástico transparente, utilizando-se fita adesiva dupla face para fixação das sementes na posição desejada, em que a

visualização das suas partes, como embrião, endosperma e tegumento, além dos espaços vazios pudessem ser facilmente visualizados (Figura 1).

As imagens radiográficas foram realizadas com equipamento digital Faxitron, modelo MX 20 DC-12, acoplado a um computador Core 2 Duo (3.16 GHz, 2 GB de memória RAM, disco rígido de 160 GB) e monitor MultiSync (LCD1190SX de 17 polegadas) e submetidas a à radiação por 20 segundos a 20 kV. Todas as imagens foram gravadas em um dispositivo externo e utilizadas posteriormente.

Figura 1- Imagem radiográfica de sementes de *Brachiaria brizantha*, cv. Xaráes



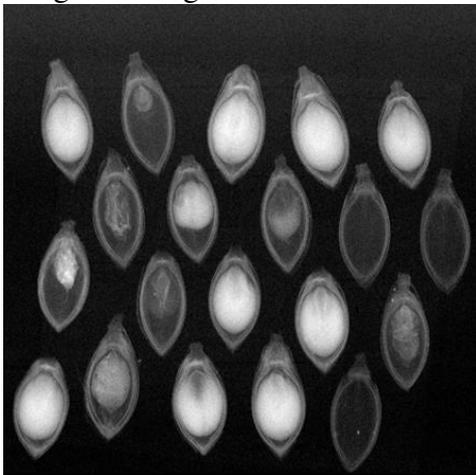
Fonte: elaborado pelo autor

#### 4.2.1 Medição da estrutura de sementes de braquiária com o software *ImageJ*

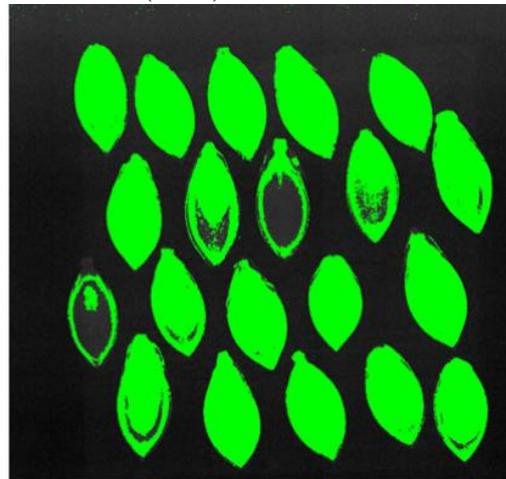
As imagens radiográficas das sementes foram analisadas com o software *ImageJ*. Foram calculadas as variáveis: área total ( $\text{mm}^2$ ), área do embrião e endosperma ( $\text{mm}^2$ ), relação área do intena/área total ( $\text{mm}^2$ ), comprimento (mm), largura das sementes (mm) (Figura 2).

Figura 2- Medição das estruturas das sementes de braquiária com o software *ImageJ*.

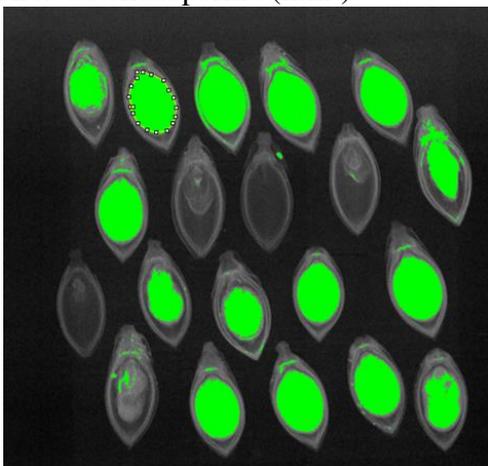
Imagem radiográfica.



