



CRISLAINE APARECIDA GOMES PINTO

**ANÁLISE DE IMAGENS NA AVALIAÇÃO DO
POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE
MILHO**

LAVRAS-MG

2014

CRISLAINE APARECIDA GOMES PINTO

**ANÁLISE DE IMAGENS NA AVALIAÇÃO DO POTENCIAL
FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE MILHO**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho

LAVRAS-MG

2014

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Pinto, Crislaine Aparecida Gomes.

Análise de imagens na avaliação do potencial fisiológico de
sementes de milho / Crislaine Aparecida Gomes Pinto. – Lavras :
UFLA, 2014.

52 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Maria Laene Moreira de Carvalho.

Bibliografia.

1. *Zea mays*. 2. *Zea mays* - vigor. 3. Sistema de Análise de
Sementes (SAS). I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 631.521

CRISLAINE APARECIDA GOMES PINTO

**ANÁLISE DE IMAGENS NA AVALIAÇÃO DO POTENCIAL
FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE MILHO**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 20 de Janeiro de 2014.

Dr. Renato Mendes Guimarães UFLA

Dr. Júlio Marcos Filho ESALQ/USP

Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho

Orientadora

LAVRAS-MG

2014

Aos meus pais, pelo apoio incondicional e por cuidarem com carinho do meu crescimento pessoal e profissional.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por permanecer sempre presente em minha vida, e a Nossa Senhora Aparecida, pela proteção;

Aos meus pais, João Cândido Pinto e Maria Francisca Gomes Pinto, pelo amor e apoio incondicional, as minhas irmãs Carmélia, pelos conselhos, Francielle, pelas confidências e Francine, pelo carinho, e os meus cunhados; Maurílio e Nilton, pelo apoio;

Ao meu namorado Frank Galdi Mossato, pelas palavras de conforto e companheirismo nos momentos difíceis;

À minha orientadora, Dra. Maria Laene Moreira de Carvalho, pela orientação, aprendizado, e acima de tudo, pela amizade;

À minha querida amiga e mãe, Giselle Brigante, pela preocupação e apoio desde o momento que nos conhecemos e as minhas amigas de mestrado; Dayliane, Natassia, Michelle e Izabel, pela amizade;

A todos os professores e funcionários do Laboratório de Sementes, pelos ensinamentos e apoio, em especial ao Walberte, pela grande amizade;

Aos estagiários do Laboratório de Sementes da UFLA, pela grande ajuda na execução do meu projeto, principalmente à Eva que sempre esteve disponível quando eu mais precisava;

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Agricultura, pela oportunidade de realizar o curso;

À secretária da pós-graduação do Departamento de Agricultura, Marli, por sempre fazer o possível e impossível para ajudar-me durante o curso;

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos;

A todos que contribuíram e torceram pela realização deste trabalho.

RESUMO

A análise de imagem de plântulas é uma técnica potencial para a avaliação do potencial fisiológica de sementes por ser rápida e apresentar resultados precisos e muitas vezes, não destrutivos. O Sistema de Análise de Sementes – SAS é um equipamento de análise de imagem de sementes e plântulas com potencial de utilização no controle de qualidade de sementes, como um teste de vigor. O objetivo com a pesquisa foi adequar uma metodologia de análise de imagens de plântulas de milho pelo SAS, bem como verificar a potencialidade de utilização desse equipamento na avaliação do potencial fisiológico de sementes de milho. Foram utilizados 9 lotes 2 híbridos de milho caracterizados pelos testes de primeira contagem de germinação, germinação, envelhecimento acelerado, teste de frio, emergência em temperatura controlada a 25 °C e 30 °C, e pelo índice de velocidade de emergência de plântulas. O experimento de análise de imagens foi realizado no esquema fatorial com 9 (9 lotes) X 4 métodos de análise de imagem de plântulas (com e sem o substrato TNT azul, e com e sem correção manual das imagens). As plântulas foram avaliadas pelo comprimento médio do coleóptilo, da raiz e das plântulas, e pelos índices de vigor automático e manual, uniformidade e crescimento, fornecido pelo equipamento SAS. O uso do TNT azul como contraste da imagem no teste de germinação interfere no desenvolvimento inicial das plântulas de milho. O vigor de sementes de milho pode ser avaliado em plântulas obtidas em semeadura em papel toalha branco, a temperatura de 25 °C com avaliação ao terceiro dia. A análise da imagem deve ser feita com a calibração automática pelo software SAS, sem necessidade de correção da imagem das plântulas. O SAS é um equipamento promissor para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de milho.

