



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PRÓ REITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA

KELLY ANDRESSA PERES DE LIMA

**ANÁLISE DE IMAGENS: DETERIORAÇÃO DE SEMENTES DE ALFACE E
POTENCIAL FISIOLÓGICO**

FORTALEZA

2022

KELLY ANDRESSA PERES DE LIMA

ANÁLISE DE IMAGENS: DETERIORAÇÃO DE SEMENTES DE ALFACE E
POTENCIAL FISIOLÓGICO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciência Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Agronomia/Fitotecnia.
Área de concentração:
Manejo de Agroecossistemas/Tecnologia de sementes

Orientador: Prof. Dr. Alek Sandro Dutra

FORTALEZA

2022

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)

L698a Lima, Kelly Andressa Peres de.
Análise de imgens: deterioração de sementes de alface e potencial fisiológico / Kelly Andressa Peres de Lima. – 2022.
42 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia), Fortaleza, 2022.
Orientação: Prof. Dr. Alek Sandro Dutra.

1. Estresse térmico. 2. Temperatura. 3. Programa ImageJ. 4. Lactuca sativa L.. I. Título.

CDD 630

KELLY ANDRESSA PERES DE LIMA

ANÁLISE DE IMAGENS: DETERIORAÇÃO DE SEMENTES DE ALFACE E
POTENCIAL FISIOLÓGICO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Agronomia/Fitotecnia. Área de concentração: Manejo de Agroecossistemas/Tecnologia de sementes

Aprovada em 04/07/2022

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alek Sandro Dutra (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Charline Zaratin Alves
Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS)

Profa. Dra. Clarisse Pereira Benedito
Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela fé, força, sabedoria e persistência. Pelo cuidado e amor inigualáveis que se renovam todos os dias trazendo alegria e vida.

A minha família, meu pai Ronaldo, minha mãe Rosana e meu irmão Ronald pelo apoio e amor dedicados, por serem meu porto seguro. Ao meu amor Diego Yslan, que me apoiou e contribuiu em tudo que estava ao seu alcance tornando a caminhada mais amena.

Ao Laboratório de Sementes da UFC (LAS-UFC), local onde vivi experiências intensas e grandes desafios, fez parte da minha conquista do título de Engenheira Agrônoma e agora me torno Mestra em Agronomia. Desde 2017 vi muitas pessoas chegarem e outras partirem alguns, inclusive, partiram para sempre. Tudo mudou muito rápido e eu não estava preparada, mas cruzei esta linha de chegada para a glória de Deus, minha força.

Ao meu orientador Prof. Alek Dutra e aos funcionários e colegas do LAS que contribuíram com a minha pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa que possibilitou minha permanência e conclusão do curso mesmo durante a pandemia, que se iniciou em 2020, no meu segundo semestre de mestrado.

RESUMO

Temperaturas elevadas durante o processo de germinação de sementes de alface causam alterações nas plântulas a depender do vigor inicial apresentado pelas sementes. Por meio de análise de imagens é possível avaliar de forma rápida e precisa o potencial fisiológico de sementes e através do teste de envelhecimento acelerado avalia-se sua resistência ao estresse causado por altas temperaturas. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o desempenho de cultivares de alface submetidas ao estresse térmico utilizando o programa ImageJ em análises de imagens e testes tradicionais de vigor. Foram testadas as cultivares Grand Rapids, Moana e Palmas submetendo-as ao envelhecimento acelerado na temperatura de 41°C durante 0 (controle), 24, 48 e 72 horas. Em seguida realizou-se a determinação do teor de água das sementes, peso de mil sementes e os testes de germinação, primeira contagem, índice de velocidade de germinação, condutividade elétrica, emergência em canteiro, índice de velocidade de emergência, massa seca e a análise de imagens do comprimento das plântulas (raiz, parte aérea, total e razão parte aérea/raiz) no ImageJ com três e sete dias após o plantio. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 12 tratamentos e quatro repetições de 50 sementes. Os resultados foram testados por meio de análise de variância (ANOVA) e análise de regressão linear à 5% de significância no software SISVAR. A análise de imagens identificou a cv. Moana como a mais resistente a temperatura elevada seguida por cv. Palmas e cv. Grand Rapids, respectivamente. A medição dos comprimentos de parte aérea e total das plântulas de alface no ImageJ aos três e sete dias foi eficiente para identificar o vigor e a resistência ao estresse térmico das cultivares de alface. Devido às alterações que causa no comprimento das plântulas o envelhecimento acelerado em conjunto com a análise de imagens permite a caracterização assertiva e precoce das diferenças de vigor entre as cultivares de alface.

Palavras-chave: estresse térmico; temperatura; programa ImageJ; *Lactuca sativa* L.

ABSTRACT

Elevated temperatures during the germination process of lettuce seeds (*Lactuca sativa* L.) cause alterations in the seedlings depending on the initial vigor presented by those seeds. Through image analysis it is possible to quickly and accurately evaluate the physiological potential of seeds and through the accelerated aging test its resistance to the stress caused by temperature is evaluated. The objective of this research is to use the ImageJ image processing program to evaluate the vigor and resistance to heat stress of lettuce seeds subjected to accelerated aging. The cultivars Grand Rapids, Moana and Palmas were tested by submitting them to accelerated aging at a temperature of 41°C for 0 (control), 24, 48 and 72 hours. Then, the water content of the seeds was determined and the germination, first count, electrical conductivity, emergence in bed, emergence speed index, dry mass and the analysis of images of the seedlings in ImageJ with three and seven days after sowing. A completely randomized design (DIC) was used with 12 treatments and four replications of 50 seeds. The results were tested by means of analysis of variance (ANOVA) and linear regression analysis at 5% of significance in the SISVAR software. Image analysis identified cv. Moana as the most resistant to high temperature followed by cv. Palmas and cv. Grand Rapids, respectively. The measurement of shoot and total lengths of lettuce seedlings in ImageJ at three and seven days was efficient to identify the vigor and resistance to heat stress of lettuce cultivars. Due to the alterations it causes in the length of the seedlings, accelerated aging together with image analysis allows for an assertive and early characterization of differences in vigor between lettuce cultivars.

Key words: heat stress; temperature; software ImageJ; *Lactuca sativa* L.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Primeira análise de imagens do crescimento de plântulas de alface ao terceiro dia do teste de germinação cultivar Grand Rapids TBR antes e após teste de envelhecimento acelerado. 39
A- 0 horas (controle) B- 24 horas; C- 48 horas; D- 72 horas.
- Figura 2 Primeira análise de imagens do crescimento de plântulas de alface ao terceiro dia do teste de germinação cultivar Moana antes e após teste de envelhecimento acelerado. 39
A- 0 horas (controle) B- 24 horas; C- 48 horas; D- 72 horas
- Figura 3 Primeira análise de imagens do crescimento de plântulas de alface ao terceiro dia do teste de germinação cultivar Palmas antes e após teste de envelhecimento acelerado. 40
A- 0 horas (controle) B- 24 horas; C- 48 horas; D- 72 horas
- Figura 4 Segunda análise de imagens do crescimento de plântulas de alface ao sétimo dia do teste de germinação cultivar Grand Rapids TBR antes e após teste de envelhecimento acelerado. 41
A- 0 horas (controle) B- 24 horas; C- 48 horas; D- 72 horas
- Figura 5 Segunda análise de imagens do crescimento de plântulas de alface ao sétimo dia do teste de germinação cultivar Moana antes e após teste de envelhecimento acelerado. 41
A- 0 horas (controle) B- 24 horas; C- 48 horas; D- 72 horas
- Figura 6 Segunda análise de imagens do crescimento de plântulas de alface ao sétimo dia do teste de germinação cultivar Palmas antes e após teste de envelhecimento acelerado. 42
A- 0 horas (controle) B- 24 horas; C- 48 horas; D- 72 horas.

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 Resultado da medição semiautomatizada do comprimento de raiz de 25
plântulas de alface ao terceiro dia do teste de germinação das cultivares de
alface Moana (MN), Palmas (PLM) e Grand Rapids TBR (GRPD) antes
e após teste de envelhecimento acelerado.
- Gráfico 2 Resultado da medição semiautomatizada do comprimento de parte aérea 26
das plântulas de alface ao terceiro dia do teste de germinação das
cultivares de alface Moana (MN), Palmas (PLM) e Grand Rapids TBR
(GRPD) antes e após teste de envelhecimento acelerado.
- Gráfico 3 Resultado da medição semiautomatizada do comprimento total de 27
plântulas de alface ao terceiro dia do teste de germinação das cultivares de
alface Moana (MN), Palmas (PLM) e Grand Rapids TBR (GRPD) antes
e após teste de envelhecimento acelerado.
- Gráfico 4 Resultado da medição semiautomatizada do comprimento de raiz de 28
plântulas de alface ao sétimo dia do teste de germinação das cultivares de
alface Moana (MN), Palmas (PLM) e Grand Rapids TBR (GRPD) antes
e após teste de envelhecimento acelerado.
- Gráfico 5 Resultado da medição semiautomatizada do comprimento de parte aérea 29
de plântulas de alface ao sétimo dia do teste de germinação das cultivares
de alface Moana (MN), Palmas (PLM) e Grand Rapids TBR (GRPD)
antes e após teste de envelhecimento acelerado.
- Gráfico 6 Resultado da medição semiautomatizada do comprimento total de 30
plântulas de alface ao sétimo dia do teste de germinação das cultivares de
alface Moana (MN), Palmas (PLM) e Grand Rapids TBR (GRPD) antes
e após teste de envelhecimento acelerado.
- Gráfico 6 Resultado da medição semiautomatizada da razão parte aérea/raiz de 31
plântulas de alface ao sétimo dia do teste de germinação das cultivares de
alface Moana (MN), Palmas (PLM) e Grand Rapids TBR (GRPD) antes
e após teste de envelhecimento acelerado.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Resultado da análise de variância das médias dos tratamentos aplicados as 20 sementes de cultivares de alface Moana (MN), Palmas (PLM) e Grand Rapids TBR (GRPD). Para os testes de caracterização inicial: Teste de teor de água (TA); peso de mil sementes (PMS); teste de germinação (G); primeira contagem (PC); índice de velocidade de germinação (IVG); emergência (E); índice de velocidade de emergência (IVE) e condutividade elétrica (CE) para sementes das cultivares de alface Moana (MN), Palmas (PLM) e Grand Rapids TBR (GRPD). Para o teste de análise de imagens no ImageJ: Comprimento da raiz (CR); Comprimento da parte aérea (CPA); Comprimento total e Razão parte aérea/raiz. (I) = 3 dias (II) = 7 dias.
- Tabela 2 Resultados antes e após teste de envelhecimento acelerado do teste de determinação do teor de água (TA); Peso de Mil Sementes (PMS); Germinação (G); Primeira Contagem (PC); Índice de Velocidade de Germinação (IVG); Emergência (E); Índice de Velocidade de Emergência (IVE) e Massa Seca (MS) para sementes das cultivares de alface Moana (MN), Palmas (PLM) e Grand Rapids TBR (GRPD).