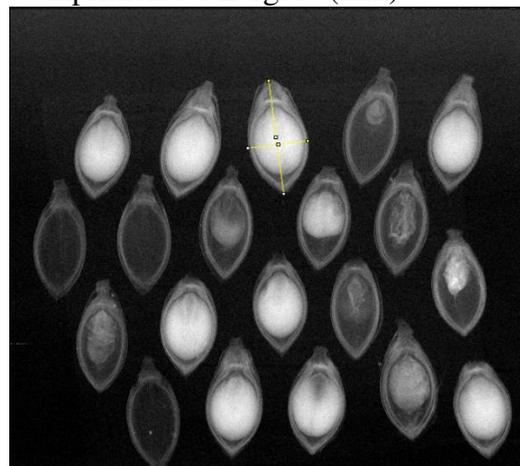
Área total ( $\text{mm}^2$ ).



Área do endosperma ( $\text{mm}^2$ ).



Comprimento e Largura (mm).



Fonte: elaborado pelo autor

De acordo com a distribuição de frequência foi criado quatro classes conforme a sua área interna ocupada pelo endosperma da semente sendo elas:

Classe I: Sementes com área interna compreendidas entre 0,391 – 1,667 mm<sup>2</sup>.

Classe II: Sementes com área interna compreendidas entre 1,668 – 2,944 mm<sup>2</sup>.

Classe III: Sementes com área interna compreendidas entre 2,945 – 4,221 mm<sup>2</sup>.

Classe IV: Sementes com área interna compreendidas entre 4,222 – 5,497 mm<sup>2</sup>.

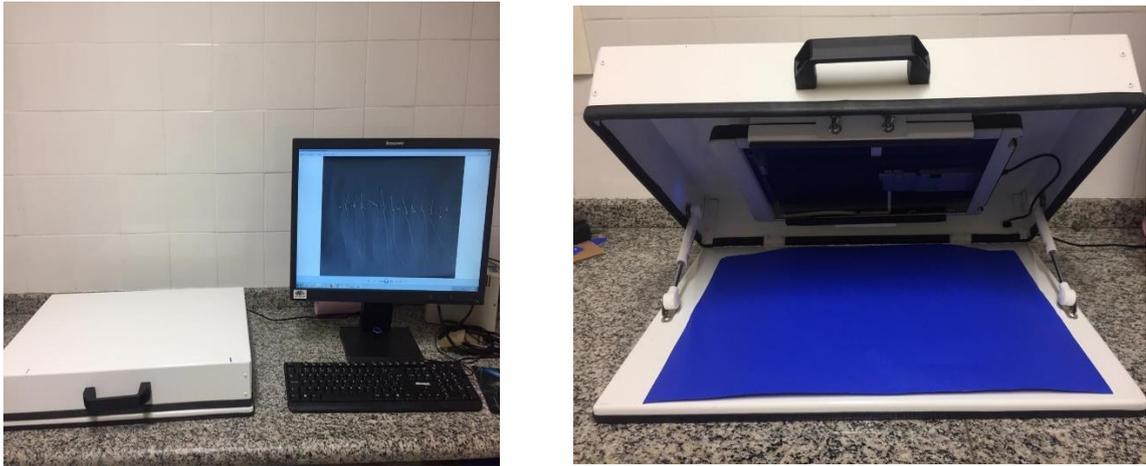
### **4.3 Teste de germinação**

Posteriormente, foi realizado o teste de germinação com as mesmas sementes utilizadas no teste de raios X, mantendo a ordem de distribuição das sementes, em que foram utilizadas dez repetições de 20 sementes para cada lote. O teste foi conduzido utilizando-se folhas de papel germitest®, previamente umedecidas com água destilada equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato seco. Os rolos de papel contendo as sementes foram mantidos em germinador do tipo BOD, em temperatura alternada de 15-35°C e sob fotoperíodo de 8 horas de luz e 16 horas de escuro. As avaliações foram realizadas aos sete dias após a semeadura, data estabelecida para a primeira contagem de germinação (BRASIL, 2009).

### **4.4 Análise computadorizada de imagens de plântulas**

Aos sete dias após a semeadura as plântulas normais, anormais e sementes mortas foram transferidas para papel A3 de coloração preta e capturadas as imagens em escâner modelo HP Scanjet 2004, adaptado de maneira invertida dentro de uma caixa de alumínio (Figura 3). As imagens foram digitalizadas, em 300 dpi e armazenadas para posterior análise.