Palavras-chave: *Zea mays*. Vigor. SAS.

ABSTRACT

Image analysis of seedlings is a technique with potential for fast assessment of physiological seed quality, with accurate and often non-destructive results. The Seed Analysis System (SAS) is image analysis equipment for seeds and seedlings with potential use in quality control of seeds as a vigor test. The aim of this study was to define an optimal methodology for image analysis of corn seedlings using the SAS equipment and to verify potential use of the equipment in evaluation of the physiological potential of maize seeds. We used 9 lots of seeds from 2 maize hybrids characterized by the following tests: first germination count, germination, accelerated aging test, cold test, seedling emergence test at the controlled temperatures of 25°C and 30°C, and the seedling emergence speed index. The image analysis experiment was performed in a 9 x 4 factorial arrangement (9 lots x 4 methods of image analysis of seedlings -with and without the blue TNT substrate, and with and without manual image correction). The seedlings were evaluated by mean length of the coleoptile, root and the seedling itself, and by indexes of automatic and manual vigor, uniformity and growth, provided by the SAS equipment. The use of blue TNT as an image contrast in the germination test interferes in the initial development of maize seedlings. Maize seed vigor may be evaluated from seedlings obtained from sowing on a white paper towel at a temperature of 25°C on the third day. Image analysis should be performed with automatic calibration using SAS software, without the need for correction of seedling images. SAS is a promising piece of equipment for assessing the physiological potential of maize seeds.

Keywords: *Zea mays*. Vigor. SAS

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1- Tela de correção manual do SAS: (a) identificação automática da raiz e coleótilo e (b) correção manual do coleótilo, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014..... 28
- Gráfico 1- Resultado da calibração automática do SAS: (a) calibração do híbrido 1 e (b) calibração do híbrido 2, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 201434 36
- Tabela 1 – Valores dos pesos dos parâmetros fixados nas fórmulas do cálculo dos índices de Vigor, Crescimento e Uniformidade no software SVIS.. 30
- Tabela 2 - Resultados obtidos na avaliação do potencial fisiológico de sementes de milho de 9 lotes do híbrido 1 pelos testes de: 1ª Contagem de germinação (1ª C), Germinação (G), Envelhecimento Acelerado (EA), Teste de Frio (TF), Emergência a 25 °C (E25), Emergência a 30 °C (E30), Índice de Velocidade de Emergência a 25 °C (IVE 25) e Índice de Velocidade de Emergência a 30 °C (IVE 30), UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014..... 31
- Tabela 3- Resultados obtidos na avaliação do potencial fisiológico de sementes de milho de 9 lotes do híbrido 2 pelos testes de: 1ª Contagem de germinação (1ª C), Germinação (G), Envelhecimento Acelerado (EA), Teste de Frio (TF), Emergência a 25 °C (E25), Emergência a 30 °C (E30), Índice de Velocidade de Emergência a 25 °C (IVE 25) e Índice de Velocidade de Emergência a 30 °C (IVE 30), UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014..... 33
- Tabela 4 – Pesos dos parâmetros da fórmula de vigor gerados pela calibração automática do SAS, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014. 35
- Tabela 5 – Comprimento médio da raiz de plântulas de milho (cm) de 9 lotes do híbrido 1 por diferentes métodos de análise de imagem de plântulas pelo SAS, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014. 38
- Tabela 6 – Análise de imagem das plântulas de milho dos 9 lotes do híbrido 1 pelo SAS: comprimento médio do coleótilo e total da plântula, índices de Vigor Automático, Vigor Manual (VM), Uniformidade (U) e Crescimento (C), UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014..... 40