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

cm	centímetros
EA	Envelhecimento Acelerado
g	gramas
h	horas

LISTA DE SÍMBOLOS

% Porcentagem

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO-----	11
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA -----	12
2.1	Aspectos gerais da cultura da alface -----	12
2.2	Vigor e qualidade de sementes -----	13
2.3	Deterioração e envelhecimento-----	14
2.4	Testes de vigor-----	15
2.5	Análise de imagens de sementes e plântulas -----	17
3	MATERIAIS E MÉTODOS -----	18
3.1	Peso de mil sementes-----	18
3.2	Determinação do teor de água -----	18
3.3	Germinação; Primeira Contagem de Germinação e Índice de Velocidade de Germinação. -----	19
3.4	Emergência e Índice de Velocidade de Emergência -----	19
3.5	Condutividade elétrica -----	20
3.6	Análise de imagens digitais -----	20
3.6.1	<i>Captura de imagens</i> -----	20
3.6.2	<i>Medições digitais</i> -----	21
3.7	Delimitação experimental e análise estatística -----	
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	21
5	CONCLUSÃO-----	31
	REFERÊNCIAS-----	32
	IMAGENS DAS PLÂNTULAS ANALISADAS -----	37

1 INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa* L. Fam: *Asteraceae*) é a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil e a terceira mais comercializada (ABCSEM, 2016). Destarte isso o cultivo da alface ainda abrange desafios. As condições climáticas, especialmente em regiões de climas tropicais, têm grande relevância no ciclo de desenvolvimento de uma hortaliça, como no caso da alface cuja origem é de clima temperado (NASCIMENTO; PEREIRA, 2007). A fase inicial do cultivo inicia-se com a propagação da alface que é feita por meio de sementes, sendo assim é essencial o entendimento dos fatores que afetam o processo de germinação em sementes de alface.

Sabe-se que temperaturas acima de 25°C durante a germinação são capazes de afetar negativamente o desenvolvimento inicial da cultura da alface (WANG, 2015). E um dano que pode ocorrer é a redução da capacidade de formação de plântulas normais e de seu comprimento, que está relacionado ao vigor das sementes (MARCOS FILHO, 2015). Dependendo do nível de vigor que um lote de sementes apresente, as temperaturas altas afetarão com maior ou menor intensidade o seu desempenho em campo.

Os testes de vigor são realizados com o objetivo de prever o comportamento de um lote de sementes em campo. Quanto melhor adequada for a metodologia de uma avaliação de vigor mais precisos serão os resultados. As técnicas de análises de imagens vêm mostrando-se promissoras, à medida que proporcionam resultados rápidos, objetivos e com ampla reprodutibilidade. Dessa forma, ao aliar-se a análise de imagens de plântulas com testes de vigor de resistência ao estresse pode-se conhecer de maneira mais completa o vigor de um lote de sementes (MARCOS-FILHO, 2015).

Algumas alternativas têm sido buscadas para adequar a utilização de ferramentas cada vez mais acessíveis nas análises de imagens de plântulas. O Programa de Análise de Imagens em Java (*ImageJ*) é versátil e gratuito, o que permite seu uso em diversas avaliações de vigor. Podem ser avaliados aspectos como a morfologia externa das sementes (SOUZA *et al.*, 2018), bem como a morfologia interna associada ao teste de raios X (NORONHA *et al.*, 2018), também pode ser feita a medição do comprimento de plântulas e obtenção de outros parâmetros associados a qualidade fisiológica de sementes (JAVORSKI *et al.*, 2018). Assim, diante da versatilidade das avaliações de vigor por meio de imagens e das peculiaridades da cultura da alface, é necessário que se

busque a adequação daquelas para resultados rápidos e confiáveis. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o desempenho de cultivares de alface submetidas ao estresse térmico utilizando o programa ImageJ em análises de imagens e testes tradicionais de vigor.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos gerais da cultura da alface

A alface (*Lactuca sativa* L) pertence à família botânica Asteraceae e é uma hortaliça responsável por movimentar boa parte da economia do setor horticultor brasileiro, segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2020). Existem variados tipos de alface e no Brasil os mais consumidos, em ordem crescente, são alface crespa, americana, lisa e romana e cada tipo possui uma diversidade de cultivares (OLIVEIRA, 2017). Para a espécie *Lactuca sativa* L. atualmente estão registradas 756 cultivares no Registro Nacional de Cultivares – RNC (2020) e 80 cultivares protegidas no Serviço Nacional de Proteção de Cultivares – SNPC (2020) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Em relação à espécie *L. sativa* var *capitata* L foram encontrados 29 registros no RNC (2020), para a *L. sativa* var *crispa* L. existem 32 registros e a espécie *L. sativa* var *longifolia* Lam. possui 9 registros.

Apesar do consumo popular, o cultivo da alface enfrenta desafios especialmente relativos as condições climáticas de temperatura e umidade. A maior parte do território brasileiro apresenta temperaturas acima de 25°C durante a maioria dos meses do ano, isso limita o desenvolvimento e a produtividade da cultura. Quando expostas a tais temperaturas suas sementes podem perder momentaneamente a capacidade de germinar, recuperando-a se aquela diminuir – termoinibição - ou permanecerem dormentes exigindo quebra de dormência – termodormência- (RITTER, 2018).

Por ser uma hortaliça, a alface possui um ciclo rápido e muito dependente da temperatura, desde o início de seu ciclo até a colheita. Após a germinação e estabelecimento inicial é feito o transplântio das mudas em campo ou em cultivo protegido. O corte comercial da alface crespa se dá entre 25 e 30 dias no período quente e pode chegar a 45 dias no inverno, quanto mais quente for o clima local mais rapidamente a alface alcança o ponto de colheita, que é antes do início de sua floração (GONÇALVES e SILVA, 2018).

Para a produção de sementes de alface o ciclo pode variar entre as diferentes cultivares de 100 e 120 dias, em cultivo protegido, e 120 e 170 dias em condições de campo. Quando alcança o período reprodutivo, uma planta de alface produz inflorescências tipo capítulo, com frutos tipo aquênio o que a torna uma cultura que produz muitas sementes (PINHEIRO e PANOZZO, 2018). Nascimento e Cantiliffe (2002) afirmam que quando a planta mãe é submetida a altas temperaturas durante a maturação de suas sementes estas apresentam melhor desempenho em temperaturas elevadas. Ao atingirem a maturidade fisiológica as sementes estão em seu máximo potencial fisiológico, que diminui após este evento em taxas naturais determinadas por sua genética e condições de formação em campo.

Após a colheita as sementes de alface devem ser embaladas e armazenadas em condições de temperatura adequada. Quando os produtores expõem as sementes à temperatura elevada ocorre perda de qualidade o que afeta o desempenho da germinação (CATÃO et al, 2016). Além das diferenças inerentes às condições de cultivo e armazenamento de *L. sativa*, existem outras relativas às características ao material genético, entre cultivares (OLIVEIRA, 2017). Assim, conclui-se que devido à combinação desses fatores, é possível observar diferenças relevantes de qualidade e conseqüentemente do desempenho frente a adversidades, dentro da espécie, no período da germinação que é crítico.

2.2 Vigor e qualidade de sementes

O conceito de vigor em fisiologia de sementes está relacionado ao potencial fisiológico que um lote de sementes carrega consigo, resultando em rapidez e uniformidade de germinação, nas condições de campo, dessa forma implica numa certa tolerância a estresses (MARCOS-FILHO, 2015a). Mais do que garantir a formação de plântulas normais é necessária a formação de plântulas vigorosas, que se desenvolvam plenamente inclusive em condições adversas. Assim, quanto mais elevado for o nível de vigor das sementes, melhor será o desempenho mesmo em situações adversas.

Quatro aspectos demonstram a qualidade e o vigor das sementes, são eles físico, sanitário, genético e fisiológico (MARCOS-FILHO, 2015b). Através do tamanho, peso, coloração entre outros caracteres físicos das sementes é possível avaliar o nível de vigor de um lote de sementes. Freitas et al. (2019) observaram que os parâmetros morfométricos de sementes de crambe estavam relacionados ao seu potencial fisiológico. Em relação ao aspecto sanitário, as sementes podem apresentar

fitopatógenos como insetos, fungos e bactérias capazes de afetar e até mesmo inibir a germinação.

A qualidade genética está associada ao genótipo, os caracteres herdáveis que a semente apresenta. Algumas sementes podem apresentar maior tolerância aos estresses sofridos durante o processo de germinação, que dependerá de fatores internos a ela ou externos do ambiente (WANG et al, 2018). Pode acontecer que sementes de uma mesma espécie, mas com genótipos diferentes apresentem comportamento totalmente diverso entre si em relação ao grau de tolerância ao estresse (WEI et al., 2020). Por isso são necessários estudos que permitam conhecer o comportamento de diferentes cultivares de alface frente ao estresse térmico.

Já a qualidade no aspecto fisiológico das sementes está relacionada com o desenvolvimento das plântulas e suas características como velocidade e uniformidade da germinação, além da integridade das estruturas das plântulas formadas (MARCOS-FILHO, 2015b). Não é possível melhorar o vigor de um lote de sementes, mas pode-se preservá-lo, para tanto é necessário conhecer os processos que estão associados a perda de vigor. Apesar do avanço nos estudos sobre vigor de sementes é inevitável que ele seja diminuído ao longo do tempo, devido à deterioração natural que leva ao envelhecimento e perda de vigor pelas sementes (EBONE et al, 2019).

2.3 Deterioração e envelhecimento de sementes

Deterioração em sementes pode ser entendida como um conjunto de alterações adversas, de ordem bioquímica e fisiológica, que ocorrem de forma natural ou artificial, e levam a diminuição ou perda da qualidade fisiológica nas sementes (EBONE et al, 2019; MARCOS-FILHO, 2015). Existem aspectos, como temperatura e umidade, que devem ser controlados a fim de retardar o envelhecimento e a redução do nível de vigor nas sementes. Condições de temperatura e umidade elevadas promovem o envelhecimento pelo aumento da taxa de deterioração, devido ao aumento da taxa de respiração celular (JIANG et. al, 2018).

Quando a atividade respiratória na semente é intensificada observam-se algumas consequências como a redução da capacidade do sistema enzimático e antioxidante (WANG et al, 2018; SHARMA et al, 2018). No caso da deterioração de sementes de alface, a redução da atividade enzimática pode estar associada à termodormência pois é necessária a ação da enzima endo- β -mananase que degrada os

galactomananos, carboidratos constituintes de seus endospermas, para permitir que ocorra a protusão da radícula (NASCIMENTO, 2002).

O aumento da respiração também leva ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) que levam a peroxidação lipídica das membranas celulares com danos irreversíveis (HUSSAIN et al, 2016). Em último caso leva a perda da permeabilidade seletiva das membranas e colapso das células causando lixiviação dos solutos celulares como cátion, ânions e açúcares solúveis. Essas alterações bioquímicas são passíveis de serem percebidas por meio de testes de atividade enzimática (CORTE et al, 2010) ou ainda, no caso da lixiviação de solutos, pelo teste de condutividade elétrica.

Por meio de análises de sementes que tem como base avaliar o crescimento das plântulas é possível inferir sobre o nível de vigor e grau de deterioração de sementes. Dessa forma é essencial que o método de medição de plântulas seja o mais preciso e seguro possível, como é o caso das medições por meio de imagens digitais. Por meio da utilização de testes e avaliações adequadas é possível conhecer o vigor das sementes e estimar o seu desempenho frente a estresses ambientais.