Figura 3 - Sistema de captura de imagens de plântulas do Laboratório de Análise de Sementes, do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal do Ceará.



Fonte: elaborada pelo autor

O comprimento de cada plântula foi mensurado individualmente com a utilização de ferramenta do software ImageJ®, que possibilitam a demarcação de partes específicas do material analisado, como pode ser verificado em amarelo na Figura 4. O comprimento foi expresso em milímetros por plântula.

Figura 4 – Imagens computadorizadas de plântulas de braquiária com sete dias. Plântula marcada em amarelo representa como foi medido o comprimento das suas partes.



Fonte: elaborado pelo autor

#### **4.5 TESTE TETRAZÓLIO**

Decorridos sete dias do teste de germinação, mantendo a mesma sequência dos testes anteriores, as sementes não germinadas foram submetidas ao teste de tetrazólio. As sementes foram cortadas longitudinalmente com o auxílio de pinça e bisturi, sendo utilizada as duas metades das sementes para a coloração. Em seguida, cada semente foi acondicionada separadamente em recipientes plásticos em solução a 0,1% de cloreto 2-3-5 trifenil tetrazólio, mantidas em BOD a 37°C por 2 horas, na ausência de luz (BRASIL,2009). A avaliação foi realizada considerando-se a intensidade de coloração de suas partes, permitindo identificar as sementes como sementes viáveis, não viáveis e vazias.

#### **4.6 Análise estatística para comprimento de plântulas**

O experimento foi conduzido em um Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) desbalanceado. Para a variável comprimento de plântulas, os dados foram transformados por  $\sqrt{Y+1.0}$ . As variáveis foram submetidas a análise de variância ao nível de 5% de significância e as que apresentaram diferença significativa foram submetidas ao teste de Tukey para comparação de médias.

### **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **5.1 Teor de água e peso de mil sementes**

O teor de água das sementes indicou que o lote 1 apresentou um menor percentual de teor de água, enquanto que os lotes 2 e 3 apresentaram uniformidade neste percentual (Tabela

01). No entanto, essa variação entre os lotes foi de apenas 3%, sendo este valor baixo. É aconselhável que a umidade das sementes de todos os lotes não ocorram grandes variações, evitando assim que este fator venha a interferir nos testes de vigor e nas análises de raios X, uma vez que o grau de umidade inicial das sementes influencia na absorção de água durante a realização dos testes.

O peso de mil sementes não apresentou diferenças que possam indicar que algum dos lotes sejam mais denso que o outro, apresentando assim uma uniformidade entre as sementes dos três lotes.

Tabela 01 - Teor de água e peso de mil sementes dos 3 lotes de sementes de braquiária

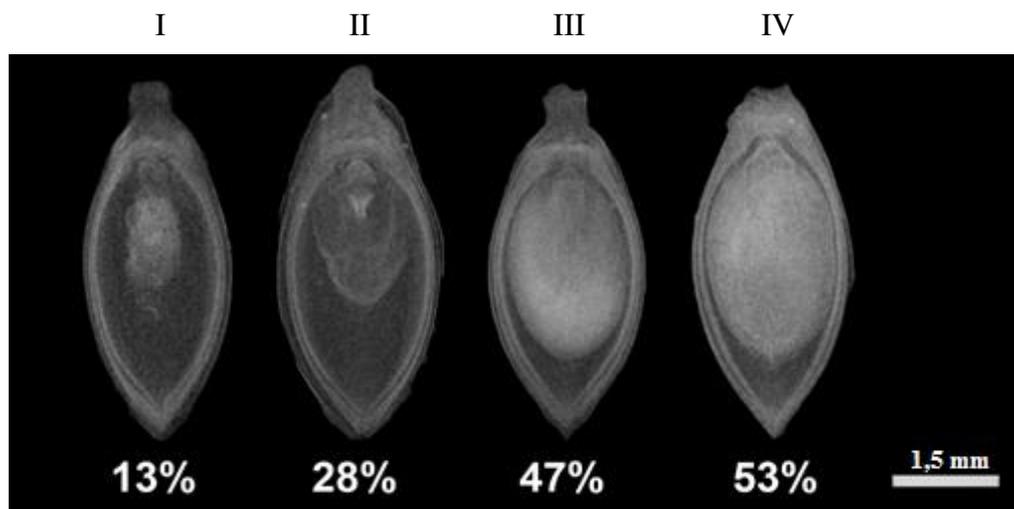
<b>Lote</b>	<b>Teor de Água (%)</b>	<b>Peso de Mil Sementes(g)</b>
1	9	8,59
2	12	8,40
3	11	8,90