- Tabela 7 – Análise de imagem de plântulas de milho do híbrido 1 para os diferentes métodos de análise de imagem de plântulas pelo SAS: comprimento médio do coleóptilo e total da plântula, índices de Vigor Automático, Vigor Manual (VM), Uniformidade (U) e Crescimento (C), UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014..... 41
- Tabela 8 – Análise de imagem de plântulas de milho dos 9 lotes do híbrido 2 pelo SAS: comprimento médio do coleóptilo, raiz e total da plântula, índices de Vigor Automático, Vigor Manual (VM), Uniformidade (U) e Crescimento (C), UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014..... 42
- Tabela 9 – Análise de imagem de plântulas de milho do híbrido 2 para os diferentes métodos de análise de imagem de plântulas pelo SAS: comprimento médio do coleóptilo, raiz e total da plântula, índices de Vigor Automático, Vigor Manual (VM), Uniformidade (U) e Crescimento (C), UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014. 44

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1	Qualidade de sementes de milho	12
2.2	Análise de imagens	16
2.2.1	Imagens digitais	16
2.2.2	Análise de imagens de plântulas	19
3	MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1	Caracterização dos lotes	23
3.1.1	Teor de água	23
3.1.2	Germinação	23
3.1.3	Envelhecimento acelerado	23
3.1.4	Teste de frio	24
3.1.5	Emergências de plântulas	24
3.2	Metodologia de análise de imagens	25
3.2.1	Teste de germinação	26
3.2.2	Captura das imagens e análise inicial	26
3.2.3	Calibração automática	28
3.3.4	Reanálise das imagens	29
3.3	Delineamento experimental e análise estatística	30
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4.1	Caracterização dos lotes	31
4.2	Calibração automática	35
4.3	Análise de imagens de plântulas	37
5	CONCLUSÃO	45
	REFERÊNCIAS	46

1 INTRODUÇÃO

O milho é uma cultura grande importância na economia, sendo o cereal mais produzido no país. O investimento em tecnologias para obtenção de altas produtividades, o que inclui o uso de sementes de qualidade superior, é altamente compensatório para os produtores desse cereal.

A qualidade das sementes é garantida pelos padrões mínimos exigidos no processo de certificação. O potencial fisiológico dos lotes é avaliado pelos resultados do teste de germinação que, apesar de serem padronizados, nem sempre refletem o comportamento das sementes em campo.

Testes mais sensíveis, como os testes de vigor, podem identificar estágios menos avançados de deterioração das sementes, o que facilita a decisão sobre o destino ou descarte de lotes. Uma das limitações para o uso desses testes está relacionada com o tempo gasto para a realização e a subjetividade na avaliação dos testes.

Técnicas de análise de imagens recentemente utilizadas para avaliação de imagens de plântulas podem minimizar essas limitações, desde que adaptadas as diferentes espécies de plantas. *Softwares* como o *Seed Vigor Imaging System-SVIS*, desenvolvido pela Universidade Estadual de Ohio-OSU para avaliação do vigor de sementes de alfaca, têm sido utilizados com eficiência em espécies como milho, soja, pepino, melão, trigo, amendoim, crotalária e girassol.

No Brasil, já está disponível no mercado o Sistema de Análise de Sementes – SAS, recentemente desenvolvido pela empresa Tbit Tecnologia e Sistemas que apresenta grande potencial de utilização na avaliação da qualidade física e fisiológica das sementes. Esta avaliação é feita por meio de análise de imagens de alta resolução que permitem extrair informações de cor, textura e geometria, além de fornecer índices de crescimento, uniformidade e vigor de plântulas.

O SAS é um equipamento promissor para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de milho, porém não existem pesquisas que comprovem sua eficiência como uma ferramenta de avaliar vigor de sementes.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Qualidade de sementes de milho

O milho é uma cultura de grande importância para o agronegócio no Brasil, o qual ocupa a terceira posição em produção mundial (DEPARTAMENTO DO AGRONEGÓCIO - DEAGRO, 2013). Na safra de 2012/2013 o milho foi o cereal mais produzido no Brasil com cerca de 81 milhões de toneladas, e estima-se um aumento de 3,1% na produção para a próxima safra (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2013).