2.4 Testes de vigor

Para conhecer os efeitos da deterioração e do envelhecimento sobre o vigor de sementes podem ser realizados testes de vigor. Os testes de vigor podem ser classificados em testes físicos, testes bioquímicos, testes fisiológicos e testes de resistência ao estresse, de acordo com McDonald (1975). Alguns testes de vigor fisiológicos são realizados conjuntamente ao teste de germinação, como os testes de primeira contagem de germinação e o índice de velocidade de germinação que avaliam a velocidade em que a semente formou uma plântula normal. Porém devido as condições do teste de germinação serem padronizadas e otimizadas é necessária a realização de outros testes capazes de avaliar de maneira mais completa o vigor das sementes.

Os testes de resistência ao estresse, são aqueles nos quais as sementes são submetidas a condições de elevadas temperatura e umidade, que aceleram o processo de envelhecimento nas sementes levando à perda de vigor e deterioração metabólica. O teste de envelhecimento acelerado (EA) é classificado como um teste de resistência ao estresse. Sua utilização é frequente para avaliações de vigor em sementes de lotes com níveis de qualidade e germinação parecidos, devido à sua precisão e sensibilidade (PEREIRA et. al, 2015).

As temperaturas usadas no EA estão entre 40°C a 45°C sendo que a temperatura mais recomendada é de 41°C pois é a temperatura máxima na qual consegue-se conservar a integridade das proteínas (MARCOS FILHO, 2015). Durante o EA ocorre absorção de água pelas sementes, o que intensifica as reações metabólicas e a respiração celular. Silva et al., (2017) afirmam que a absorção de água de forma rápida pelas sementes acelera sua deterioração. Santos et al., (2011) concluíram que através do teste de envelhecimento acelerado em alface na temperatura de 41°C por 48 horas é possível encontrar resultados consistentes em classificação de vigor das cultivares testadas.

Já os testes bioquímicos, baseiam-se nas reações bioquímicas que ocorrem nas sementes decorrentes de sua deterioração e perda de vigor. O teste de condutividade elétrica em sementes é classificado como um teste bioquímico, cujo objetivo é mensurar a quantidade de lixiviados na solução de embebição das sementes durante um determinado período. Quanto mais íntegras estiverem as membranas menor será a quantidade de lixiviados, indicando maior nível de vigor que está associado a níveis mais baixos de condutividade na amostra avaliada.

Os testes fisiológicos que avaliam o crescimento de plântulas são os mais sensíveis às variações nos níveis de vigor dos lotes (MARCOS FILHO, 2015a). Ao se avaliar aspectos como a velocidade e taxa de crescimento nas plântulas é possível concluir de forma eficiente sobre o potencial fisiológico de um lote de sementes. Porém essas avaliações geralmente são realizadas por meio de medições manuais que estão sujeitas a erros devido às limitações humanas do analista, principalmente em plântulas delicadas e tenras, como as de alface.

Marchi e Cicero (2017) avaliaram plântulas de cenoura (*Daucus carota* L.), por meio de imagens digitais e observaram que o índice de crescimento de plântulas identificou com sucesso o vigor de diferentes lotes de sementes. Através da automatização da medição de plântulas é possível obter resultados mais precisos, o que torna as análises por meio de imagens digitais mais eficientes do que as realizadas apenas com a visão humana.

2.5 Análises de imagens de sementes e plântulas

Devido existirem diferenças que são sutis no início do desenvolvimento das plântulas a automatização de testes de vigor é uma forma de aumentar a agilidade e precisão dos resultados (GONÇALVES et. al., 2017). Kikuti e Marcos-Filho (2012)

obtiveram classificação satisfatória do vigor de lotes de sementes de alface utilizando análises de imagens com 3 dias após a germinação. Além disso a avaliação de vigor por meio de imagens necessita de menor manipulação das plântulas, o que diminui a ocorrência de danos. Javorski et al., 2018 estudando o potencial fisiológico de sementes de milho, observaram que com apenas dois dias após o início do teste de germinação, através de análise de imagens de plântulas, foi possível obter resultados consistentes.

Para medição de plântulas por meio do processamento de imagens digitais são usadas imagens matriciais compostas pelos chamados “Picture elements” ou abreviadamente “pixels”, que formam matrizes bidimensionais ou multidimensionais (SILVA, 2018). Nas imagens coloridas formadas pelo sistema de cores RGB (Red, Green, Blue) que são comumente utilizadas para medição de plântulas, cada pixel pode ser identificado por uma coordenada (R,G,B): vermelho, verde e azul cujos valores variam entre 0 e 255. Com isso, as medições das plântulas podem ser realizadas de forma automatizada, em que as imagens são capturadas pelo analista e analisadas automaticamente pelo programa, por meio de contagem de pixels, gerando os valores de comprimento das plântulas.

O System Vigor Image System (SVIS) é um exemplo de software que realiza medições automáticas, e que foi desenhado por pesquisadores da Universidade Estadual de Ohio (SAKO et al, 2001). O SVIS foi desenvolvido para a cultura da alface e não é de livre utilização, apenas uma universidade no Brasil está conveniada e autorizada a utilizar o programa SVIS para fins acadêmicos (RODRIGUES, 2019). Apesar disso, foi utilizado com sucesso para avaliação de plântulas de alface (SAKO et al, 2001), cenoura (MARCHI e CICERO, 2017), brócolis (ABUD et al, 2017), entre outras espécies.

Com o passar dos anos, pesquisadores tem buscado suprir a necessidade de softwares de livre utilização para a análise de imagens do comprimento de plântulas. Alternativas como Vigor-S (CASTAN et al., 2018), SAPL (PEREIRA et al., 2020) e GroundEye (BRANDANI, 2017) foram desenvolvidas com tal finalidade. Brandani (2017) avaliou o vigor de plântulas de soja com 3 dias, utilizando o sistema GroundEye e comparou com os resultados obtidos no programa SVIS concluindo que ambos são eficientes para avaliações de vigor em lotes de soja. O sistema Análise Automatizada do Vigor de Sementes (Vigor-S) possui o diferencial de medir separadamente os comprimentos da raiz e da parte aérea (hipocótilo), e assim como o SVIS estima o

índice de crescimento, índice de uniformidade, índice de vigor e razão hipocótilo/raiz das plantas analisadas.

Existem ainda programas que devido sua flexibilidade podem ser utilizados em análises semi-automatizadas, ou seja, as medições são realizadas pelo programa com a participação direta do analista. O programa Image Processing and Analysis in Java (ImageJ) é um software de processamento de imagens que analisa vários tipos de imagens, permitindo diversos tipos de análises, inclusive análises de imagens de plântulas e sementes. Dessa forma é possível customizar a análise de vigor de acordo com o objetivo da análise. Silva e Dotto (2017) analisaram o vigor de sementes de arroz tratadas com zinco com o auxílio do software ImageJ e concluíram que esta análise foi eficiente para diferenciar seu potencial fisiológico.

Borges et al. (2019) avaliaram o vigor de sementes de alface por meio de imagens de raios X utilizando o software ImageJ e obtiveram sucesso ao classificar o vigor de sementes, assim também outras culturas como quiabo (SANTOS et al., 2019), brócolis (ABUD et al., 2017) e braquiária (MEDEIROS et al., 2020) também apresentaram resultados assertivos. Gomes Junior et al. (2017), utilizaram o programa para avaliar características de sementes do gênero Citrus. A utilização do ImageJ para avaliação de vigor de plântulas requer adaptações simples e é viável, tornando-o uma ferramenta promissora.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os testes foram conduzidos no Laboratório de Análises de Sementes do Departamento de Fitotecnia, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, Brasil. As sementes foram adquiridas junto a empresa Isla Sementes, de três cultivares de alface crespa: Grand Rapids TBR, Moana e Palmas. Inicialmente aplicou-se às sementes o teste de envelhecimento acelerado à temperatura de 41°C nos períodos de 24, 48 e 72 horas e juntamente com o tratamento controle (sem envelhecimento) sendo formados quatro sublotes utilizados para cada uma das três cultivares. Para isto, foram colocadas 200 mais um excedente de 50 sementes em camada única sobre a tela de alumínio contida na caixa plástica do tipo gerbox contendo 40 mL de água destilada no fundo, que permaneceram fechadas e envolvidas por papel filme durante a realização do teste mantendo uma atmosfera artificial com umidade

saturada. As caixas gerbox foram então armazenadas em câmara de germinação do tipo BOD (Biochemical Oxygen Demand) na temperatura 41°C durante os períodos de 0 (controle), 24, 48 e 72 horas (NASCIMENTO e PEREIRA, 2007). Em seguida foram realizados os testes para caracterização inicial das sementes, avaliações de vigor e análise de imagens.

3.1 Peso de Mil Sementes

De acordo com Brasil (2009), foram pesadas em balança com precisão de três casas decimais, oito repetições de 100 sementes para cada cultivar e em seguida foi feita a média dos pesos obtidos que foi então multiplicada por 10.

3.2 Determinação do teor de água

Foi realizado pelo método da estufa a 105 ± 3 °C durante 24h, utilizando-se duas subamostras de 50 sementes por lote, antes e após o envelhecimento acelerado. Os resultados foram expressos em porcentagem com base no peso úmido (BRASIL, 2009).

3.3 Germinação (G); Primeira Contagem de Germinação (PC) e Índice de Velocidade de Germinação (IVG)

As sementes foram semeadas em rolo de papel germiteste umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso do papel seco e então mantidas em câmaras de germinação do tipo B.O.D. à 20 °C sob luz constante (NERY et al., 2018). A contagem das sementes germinadas foi realizada no sétimo dia após semeadura. A primeira contagem foi realizada no quarto dia, sendo os resultados expressos em porcentagem média de plântulas normais por lote. Plântulas com raízes primárias e partes aéreas superiores a 2 mm foram consideradas normais (BRASIL, 2009). O IVG foi calculado pelo somatório das razões do número de sementes germinadas diariamente, em razão do número de dias em que ocorreu a germinação (MAGUIRE, 1962).

3.4 Emergência (E) e Índice de velocidade de emergência (IVE)

Foram realizados conjuntamente, em bandejas de isopor com células 2 x 2 cm preenchidas com substrato vermiculita. A umidade do substrato foi controlada com irrigação manual. As plântulas foram consideradas emergidas quando as folhas cotiledonares tornaram-se abertas. Foram realizadas avaliações diárias, para cálculo do IVE, computando-se o número de plântulas emergidas até o sétimo dia pós semeadura,

de acordo com a fórmula proposta por Maguire (1962). O resultado para emergência foi calculado como a porcentagem de plântulas normais.

3.5 Condutividade elétrica (CE)

As sementes foram acondicionadas em recipientes de plástico com capacidade para 200 ml, contendo 50 ml de água destilada. Em seguida foram mantidos na temperatura de 25°C por 24 h, e após este período mensurou-se a condutividade elétrica da solução por meio de leituras feitas usando um medidor de condutividade Marconi ® modelo MA-521. Os resultados foram expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ (VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999).

3.6 Análise de imagens digitais

3.1.1 Captura das imagens

Durante o teste de germinação foram realizadas duas análises de imagens. Ao terceiro dia coletaram-se as imagens para a primeira análise e as plântulas foram devolvidas ao papel germitest a fim de que ao sétimo dia, fossem coletadas as imagens para a segunda análise. As imagens foram feitas com 25 plântulas, para cada repetição, uniformemente distribuídas sobre papel de coloração azul que foi colocado em caixa metálica para vedação da luz externa, contendo escâner para captura das imagens, em posição fixa. Foram feitas 10 repetições para cada um dos 12 sublotos.