## **5.2 Análises de imagens na avaliação da morfologia interna**

As sementes de braquiária foram passíveis de serem analisadas utilizando análises de raios X. O que permitiu visualizar sua morfologia interna e conseqüentemente foi possível identificar as áreas preenchidas pelo embrião e endosperma, e em alguns casos até tecidos deteriorados e má formação, sendo estas características que podem ocasionar reduções na germinação.

Na Figura 5 é possível verificar que houve variação no espaço vazio entre as sementes. As áreas escuras são conseqüências da ausência de tecido ou baixa densidade do mesmo na semente, resultando na passagem facilitada dos raios X. De forma inversa, as áreas brancas são aquelas em que a passagem do raios X ocorreu com maior dificuldade, ou seja, representam áreas mais densas.

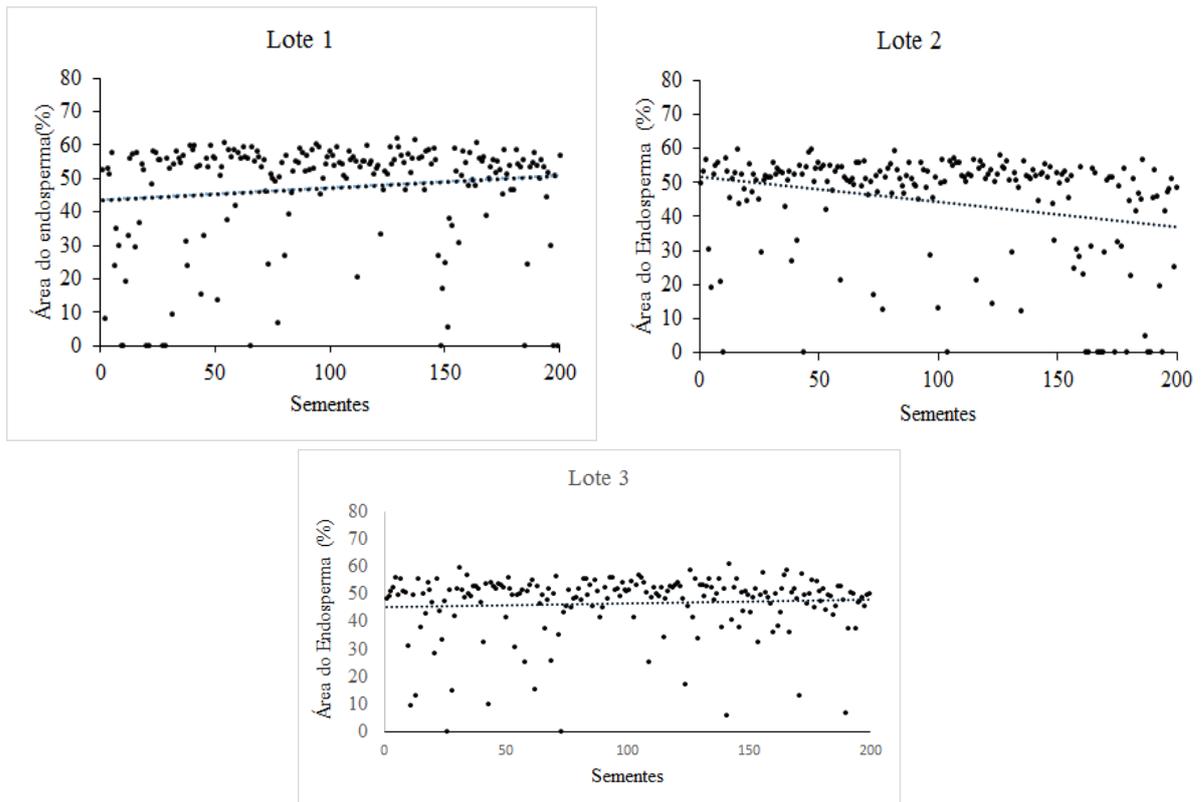
Figura 5 – Imagens radiográficas de sementes de braquiária com diferentes áreas internas preenchidas por embrião + endosperma.