3.1.2 Medições digitais

Após a obtenção das imagens estas foram analisadas no programa ImageJ para a obtenção das variáveis de comprimento do hipocótilo, comprimento de raiz, comprimento total e razão do comprimento do hipocótilo/comprimento do sistema radicular. Os resultados foram expressos em centímetros.

3.7 Delineamento experimental e análise estatística

Foi usado o delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 4 repetições de 50 sementes em esquema fatorial com três cultivares e quatro períodos de envelhecimento (3x4) totalizando 12 tratamentos. Os dados obtidos foram analisados no programa SISVAR versão 5.7 por meio de análise de variância (ANOVA), para o fator cultivar foi aplicado teste de tukey e para o fator quantitativo os resultados foram comparados por meio de análise de regressão linear com nível de 5% de significância.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da análise variância (Tabela 1) mostram que a interação entre as cultivares e os períodos de envelhecimento acelerado foi significativa para primeira contagem, índice de velocidade de germinação, germinação e índice de velocidade de emergência. A condutividade elétrica e a emergência não apresentaram diferença estatística para a combinação de tratamentos testados. Em relação as variáveis obtidas por meio das análises de imagens apenas a relação parte aérea/raiz apresentou interação significativa a 5%, as demais variáveis de comprimento de raiz, de parte aérea e total apresentaram interação com 1% de significância.

Tabela 1. Resultado da análise de variância das médias dos tratamentos aplicados as sementes de cultivares de alface Moana (MN), Palmas (PLM) e Grand Rapids TBR (GRPD). Para os testes de caracterização inicial: Teste de teor de água (TA); peso de mil sementes (PMS); teste de germinação (G); primeira contagem (PC); índice de velocidade de germinação (IVG); emergência (E); índice de velocidade de emergência (IVE) e condutividade elétrica (CE) para sementes das cultivares de alface Moana (MN), Palmas (PLM) e Grand Rapids TBR (GRPD). Para o teste de análise de imagens no ImageJ: Comprimento da raiz (CR); Comprimento da parte aérea (CPA); Comprimento total e Razão parte aérea/raiz. (I) = 3 dias (II) = 7 dias.

Envelhecimento acelerado							
FV	GL	QM					
		PC	IVG	G	E	IVE	CE
Cultivar	2	1088,35**	118,85**	1579,72**	1022,97**	187,02**	170,39**
Estresse	3	3902,58**	601,45**	5520,06**	2652,52**	433,49**	122,20**
Cult*Estres	6	179,17**	31,23**	376,12**	258,13 ^{ns}	45,10*	17,29 ^{ns}
Erro	36	10,41	0,59	82,06	125,24	15,9	15,92
CV		15,75	9,6	8	66,9	68,48	4,32

Análise de imagens								
FV	GL							
		(I) CR	(I) CPA	(I) CT	(II) CR	(II) CPA	(II) CT	(II) PA/R
Cultivar	2	1,3**	0,78**	4,09**	2,20**	2,36**	9,11**	1,39
Estresse	3	0,28**	0,48**	1,48**	1,87**	2,90**	9,39**	0,58
Cult*Estres	6	0,013*	0,05**	0,10**	0,12**	0,52**	1,04**	2,06*

Erro	6	0,005	0,004	0,015	0,013	0,006	0,03	0,5
CV		20,86	17,71	18,43	20,99	10,48	13,43	44,66

Significativo a (*) 5% ou (**) 1% pelo Teste F. ns=não significativo.

O teor de água inicial das sementes das três cultivares variou de 3,63% para a cv. Palmas à 7,5% para a cv. Grand Rapids (Tabela 2), tais valores mostram-se dentro do esperado para sementes de hortaliças cujas embalagens comerciais são impermeáveis mantendo menor umidade (LIMA et al., 2020). Após a aplicação do teste de envelhecimento acelerado (EA) houve acentuada variação nos teores de água em todos os períodos testados. Apesar de a cv. Grand Rapids, ter apresentado maior umidade inicial, observou-se menor acréscimo de água ao fim dos períodos de 24, 48 e 72 h, quando comparada com as demais, sendo seguida pelas cv. Moana e Palmas em ordem crescente de teor de água ao fim do EA. Conforme Brandão et al. (2019), sementes pequenas, como as de alface, tendem a absorver água de maneira desuniforme, o que também foi constatado através desta pesquisa.

Tabela 2. Resultados antes e após teste de envelhecimento acelerado do teste de teor de água (TA); peso de mil sementes (PMS); germinação (G); primeira contagem (PC); índice de velocidade de germinação (IVG); emergência (E); índice de velocidade de emergência (IVE) e massa seca (MS) para sementes das cultivares de alface Moana (MN), Palmas (PLM) e Grand Rapids TBR (GRPD).

Cultivar	Período (h)	TA	PMS	G (%)	PC	IVG	E (%)	IVE	CE ($\mu\text{S.cm}^{-1}$)
Moana	0	3,959	0,082	98a	86a	15,22a	90	20,16	88,1
	24	17,412	***	95	59	15,82	78	13,68	90
	48	23,367	***	91	73	13,54	25	3,05	95,7
	72	21,563	***	95	82	14,52	57	10,08	86,2
Palmas	0	3,630	0,102	90b	76b	13,37b	48	7,91	94,6
	24	24,960	***	45	17	4,31	18	2,83	92,8
	48	28,508	***	27	37	6,78	16	4,34	91,1
	72	24,685	***	13	9	1,57	1	0,25	89,3
Grand Rapids TBR	0	7,455	0,114	74c	44c	9,32c	41	6,16	91,35
	24	14,974	***	5	3	0,59	5	0,79	96
	48	18,016	***	7	5	0,74	5	0,6	101,88
	72	18,877	***	4	3	0,5	1	0,093	92,57

Fonte: elaborado pela autora.

Amorim et al (2021) afirmam que sementes de *Erythrina* spp. com menor teor de água inicial apresentaram menor perda de vigor após o EA. Geralmente o alto vigor de sementes está relacionado com maior integridade física em seus tecidos, o que faz com que a absorção de água durante o EA seja menor. Em contraste com este fato observou-se nos demais testes que a cv. Grand Rapids foi mais intensamente afetada e apresentou grande perda de vigor. De acordo com os resultados do peso de mil sementes, a cv. Moana apresentou as sementes mais leves e cv. Grand Rapids sementes maiores.

Em relação ao resultado do teste de germinação observa-se uma heterogeneidade no comportamento das cultivares, sendo a cv. Moana mais resistente a perda de vigor, pois manteve sua germinação final acima de 90% mesmo após 72 h de estresse térmico (Tabela 1). Porém as demais cultivares apresentaram forte diminuição na formação de plântulas normais ao fim do teste de germinação. Adentunji et al. (2020) ao estudarem a deterioração em sementes de alface, realizaram o teste de deterioração controlada (85% de umidade relativa a 35°C), e observaram uma resistência inicial a perda de vigor de até nove dias e perda total da viabilidade aos 19 dias. Dessa forma, observa-se que o fator genético pode ter grande impacto no vigor apresentado pelas sementes.

Apesar de a cv. Palmas ter apresentado inicialmente germinação elevada, houve queda de 50% após 24 h de envelhecimento acelerado, menor período de estresse testado, o que caracteriza uma grande redução no vigor das sementes. Observou-se ainda que a cultivar Grand Rapids apresentou nível de germinação menor que 80%, que é o mínimo exigido por lei mesmo antes de ser submetida ao teste de EA. Assim sendo, pode ter ocorrido termodormência nessas cultivares, que é induzida pela temperatura elevada. Além disso, Marcos Filho (1987) afirma que teores de água iniciais maiores tendem a proporcionar maior deterioração das sementes durante o envelhecimento acelerado.

Ao analisar-se os resultados do teste de primeira contagem verificou-se que o EA diminuiu a velocidade de formação das plântulas normais em todas as cultivares estudadas, porém em diferentes intensidades. Para que haja a protrusão da radícula em sementes de alface, é necessária a ação enzimática enfraquecendo o endosperma (NASCIMENTO e CANTILIFFE, 2002). Catão et al (2014), estudando a germinação da cv. Grand Rapids observaram, na temperatura de 35°C, forte redução na atividade da enzima endo- β -mananase, principal responsável pelo enfraquecimento do endosperma na semente de alface. Dessa forma, a germinação pode ser atrasada e até mesmo impedida, pois inibe a protrusão da radícula, o que caracteriza termoinibição.

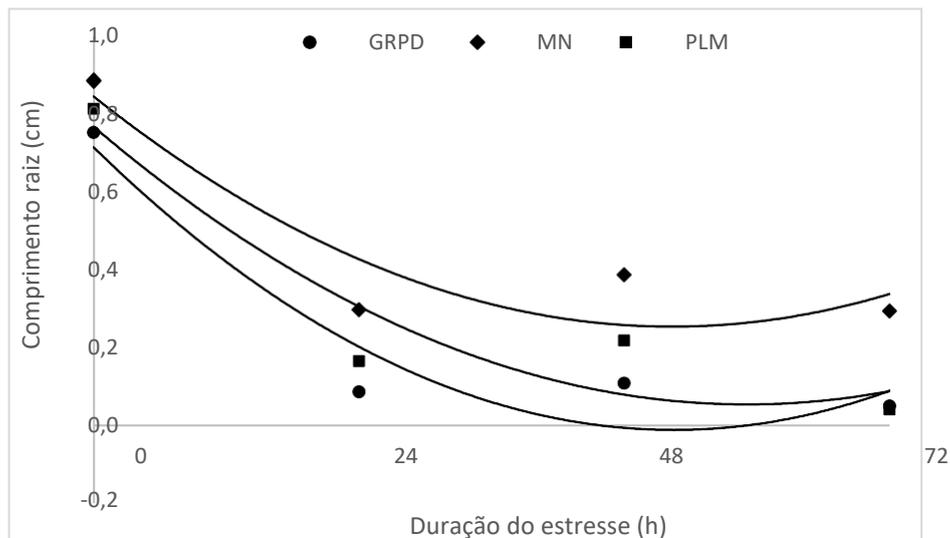
Quanto aos resultados observados para o índice de velocidade de germinação, a cv. Moana teve a menor redução de seu IVG comparada às demais. Semelhante aos resultados observados no teste de emergência e Índice de Velocidade de Emergência, as três cultivares apresentaram o mesmo padrão comportamental sendo a cv. Moana a menos afetada, a Grand Rapids a mais afetada, e a Palmas intermediária, conforme pode ser observado na Tabela 1.

Referente ao teste de condutividade elétrica (tabela 2), após 24 h de imersão em água destilada, não foram observadas grandes variações entre os tratamentos. Para a cv. Moana houve um pequeno incremento nos períodos de 24 e 48 h, isso caracteriza um extravasamento de lixiviados por parte das sementes devido a perda de organização de suas membranas celulares, em relação ao controle. Após 72 h, houve uma pequena redução da CE, o que sugere reabsorção de eletrólitos (CONDE et. al, 2021). Já para a cv Palmas observou-se pequena redução da CE conforme aumentou-se o período de exposição ao EA, dessa forma avalia-se que a diminuição da permeabilidade seletiva das membranas, consequência da deterioração em sementes, pode ter implicado em maior reabsorção de eletrólitos e consequente diminuição da CE. Essas alterações bioquímicas são um indício precoce da perda de vigor pelas sementes, antes mesmo de concluído o processo de germinação.