Fonte: elaborado pelo autor.

A dispersão dos dados referentes ao preenchimento interno de cada semente dentro de cada lote pode ser visualizada na Figura 6, onde se observa que 71% das sementes do lote 1 apresentaram maior concentração de pontos entre 50 e 60% preenchidos em relação a área total e 14,5% das sementes apresentaram sua área de preenchimento abaixo de 30% indicando uma má-formação da semente. Enquanto que no lote 2, 59% das sementes apresentaram sua área de preenchimento entre 50 e 60% preenchidos e 34% com área inferior a 30%. Já no lote 3 as sementes apresentaram apenas 48,5% de suas sementes encontram-se no intervalo entre 50 e 60% de área preenchida, e 7,5% das sementes com área de preenchimento abaixo de 30%. Outro aspecto a ser considerado é que o máximo de preenchimento apresentado foi 62,28%, tendo em vista que a semente de braquiária apresenta em sua constituição parte como pericarpo e a região basal, que conecta a semente a panícula. Desta forma, a região ocupada pelo endosperma e embrião ocupam áreas relevantes destas sementes, porém não observou-se 100% de preenchimento.

Figura 6 - Dispersão dos dados referentes à porcentagem de preenchimento interno de cada semente, para os três lotes.



Fonte: elaborada pelo próprio autor

Na Tabela 2 é possível verificar as características morfológicas das sementes de braquiária obtidas pelas imagens radiográficas. Além das características de plântulas, aos sete dias após o teste de vigor. Observou-se que quanto maior a área ocupada pelo embrião, maior será a capacidade da semente germinar (Tabela 2). Vale salientar que outros fatores também podem afetar a germinação de uma semente, sejam eles fatores ligados a danos mecânicos que podem ocorrer durante o período da colheita, danos ocasionados por insetos, patógenos, dentre outros.

Tabela 2 – Classes de médias de área interna (mm<sup>2</sup>) e média de comprimento de plântulas, (mm) para sementes de três lotes de braquiária.

Classes	Intervalo AE	nº sem	Freq	AT	AE	AE/AT	CPS	LS	CPP*	G (%)	
I	0,391	1,667	26	4,5	8,03 b	1,03 d	12,86 d	5,23 a	2,15 d	2,08 b	0,174
II	1,668	2,944	47	8,2	8,06 b	2,31 c	28,82 c	4,97 b	2,20 c	9,02 a	0,523
III	2,945	4,221	166	29,0	8,04 b	3,82 b[H1]	47,81 b	4,90 b	2,29 b	9,11 a	15,679
IV	4,222	5,497	335	58,4	8,50 a	4,55 a	53,78 a	5,03 b	2,38 a	9,22 a	43,728
DMS				0,27	0,14	2,02	0,16	0,05	-	60,10%	
CV(%)				6,9	6,84	8,8	6,84	4,65	16,47		

Fonte: elaborada pelo autor

Médias seguidas da mesma letra na mesma coluna, são semelhantes estatisticamente entre si.

AT –Área total, AE – Area do endosperma (mm<sup>2</sup>),

CPS-Comprimento de sementes, LS –Largura de semente, CPP- Comprimento de Plântulas (mm).

G – Porcentagem de plântulas normais ao sétimo dia após o início do teste de germinação.

AE/AT- Relação área do endosperma e área total (%).

\* médias transformadas por Raiz quadrada de  $Y + 1.0$ .

A área total da semente resultou que a classe IV diferenciou das três demais classes no teste de Tukey a 5% de probabilidade com 8,50 mm<sup>2</sup>. Uma semente com área total maior, será capaz de compor uma maior área de endosperma, devido ao seu tamanho, quanto maior a área do endosperma maior a quantidade de reservas disponível para o processo germinativo, o que resultaria em maior probabilidade de germinação.

Durante a formação das sementes ocorre o acúmulo de reservas que serão utilizadas no processo de germinação. A viabilidade da semente depende de diversos fatores que ocorrem durante a produção da semente, interferindo na quantidade de reserva que a semente consegue produzir e na formação do embrião. Nesta pesquisa, ao separar a área do endosperma por classes de preenchimento, pode-se observar que quanto maior a área interna, maior será seu percentual germinativo.

A relação área interna e área total (AE/AT) apresentou resultado crescente em função da classe em que as sementes foram classificadas, assim, a menor relação foi observada para a classe I e a maior relação para a classe IV.

O comprimento das sementes apresentou maior valor para a classe I (Tabela 02). As demais classes foram estatisticamente semelhantes entre si.

Ao avaliar o comprimento da plântula foi observado que a classe I apresentou menor tamanho de plântulas, pelo fato de que o endosperma é o principal fornecedor de reservas requeridas pelo embrião em sementes de braquiária para que ocorra a germinação. As demais classes não diferiram entre si.

Desta forma, é possível inferir que o vigor aumentou em função das classes de área do endosperma (Tabela 02), em que a classe IV apresentou 44%. Quanto maior a área do endosperma as sementes apresentam maior quantidade de reserva que será disponibilizada durante o processo de germinação (Marcos Filho, 2015).

Caso haja necessidade de recomendação de beneficiamento em sementes de braquiária, de acordo com os resultados observados na Tabela 02, recomenda-se a separação das sementes em função das características morfológicas descritas para a classe IV. Tendo em vista que AT, LS, e o vigor apresentaram os melhores resultados para esta classe.

### 5.3 Teste de tetrazólio

Na Tabela 3 é possível verificar a viabilidade das sementes de braquiária, por classes, aos sete dias após o teste de vigor.

Tabela 3 - Resultado teste de tetrazólio

	Teste de Tetrazólio (%)			
	Classe I	Classe II	Classe III	Classe IV
Sementes Viáveis	0	0	12,04	16,41
Sementes Não Viáveis	26,92	51,06	24,69	8,05
Sementes Vazias	69,23	38,29	9,03	0,59

Fonte: Elaborada pelo Autor

A classe I não apresentou sementes viáveis, entretanto, 26,92% das sementes são não viáveis e 69,23% das sementes são sementes vazias, caracterizando assim as sementes

destas classes como sementes de baixo vigor. Para a classe II não foram observadas sementes viáveis, porém ao comparar com a classe I, o percentual de sementes vazias diminuiu significativamente, como podemos observar, 51,06% das sementes como não viáveis e 38,29% das sementes são vazias. Para a classe III, diferente das demais classes citadas anteriormente, a classe apresenta 12,04% das sementes são viáveis, 24,69% são sementes não viáveis e 9,03% das sementes são vazias. A classe IV apresentou a maior porcentagem de sementes viáveis, sendo 16,41% de suas sementes viáveis, 8,05% são sementes não viáveis e apenas 0,59% de suas sementes são sementes vazias, resultando esta classe como uma classe totalmente distinta das duas primeiras classes onde seus resultados foram considerados inversos aos obtidos na classe IV.

Na Figura 7 é possível visualizar o aspecto da coloração das sementes após o teste de tetrazólio, em que as sementes com coloração vermelha foram classificadas como viáveis, as com coloração branca, classificadas como inviáveis e as com ausência de preenchimento, ficando escuras após o teste, classificadas como vazias.