Na avaliação das imagens ao terceiro dia, os comprimentos das raízes antes do envelhecimento acelerado foram de aproximadamente 0,8 cm para as três cultivares. Após 24 h em diante, o EA provocou redução no crescimento das raízes proporcional à intensidade do estresse nos períodos de 24 e 72 h (Gráfico 1). Para as três cultivares o comportamento foi semelhante. Não foi possível observar diferenciação do efeito do estresse térmico no vigor das sementes entre as cultivares através deste parâmetro, como foi nos testes de caracterização inicial.

De acordo com este fato sugere-se que, para a análise de imagens da alface, o crescimento das raízes não é mais adequado para avaliar os efeitos do estresse térmico. Semelhantemente, Medeiros et al. (2019) avaliaram o vigor de sementes de milho por meio de um sistema de análise de imagens (SAPL), e não observaram correlação entre o comprimento das raízes e os resultados dos testes tradicionais.

Gráfico 1. Resultado da medição semiautomatizada do comprimento de raiz das plântulas de alface ao terceiro dia do teste de germinação das cultivares de alface Moana (MN), Palmas (PLM) e Grand Rapids TBR (GRPD).



Fonte: elaborado pela autora.

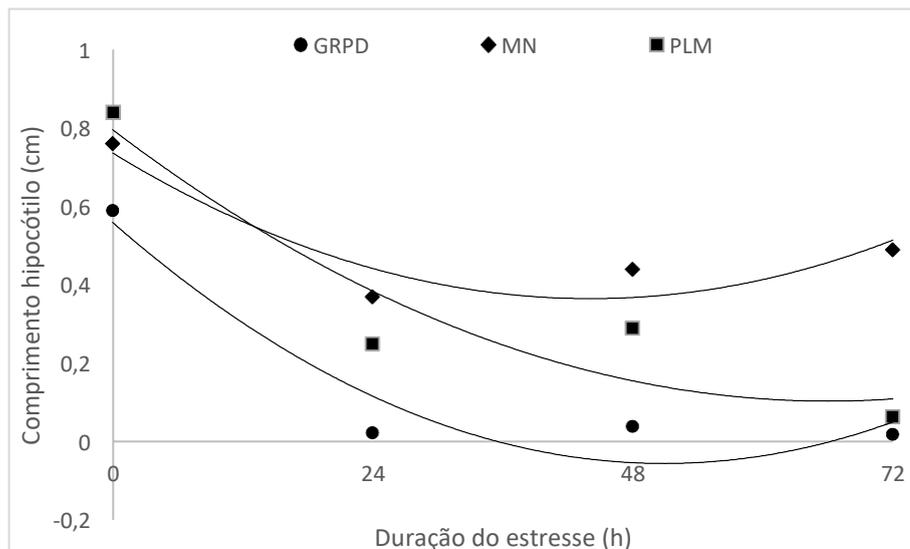
GRPD = $0,0003x^2 - 0,0276x + 0,7128$. $R^2 = 0,9129$; MN = $0,0002x^2 - 0,0241x + 0,7658$. $R^2 = 0,8785$

PLM = $0,0002x^2 - 0,0225x + 0,8431$. $R^2 = 0,8467$. Significativo a 5% pelo teste F.

Os resultados da medição digital do comprimento de hipocótilo mostram que a cv. Moana foi a menos afetada nos períodos testados (Gráfico 2). Sendo que o pior desempenho foi da cv. Grand Rapids que logo após 24 h apresentou crescimento próximo de zero. Já a cv. Palmas apresentou redução moderada nos períodos de 24 e 48 h e forte redução do crescimento do hipocótilo após 72 h de envelhecimento acelerado. Os efeitos da exposição a temperaturas elevadas dependem de sua duração e intensidade e em último caso ocorre o estresse oxidativo que resulta em redução do crescimento da plântula e até mesmo inibição da germinação (Li et al, 2018).

Tais resultados corroboram com o que foi observado nos testes de germinação e emergência. Portanto, a avaliação do crescimento de hipocótilo por imagens aos três dias mostrou resultados satisfatórios para classificação das cultivares quanto à tolerância a alta temperatura. Sendo assim a cv. Moana foi avaliada com desempenho superior e a cv. Grand Rapids como inferior. Destaca-se a sensibilidade e acurácia deste parâmetro com apenas três dias após o início do teste de germinação.

Gráfico 2. Resultado da medição semiautomatizada do comprimento de parte aérea/hipocótilo das plântulas de alface ao terceiro dia do teste de germinação das cultivares de alface Moana (MN), Palmas (PLM) e Grand Rapids TBR (GRPD).



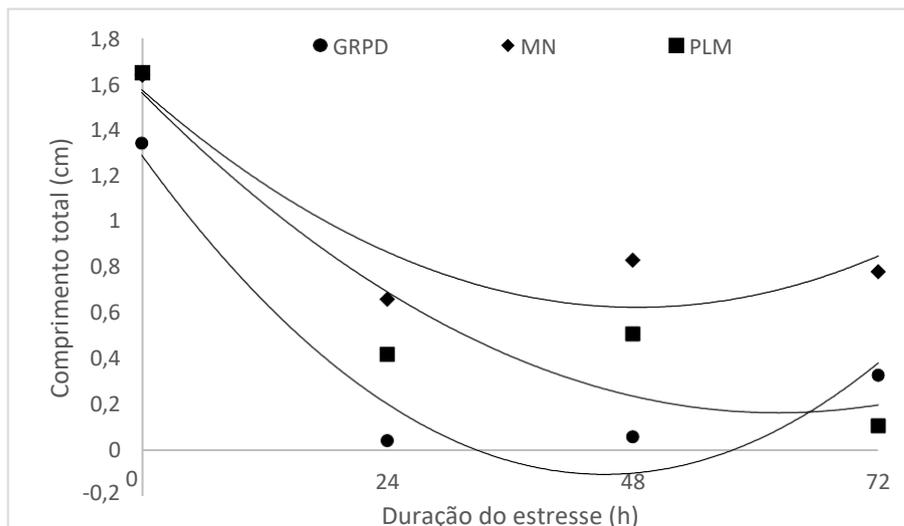
Fonte: elaborado pela autora.

GRPD = $0,0002x^2 - 0,0241x + 0,5591$. $R^2 = 0,9297$; MN = $0,0002x^2 - 0,0168x + 0,736$. $R^2 = 0,8565$;

PLM = $0,0002x^2 - 0,0209x + 0,7953$. $R^2 = 0,8821$. Significativo a 5% pelo teste F.

Analisando o comprimento total das plântulas ao terceiro dia observa-se que após 24 horas de EA houve redução do crescimento em todas as cultivares (Gráfico 3). Para a cv. Moana houve uma queda no comprimento de 1,64 cm com 0 h para 0,78 cm após 72 horas de EA. A cv. Grand Rapids, a mais acentuadamente afetada, apresentou diminuição de 1,34 cm com 0 h para 0,45 cm com apenas 24 h após o EA. Barros et al. (2021) demonstraram que sementes de girassol com menor potencial fisiológico são mais suscetíveis aos efeitos deletérios causados pelo estresse térmico. Nesta pesquisa a cv. Grand Rapids, que apresentou pior vigor inicial apresentou também maior redução do crescimento total a partir das 24 h após o EA.

Gráfico 3. Resultado da medição semiautomatizada do comprimento total de plântulas de alface ao terceiro dia do teste de germinação das cultivares de alface Moana (MN), Palmas (PLM) e Grand Rapids TBR (GRPD).



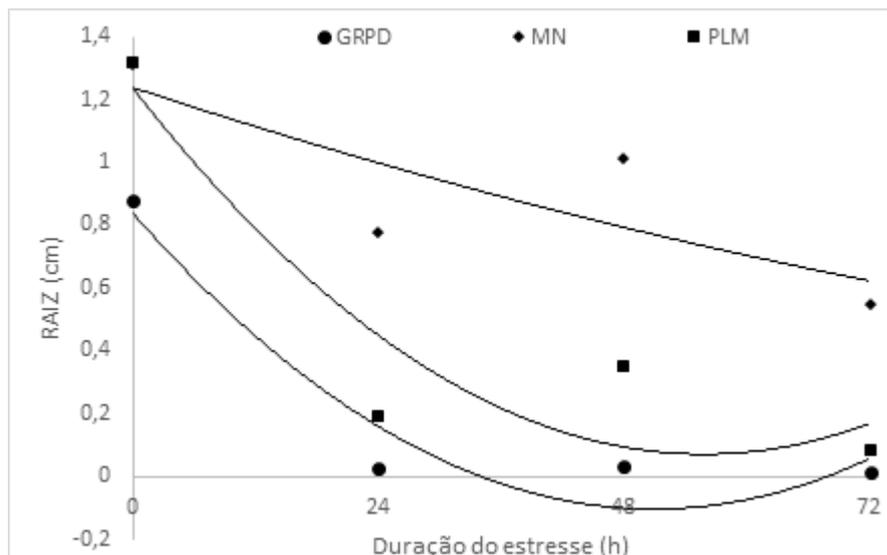
Fonte: elaborado pela autora.

GRPD = $0,0007x^2 - 0,0614x + 1,287$. $R^2 = 0,9498$; MN = $0,0004x^2 - 0,0391x + 1,5715$; PLM = $0,0004x^2 - 0,0448x + 1,5595$. $R^2 = 0,8797$. Significativo a 5% pelo teste F.

Na segunda análise de imagens, ao sétimo dia, os resultados foram semelhantes àqueles obtidos na primeira análise sendo obtida a seguinte ordem crescente de vigor, cv. Grand Rapids, cv. Palmas e cv. Moana. Mesmo com a redução intensa no comprimento das plântulas a precisão da ferramenta utilizada para as medições permitiu resultados seguros e coerentes. Os comprimentos do hipocótilo, total da plântula e razão parte/aérea raiz classificaram as cultivares de acordo com os testes de vigor tradicionais.

Os resultados para comprimento de raízes mostram ainda que após 48 horas as cvs. Moana e Palmas apresentaram um aumento sutil no comprimento das raízes em relação ao período de 24 h (Gráfico 4). Leal et al (2020) observaram que os comprimentos de raízes de *Combretum leprosum* Mart foram maiores, quando as sementes germinaram sob estresse hídrico leve (-0,2 e -0,1 MPa) do que no tratamento controle. Assim, foram identificadas respostas diferenciadas ao estresse térmico para cada cultivar pela avaliação do comprimento das plântulas.

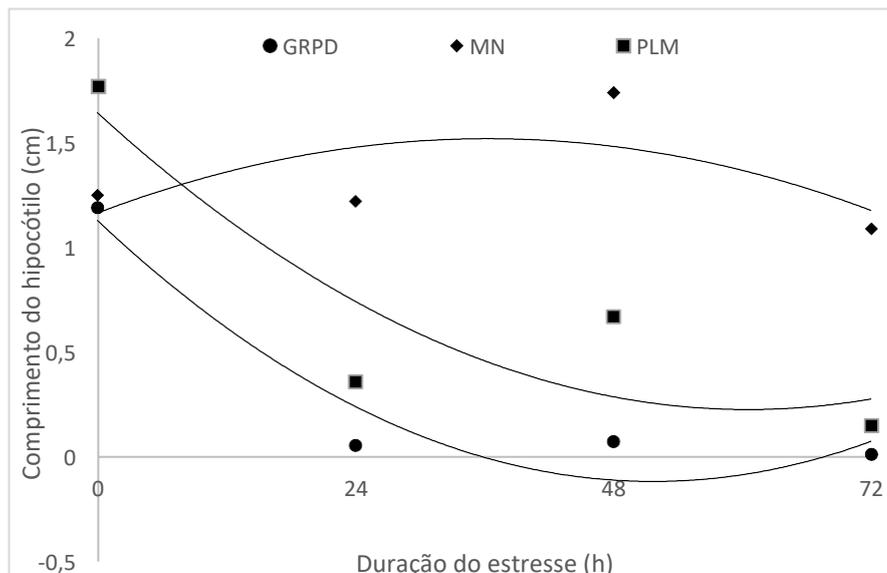
Gráfico 4. Resultado da medição semiautomatizada do comprimento de raiz de plântulas de alface ao sétimo dia do teste de germinação das cultivares de alface Moana (MN), Palmas (PLM) e Grand Rapids TBR (GRPD).



GRPD = $0,0004x^2 - 0,037x + 0,8357$. $R^2 = 0,9288$; MN = $0,00003x^2 - 0,0105x + 1,2339$. $R^2 = 0,6638$;
 PLM = $0,0008x^2 - 0,0888x + 2,878$. $R^2 = 0,8191$. Significativo a 5% pelo teste F.

De acordo com o resultado da avaliação da parte aérea a cv. Grand rapids foi menos tolerante ao estresse e após 24 h não demonstrou crescimento significativo (Gráfico 5). Para a cv. Palmas identificou-se que este limiar foi atingido após 72 h. Apesar de a cv. Moana haver apresentado redução no crescimento da parte aérea em todos os períodos, essa diferença foi mais sutil e a menor média observada foi de 1,09 cm no período de 72 horas. Os resultados dos testes de vigor iniciais mostram que a cv. Palmas apesar de ter apresentado germinação de 90%, não manteve seu bom resultado após a aplicação do teste de EA. Além disso, os resultados das medições do comprimento da parte aérea com o ImageJ quantificam com segurança o impacto do EA no vigor das sementes de alface.

Gráfico 5. Resultado da medição semiautomatizada do comprimento de parte aérea de plântulas de alface ao sétimo dia do teste de germinação das cultivares de alface Moana (MN), Palmas (PLM) e Grand Rapids TBR (GRPD).

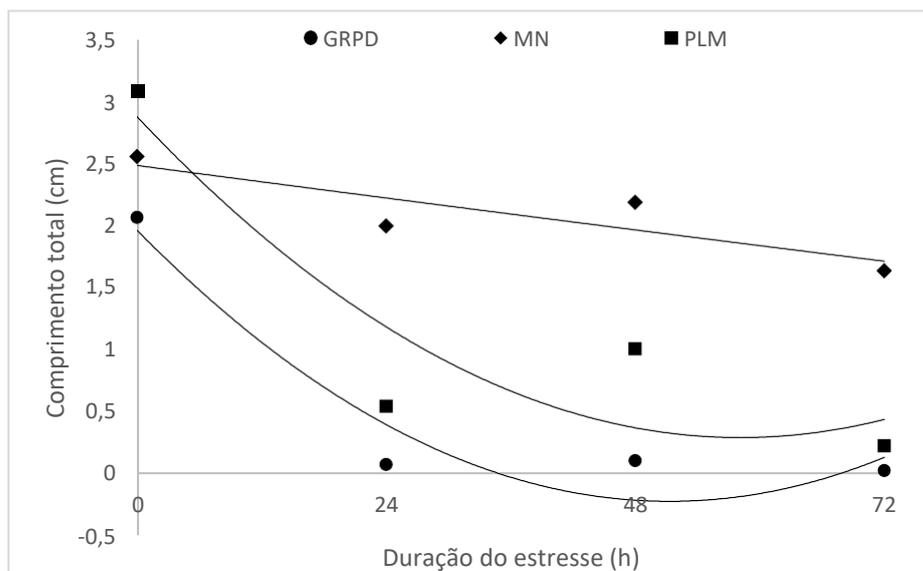


Fonte: elaborado pela autora

GRPD = $0,0005x^2 - 0,0482x + 1,1284$. $R^2 = 0,9224$; MN = $0,0003x^2 + 0,0195x + 1,164$. $R^2 = 0,394$;
 PLM = $0,0004x^2 - 0,0468x + 1,6425$. $R^2 = 0,7914$. Significativo a 5% pelo teste F.

Em concordância com o comprimento da parte aérea o comprimento total das plântulas evidenciou que a cv. Moana teve maior vigor pois, alcançou uma média de 3,09 cm de comprimento no período 0 h com redução de 0,56 e 0,29 cm nos períodos de 24 h e 48 h, respectivamente. As cvs. Palmas e Grand Rapids apresentaram com 0 h médias de 2,56 e 2,07 cm, após 72 horas as médias foram próximas a 0 cm. Constatou-se que as medições por meio de imagens tiveram resultados coerentes com aqueles obtidos nos testes fisiológicos iniciais permitindo adequada quantificação das diferenças de vigor apresentadas pelas cultivares testadas.

Gráfico 6. Resultado da medição semiautomatizada do comprimento total de plântulas de alface ao sétimo dia do teste de germinação das cultivares de alface Moana (MN), Palmas (PLM) e Grand Rapids TBR (GRPD).



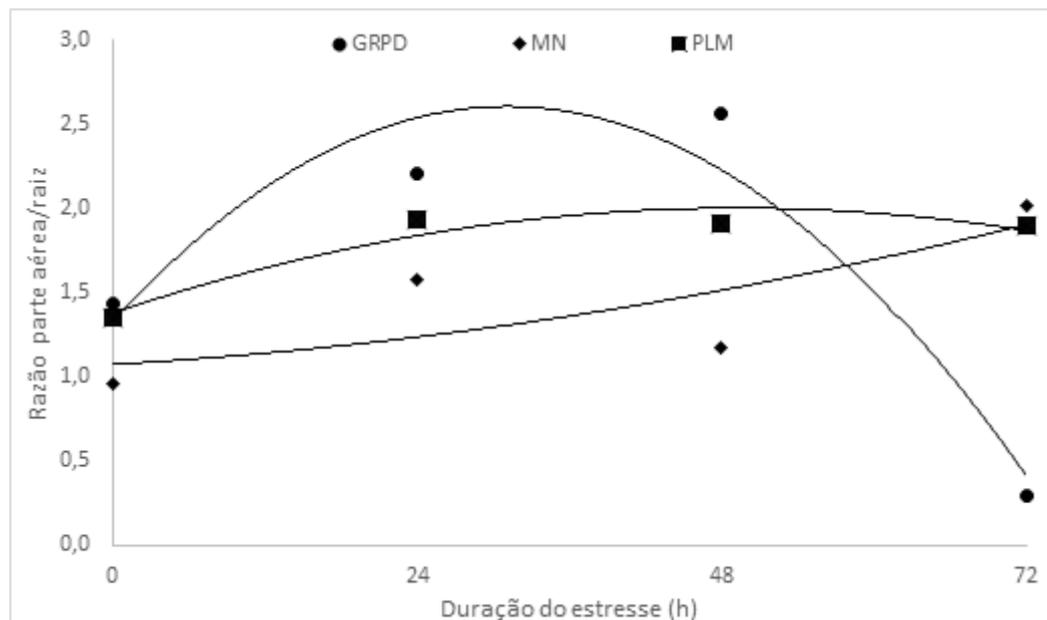
Fonte: elaborado pela autora.

GRPD = $0,0008x^2 - 0,0851x + 1,9635$. $R^2 = 0,9250$; MN = $4E-06x^2 - 0,011x + 2,4855$. $R^2 = 0,7528$;

PLM = $0,0008x^2 - 0,0888x + 2,878$. $R^2 = 0,8169$. Significativo a 5% pelo teste F.

Os resultados observados por meio do índice parte aérea/raiz permitiram boa diferenciação gráfica das alterações provocadas pela alta temperatura imposta às sementes. A cv. Palmas apresentou menor variação no índice com valores de aproximadamente 1,5 em todos os períodos avaliados. Já a cv. Moana apresentou aumento na relação saindo de 0,96 no tratamento 0 horas e atingindo 2,02 após 72 horas de envelhecimento acelerado. Temperaturas elevadas podem estimular o alongamento do hipocótilo durante o desenvolvimento inicial das plântulas (Li et al, 2018). Sendo assim o índice parte aérea/raiz mostrou-se eficiente na mensuração dos impactos causados pelo estresse térmico no desenvolvimento inicial das plântulas de alface.

Gráfico 7. Resultado da medição semiautomatizada da razão parte aérea/raiz de plântulas de alface ao terceiro dia do teste de germinação das cultivares de alface Moana (MN), Palmas (PLM) e Grand Rapids TBR (GRPD).



Fonte: elaborado pela autora

GRPD = $0,0013x^2 + 0,0819x + 1,3305$. $R^2 = 0,9202$; MN = $0,0003x^2 + 0,0252x + 1,3805$. $R^2 = 0,9220$; PLM = $1E-04x^2 + 0,0044x + 1,0745$. $R^2 = 0,6022$. Significativo a 5% pelo teste F.

Devido à redução do comprimento das plântulas de alface, que já são naturalmente mais delicadas, as medições manuais tornam-se mais onerosas, especialmente nos quesitos tempo e mão de obra. Assim sendo a análise de imagens com o ImageJ acelerou as avaliações, proporcionando maior exatidão devido suas ferramentas. Além disso, foram obtidos resultados precoces, sem prejudicar o desenvolvimento posterior das plântulas, possibilitando a realização de mais de uma análise por imagens. Dessa forma, sua versatilidade e praticidade aliadas com o teste de envelhecimento acelerado resultam em informações rápidas e completas sobre o vigor de sementes e tolerância a temperaturas elevadas.

5 CONCLUSÕES

A medição dos comprimentos de parte aérea e total das plântulas de alface no ImageJ aos três e sete dias foi eficiente para avaliação do vigor e da resistência ao estresse térmico.

O envelhecimento acelerado em conjunto com a análise de imagens permite a caracterização assertiva e precoce da tolerância ao estresse térmico das cultivares de alface.