Figura 7- Imagens das sementes de braquiária após o teste de tetrazólio, caracterizando-as como: viável, inviável e vazia.



Fonte: elaborada pelo autor

De acordo com os resultados observados, é possível verificar que existe diferença na área de preenchimento das sementes de braquiária, conforme pode ser verificado nas imagens radiográficas. Esta característica pode afetar a qualidade fisiológica das sementes,

alterando os resultados de vigor, como foi verificado após o teste de germinação e medição do comprimento de plântulas.

## **6 CONCLUSÃO**

A análise de imagens, por meio da técnica de raios X possibilita avaliar a morfologia interna das sementes de braquiária. É possível a classificação das sementes em diferentes níveis de preenchimento, Além disso, é possível relacionar as características morfológicas com o potencial fisiológico.

## REFERÊNCIAS

- ARRUDA, Natália; CICERO, Silvio Moure; GUILHIEN GOMES-JUNIOR, Francisco. **Radiographic analysis to assess the seed structure of *Crotalaria juncea* L.** J. Seed Sci., Londrina, v. 38, n. 2, p. 161-168, Jun. 2016
- BRANDANI, E. B. **Análise de imagens na avaliação do vigor de sementes de soja.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília 2017, 54p. Dissertação de Mestrado
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento **Regras para Análise sementes.** Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção.** Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588 p.
- CARVALHO, M.L.M **Utilização da análise de imagem – conceitos, metodologias e usos.** Informativo Abrates, v.20, p. 45-47, 2012.
- CICERO, S.M. et al. **Evaluation of mechanical damage in seeds of maize (*Zea mays* L.) by X-ray and digital imaging.** Seed Science and Technology, Wallingford, v.26, p.603-612, 1998.
- CICERO, S. M. **Aplicação de imagens radiográficas no controle de qualidade de sementes.** Informativo Abrates, v. 20, p. 48-51, 2010.
- CRAVIOTTO, R. M.; YOLDJIAN, A. M.; SALINAS, A. R.; ARANGO, M. R.; BISARO, V.; MATURO, H. **Description of pure seed fraction of oat through usual evaluations and radiographic images.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 37, n. 8, p.1183-1188, 2002.

GOMES JUNIOR, F.G. **Aplicação da análise de imagens para avaliação da morfologia interna de sementes.** Informativo Abrates, v. 20, p. 33-39, 2010.

IMOLESI, A.S.; VON PINHO, E.V.R.; VON PINHO, R.G.; VIEIRA, M.G.G.C.; CORRÊA, R.S.B. **Influência da adubação nitrogenada na qualidade fisiológica das sementes de milho.** Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v.25, n.5, p. 1119-1126, 2001

**INTERNATIONAL RULES FOR SEED TESTING.** Seed Science and Technology. Zürich: ISTA, 1999. 333 p. (Supplement. ).

MACHADO, C. F.; CICERO, S. M. **Aroeira-branca (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. Anacardiaceae) seed quality evaluation by the X-ray test.** Scientia Agricola, Piracicaba, v. 60, n. 2, p. 393-397. 2003.

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. (2010). **Sistema computadorizado de Análise de Imagens de plântulas (SVIS®) para Avaliação fazer vigor de Sementes.** Informativo Abrates, 20 ( 3), 40-44.

MARCOS-FILHO, J. 2015. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas. 2. ed.,** Londrina: ABRATES, 660p.

ROCHA, Cartiane Rubshirley Macêdo da; SILVA, Vanessa Neumann; CICERO, Silvio Moure. **Avaliação do vigor de sementes de girassol por meio de análise de imagens de plântulas.** Cienc. Rural, Santa Maria, v. 45, n. 6, p. 970-976, June 2015 .

SIMAK, M. **Teste de árvore de floresta e sementes de arbustos por X-radiografia.** In: GORDON, AG;GOSLING, P .; WANG, BSP (Ed.) **Árvore e Handbook Semente arbusto.** Zurique: ISTA, 1991. p.1-28.