REFERÊNCIAS

- ABUD, H. F.; CICERO, S. M.; GOMES JUNIOR, F. G. Computerized image analysis of seedlings to evaluate broccoli seed vigor. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 39, n. 3, p. 303-310, Set. 2017.
- ADETUNJI, A.E.; S.; VARGHESE, B.; PAMMENTER, N.W. Exogenous Antioxidants Enhance Seedling Growth and Yield of Artificially Aged Cabbage and Lettuce Seeds. *Horticulturae*, [s.l.], 7, 274, 2021.
- ALFACE mais crocante e resistente é desenvolvida pela UFSCar de Araras. **Portal G1**, 2013. Disponível em: <http://g1.globo.com/sp/sao-carlos-regiao/noticia/2013/05/alface-mais-crocante-e-resistente-e-desenvolvida-pela-ufscar-de-araras.html>. Acesso em: 5 dez. 2020.
- AMORIM, I. P.; SOUZA, J. G.; BARBEDO, C. J. Análise comparativa das taxas de deterioração de sementes ortodoxas de *Erythrina speciosa* e recalcitrantes de *Eugenia* spp. **Iheringia, Série Botânica**, Porto Alegre, v. 76, 2021.
- ARGYRIS, J.; DAHAL, P.; HAYASHI, E.; STILL, D.W.; BRADFORD, K.J. Genetic variation for lettuce seed thermoinhibition is associated with temperature-sensitive expression of abscisic acid, gibberellin, and ethylene biosynthesis, metabolism, and response genes. **Plant Physiol**, [s.l.], v. 148, p. 926–947, 2008.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO COMÉRCIO DE SEMENTES E MUDAS (ABCSEM). Projeto para o levantamento dos dados socioeconômicos da cadeia produtiva de hortaliças no Brasil, 2012.
- BARROS, T. T. V., PINHEIRO, D. T., GAMA, G. F. V., dos SANTOS DIAS, D. C. F., & da SILVA, L. J. Osmopriming, antioxidative action, and thermal stress in sunflower seeds with different vigor levels. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 42, n. 3, Sup 11, p. 1435-1452, 2021.
- BERNARDINO, D. L. M. P., SOUZA D., A. M. S., FIGUEIREDO, J. C., Souza C., L. V., da SILVA, C. D., & RIBEIRO, R. C. F. (2018). Efeitos de rizobactérias e substratos na qualidade fisiológica de sementes de alface. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 41, n. 2, p. 316-326, 2018.
- BORGES, S. R. D. S., SILVA, P. P. D., ARAÚJO, F. S., SOUZA, F. F. D. J., & NASCIMENTO, W. M. Tomato seed image analysis during the maturation. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 41, p. 022-031, 2019.
- BRANDÃO, A. A., & LOPES, H. M. Envelhecimento acelerado de sementes de alface produzidas no manejo orgânico em cultivo protegido e a céu aberto. **Revista Agrogeoambiental**, [s.l.], v. 10, n. 4, 2019.
- CASTAN, D.O.C.; GOMES-JUNIOR, F.G.; MARCOS-FILHO, J. Vigor-S, a new system for evaluating the physiological potential of maize seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.75, n.2, p.167-172, 2018.

CATÃO, H. C. R. M., GOMES, L. A. A., SANTOS, H. O. D., GUIMARÃES, R. M., FONSECA, P. H. F., & CAIXETA, F. Aspectos fisiológicos e bioquímicos da germinação de sementes de alface em diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 49, p. 316-322, 2014.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Boletim Hortigranjeiro - v.1, n.1** (2020). - Brasília: Conab, 2020.

CONDE, T. T., CUNHA CODOGNOTO, L., FARIA, G. A., & MALTONI, K. L. Resposta fisiológica de sementes de alface imersas em águas destilada e piscicultura. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 4, p. 37490-37499, 2021.

CORTE, V. B., BORGES, E. E. D. L., LEITE, H. G., PEREIRA, B. L. C., & GONÇALVES, J. F. D. C. Estudo enzimático da deterioração de sementes de *Melanoxylon brauna* submetidas ao envelhecimento natural e acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, p. 83-91, 2010.

DIVERSIFICAÇÃO, a opção inteligente da hidroponia. **Revista Hidroponia**, 2018. Disponível em <<http://www.revistahidroponia.com.br/noticias/29221/Diversificacao,-a-opcao-inteligente-da-Hidroponia>> Acesso em 5 de nov. de 2020.

EBONE, L. A.; CAVERZAN, A.; CHAVARRIA, G. Physiologic alterations in orthodox seeds due to deterioration processes. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 145, p. 34-42, 2019.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna produção e comercialização de hortaliças**. 3.ed. Viçosa, MG: UFV, 421p. 2008.

FRANDOLOSO, D. C. L., RODRIGUES, D. B., ROSA, T. D. A., SILVA ALMEIDA, A., SOARES, V. N., BRUNES, A. P., TUNES, L. V. M. (2017). **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 40, n. 4, p. 10-19, set. 2017.

GOMES-JUNIOR, F. G.; ARRUDA, N.; MARCOS-FILHO, Ju. Swingle citrumelo seed vigor and storability associated with fruit maturity classes based on RGB parameters. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 74, n. 5, p. 357-363, 2017.

GONÇALVES, I. C., SILVA, L. R. Alface. **Hortifruti Brasil, ed. especial: Hortaliças gestão sustentável**, ano 17, n. 179, 2018.

GONÇALVES, N. R.; CICERO, S. M.; ABUD, H. F. Seedling image analysis and traditional tests to evaluate onion seed vigor. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 39, p. 216- 223, 2017.

HUSSAIN, S. T. Role of Crop Management in Mitigation of Heat Stress in different Agro-climate Regions. **Application of new technologies in agriculture to avoid environmental contamination**, [s.l.], p. 59. Set. 2021.

HUSSAIN, S., KHAN, F., HUSSAIN, H. A., & NIE, L. Physiological and biochemical mechanisms of seed priming-induced chilling tolerance in rice cultivars. **Frontiers in plant science**, [s.l.], v. 7, p. 116, 2016.

- JAVORSKI, M. Castan, D. O. C, Silva, S. S., Guilhien Gomes-Junior, Francisco, Cicero, S. M. Image analysis to evaluate the physiological potential and morphology of pearl millet seeds. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 40, n. 2, p. 127-134, 2018.
- JIANG, F. L., BO, L. P., XU, J. J., & WU, Z. Changes in respiration and structure of non-heading Chinese cabbage seeds during gradual artificial aging. **Scientia Horticulturae**, [s.l.], v. 238, p. 14-22, 2018.
- JIANHUA Z; McDONALD M.B. The saturated salt accelerated aging for small-seeded crops. **Seed Science and Technology (Switzerland)**. v.25, n.1, p 123-131, 1997.
- LEAL, C. C. P., TORRES, S. B., DANTAS, N. B. D. L., AQUINO, G. S. M., & ALVES, T. R. C. Water stress on germination and vigor of ‘mofumbo’(Combretum leprosum Mart.) seeds at different temperatures. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 51, 2020.
- LI, B., GAO, K., REN, H., & TANG, W. Molecular mechanisms governing plant responses to high temperatures. **Journal of Integrative Plant Biology**, Pequim, v. 60, n. 9, p. 757-779, 2018.
- LIMA, C. B., BUENO, J. T., JÚNIOR, J. C. A., & SHINOZAKI, G. A. Ocorrência de microrganismos e sua relação com a qualidade fisiológica de sementes de alface. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 11, p. 90053-90067, 2020.
- KIKUTI, A.L.P.; MARCOS-FILHO, J. Testes de vigor em sementes de alface. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.30, p.44-50, 2012.
- MARCHI, J. L.; CICERO, S. M. Use of the software Seed Vigor Imaging System (SVIS®) for assessing vigor of carrot seeds. **Scientia Agricola**. Piracicaba, v. 74, n. 6, p. 469-473, 2017.
- MARCOS FILHO, J.; CICERO, S.M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 230p. 1987.
- MARCOS FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 72, n. 4, p. 363-374, 2015a.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: Abrates. 2015b.
- MAGUIRE J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling and vigour. **Crop Science**, [s.l.], v. 2, p. 176-177, 1962.
- MCDONALD JR, M. B. A review and evaluation of seed vigor tests. **Proceedings of the Association of Official Seed Analysts**. [s.l.], The Association of Official Seed Analysts, v.65, p. 109-139. 1975.

MEDEIROS, A. D., PEREIRA, M. D., SILVA, Í. R. F., CAPOBIANGO, N. P., & FLORES, M. E. P. Vigor de sementes de milho determinado por sistema livre de análise de imagens. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 50, p. 616-624, 2019.

MEDEIROS, A. D., SILVA, L. J., Pereira, M. D., Oliveira, A., & Dias, D. C. High-throughput phenotyping of brachiaria grass seeds using free access tool for analyzing X- ray images. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, 2020.

MESQUITA P., Romário; PANOZZO, Luís Eduardo. Beneficiamento de sementes de alface. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, [s.l.], v. 5, n. 2, 2018.

MONDO, V. H. V.; Gomes Junior, F. G.; Cicero, S. M.; Bennett, M. A.; McDonald, M. B. Priming protocols on *Lactuca sativa* seeds evaluated by image analysis. **Revista Agrarian**. Dourados, v.6, n.22, p.402-409, 2013.

NASCIMENTO, W. M.; CANTLIFFE, D.J. Germinação de sementes de alface sob altas temperaturas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 1, p.103- 106, 2002.

NASCIMENTO, W. M.; PEREIRA, R. S. Testes para avaliação do potencial fisiológico de sementes de alface e sua relação com a germinação sob temperaturas adversas. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 3, p. 175-179, 2007.

NORONHA, B. G., MEDEIROS, A. D. PEREIRA, M. D. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Moringa oleifera* Lam.. **Ciência Florestal [online]**, [s.l.], v. 28, n. 1, 2018.

OLIVEIRA, N. S. Variabilidade genética em alface para agricultura orgânica. Tese – **Universidade Federal de Lavras (UFLA)**, 49 p.: il. Lavras-MG, 2017.

OLIVEIRA, R. F.; JAKELAITIS, A. ALEXANDRE, E. C. F.; PEREIRA, L. S.; SILVA, M. N.; OLIVEIRA, D. E. C.; SOUSA, G. D.; & OLIVEIRA, G. S. "Utilização de modelos alométricos para estimar a área foliar de *talinum triangulare* e *talinum paniculatum*." **Revista Brasileira De Agropecuária Sustentável Web**, Viçosa, vol.9 (1), 2019.

PEREIRA, M.D.; REIS, J.A.; FERRARI, C.D.S.; VALE, A.M.P.G. Processamento digital de imagens de plântulas na avaliação do vigor de sementes de *Moringa oleifera* Lam. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v.30, n.2, p.291-306, 2020.

PEREIRA, M.F.S.; TORRES, S.B.; LINHARES, P.C.F. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico em sementes de coentro. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.36, n.2, p.595-606, 2015.

REGISTRO NACIONAL DE CULTIVARES. Disponível em: <http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php>. Acesso em: 5 out. 2020.

RITTER, J. Qualidade fisiológica de sementes de alface em diferentes temperaturas/ Janaine Ritter. Dissertação. 48 p. **Universidade Estadual de Ponta Grossa**. Ponta Grossa, 2018.

RODRIGUES, M. Vigor-S: sistema para avaliação automatizada do vigor de sementes de soja. Dissertação. 66 p. **USP- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**. Piracicaba, 2019.

SAKO, Y. et al. A system for automated seed vigour assessment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 29, n. 3, p. 625-636, 2001.

SANTOS, F. TRANI, P. E. MEDINA, P. F. PARISI, J. J. D. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação da qualidade de sementes de alface e almeirão. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, vol. 33, nº 2 p. 322 - 323, 2011.

SANTOS, R. F.; GOMES-JUNIOR, F. G.; MARCOS-FILHO, J. Morphological and physiological changes during maturation of okra seeds evaluated through image analysis. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 77, 2019.

SHARMA, S. N., MAHESHWARI, A., SHARMA, C., & SHUKLA, N. Gene expression patterns regulating the seed metabolism in relation to deterioration/ageing of primed mung bean (*Vigna radiata* L.) seeds. **Plant Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 124, p. 40-49, 2018.

SILVA, C. B.; BARBOSA, R. M.; VIEIRA, R. D. Accelerated aging as vigor test for sunn hemp seeds. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v. 47, n.1, 2017.

SILVA, V.; DOTTO, L. Análise de imagens para avaliação do crescimento de plântulas de arroz. **Agrarian Academy**, Goiânia, v. 4, n. 07, 2017.

SOUZA, Aline G.; SMIDERLE, OSCAR J.; BIANCHI, VALMOR J. Biometric characterization and morphophysiological quality of peach rootstock seeds using images of their seedling vigor. **Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture**, Sharjah, v. 9, n. 1, p. 65-73, 2018.

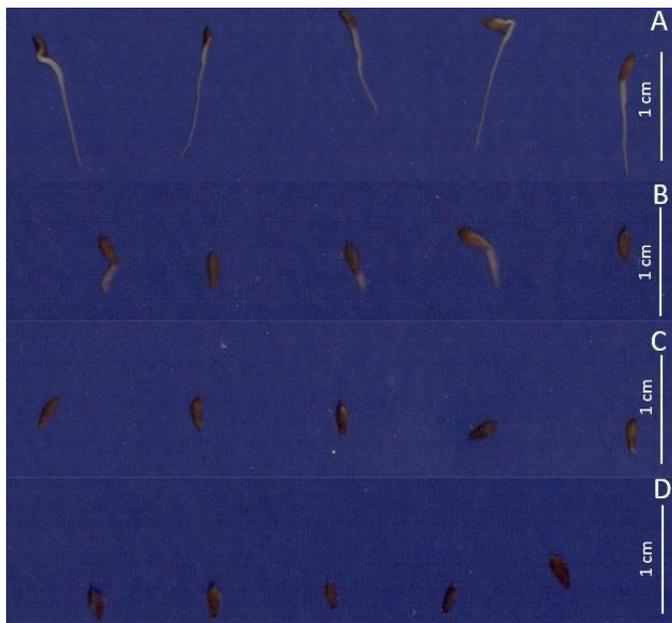
WANG, W.Q.; SONG, B.Y.; DENG, Z. J.; WANG, Y.; LIU, S.J.; MOLLER, I.M.; SONG, S.Q. Proteomic analysis of lettuce seed germination and thermoinhibition by sampling of individual seeds at germination and removal of storage proteins by polyethylene glycol fractionation. **Plant Physiology**, [s.l.], v.167, p.1332–1350, 2015.

WANG, W., HE, A., PENG, S., HUANG, J., CUI, K., & NIE, L. (2018). The effect of storage condition and duration on the deterioration of primed rice seeds. **Frontiers in plant science**, [s.l.], v. 9, p. 172, 2018.

WANG, L.; WATERS, M. T.; SMITH, S. M. Karrikin-KAI2 signalling provides Arabidopsis seeds with tolerance to abiotic stress and inhibits germination under conditions unfavourable to seedling establishment. **New Phytologist**, Lancaster, v. 219, n. 2, p. 605-618, 2018.

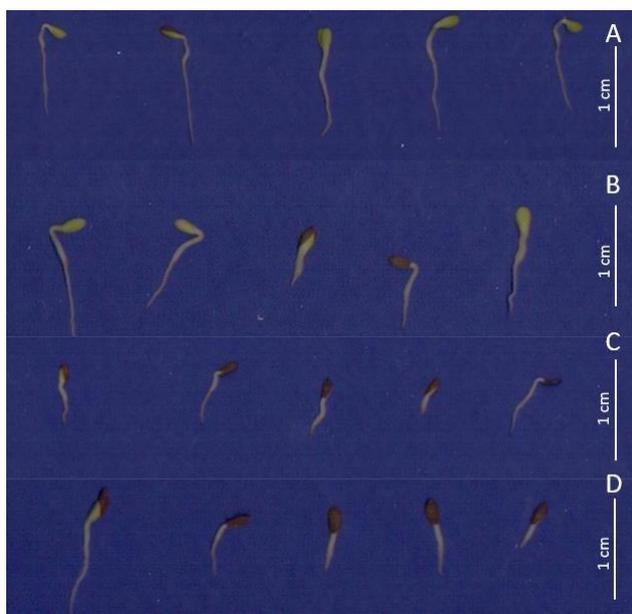
IMAGENS DAS PLÂNTULAS ANALISADAS

Figura 1. Primeira análise de imagens do crescimento de plântulas de alface ao terceiro dia do teste de germinação cultivar *Grand Rapids* TBR. A- 0 horas (controle) B- 24 horas; C- 48 horas; D- 72 horas.



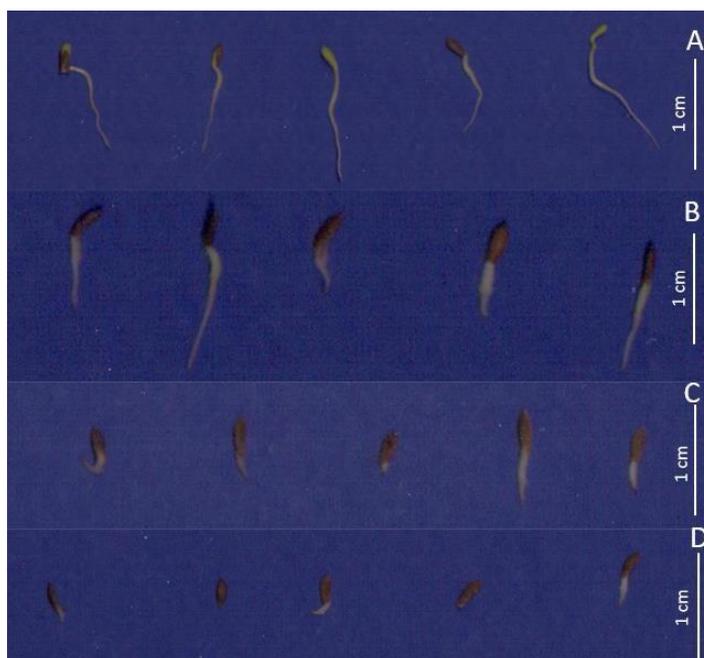
Fonte: elaborado pela autora

Figura 2. Primeira análise de imagens do crescimento de plântulas de alface ao terceiro dia do teste de germinação cultivar *Moana*. A- 0 horas (controle) B- 24 horas; C- 48 horas; D- 72 horas.



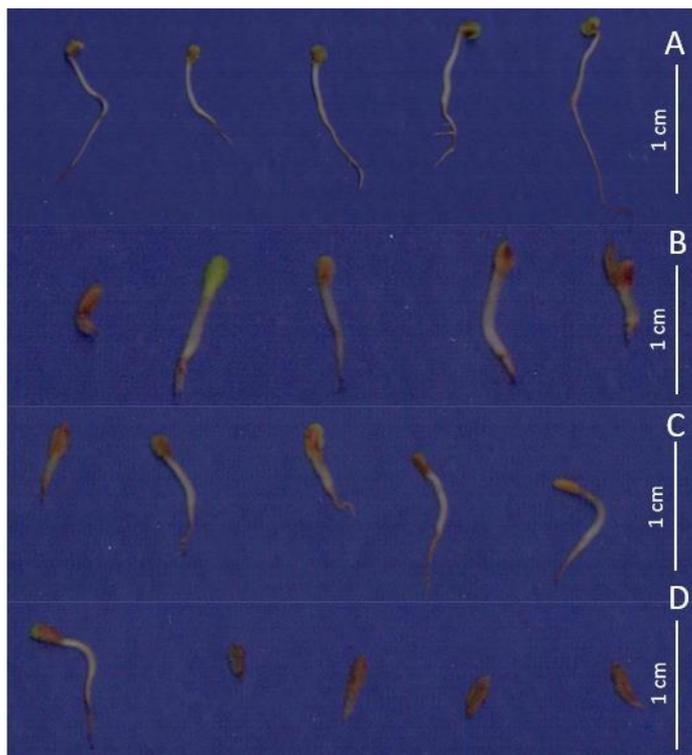
Fonte: elaborado pela autora.

Figura 3. Primeira análise de imagens do crescimento de plântulas de alface ao terceiro dia do teste de germinação cultivar Palmas A- 0 horas (controle) B- 24 horas; C- 48 horas; D- 72 horas.



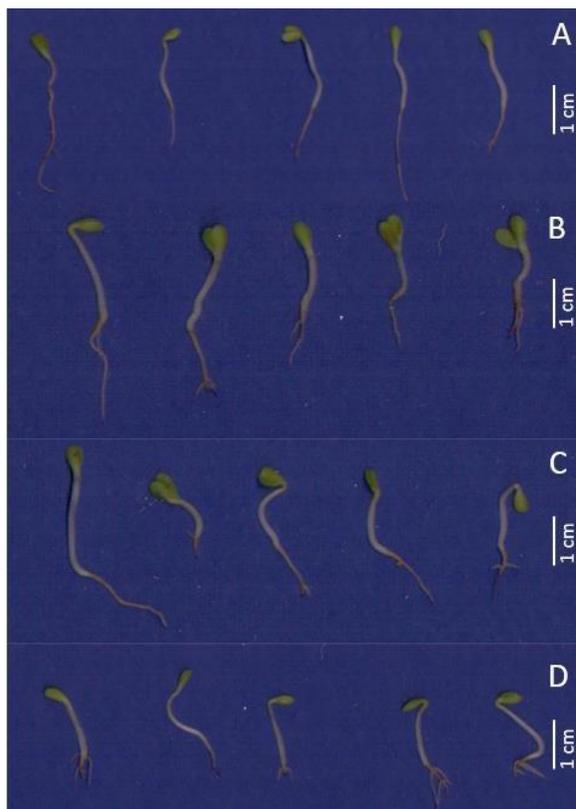
Fonte: elaborado pela autora.

Figura 4. Segunda análise de imagens do crescimento de plântulas de alface ao sétimo dia do teste de germinação cultivar Grand Rapids TBR. A- 0 horas (controle) B- 24 horas; C- 48 horas; D- 72 horas.



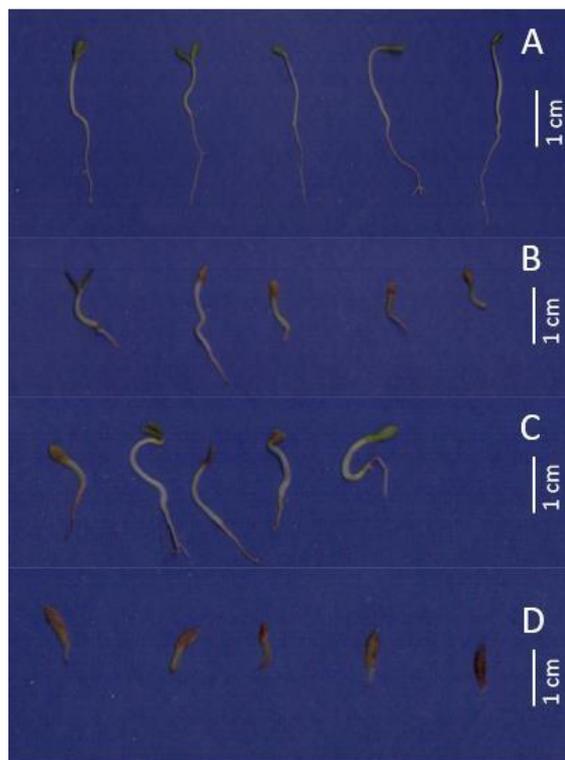
Fonte: elaborado pela autora.

Figura 5. Segunda análise de imagens do crescimento de plântulas de alfaca ao sétimo dia do teste de germinação cultivar Moana. A- 0 horas (controle) B- 24 horas; C- 48 horas; D- 72 horas.



Fonte: elaborado pela autora.

Figura 6. Segunda análise de imagens do crescimento de plântulas de alfaca ao sétimo dia do teste de germinação cultivar Palmas. A- 0 horas (controle) B- 24 horas; C- 48 horas; D- 72 horas.



Fonte: elaborado pela autora.