Para a obtenção de altas produtividades, os produtores de milho investem em tecnologias, demandando sementes de alta qualidade. A taxa de utilização de sementes híbridas de milho é relativamente alta, sendo que na safra de 2011/2012 foi de 91%. Nesta mesma safra demandaram-se aproximadamente 281 mil toneladas de sementes híbridas de milho (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS - ABRASEM, 2013).

Para a comercialização de sementes são exigidos padrões mínimos no processo de certificação, de maneira a controlar a qualidade das sementes disponíveis no mercado. Para a certificação das sementes impõe-se que os lotes apresentem padrões mínimos de pureza física e de germinação. Esses valores variam por espécie e por categoria das sementes, sendo que, para sementes híbridas de milho C1 e S1, são de 98% de pureza física e 85% de germinação (BRASIL, 2013).

O teste de germinação é considerado um dos testes mais tradicionais para avaliação da qualidade fisiológica das sementes, porém, nem sempre os resultados obtidos reproduzem o potencial do lote em condições de campo (OHLSON et al., 2010). Por isso, com o objetivo de controlar a qualidade das suas sementes produzidas, as indústrias sementeiras realizam um controle de qualidade interno, no qual, além dos resultados obtidos pelo teste de germinação, são realizados outros testes que podem simular o potencial de emergência em campo sob condições adversas, os chamados testes de vigor.

Segundo a International Seed Testing Association - ISTA (1981), o vigor de um lote de sementes é representado pelo somatório de todas as propriedades as quais determinam o nível de desempenho deste durante a germinação das sementes, e principalmente da emergência em campo. Além disso, segundo a Association of Official Seed Analysts - AOSA (2009) o vigor de um lote também é representado pelo potencial deste apresentar uma rápida e uniforme emergência de plântulas em campo, de forma a originar plântulas normais sob uma ampla faixa de condições ambientais.

A alta produtividade em campo se relaciona diretamente com o vigor das sementes que se utilizaram no plantio (ANDREOLI et al., 2002; DIAS; MONDO; CICERO, 2010), tornando-se necessário mensurar o vigor dos lotes que serão comercializados.

Para a escolha de qual ou quais os testes a se utilizar para a avaliação do vigor, são considerados aqueles métodos rápidos e eficientes que representem o potencial de emergência em condições de campo e que auxiliem principalmente na tomada decisão quanto ao manuseio, descarte e comercialização das sementes produzidas (BITTENCOURT et al., 2012). Além disso, leva-se em consideração a relação dos testes com o comportamento das sementes frente às situações específicas, como a secagem, armazenamento e desempenho dos lotes no campo sob condições climáticas adversas (BAALBAKI et al., 2009).

As empresas produtoras de sementes de milho utilizam no seu controle de qualidade os testes de emergência de plântulas em campo, teste de frio e envelhecimento acelerado, sendo estes testes de vigor considerados fundamentais para o gerenciamento da produção (CASEIRO; MARCOS FILHO, 2002).

No teste de emergência de plântulas em campo a sementeira é conduzida em canteiros e, após um determinado período em dias, é computado o número de plântulas emergidas, sendo que, quanto maior percentual de plântulas emergidas, mais vigoroso será o lote. Este teste, quando conduzido na época normal de sementeira da cultura, fornece a capacidade do lote em estabelecer-se no campo. Porém, quando conduzido em época diferente da normal de sementeira poderá gerar resultados diferentes aos da referida época, mas mesmo assim fornecem subsídios úteis para diferenciar o vigor entre lotes (NAKAGAWA, 1999).

O teste de frio, por sua vez, avalia o potencial fisiológico das sementes em germinarem sob condições de baixa temperatura do solo e principalmente a permeabilidade do sistema de membrana das sementes. Já o teste de envelhecimento acelerado avalia o potencial de armazenamento das sementes, bem como o desempenho das mesmas sob condições de alta temperatura (AOSA, 2009).

Para o milho, o teste de frio configura-se como o mais importante teste de vigor, por ser o que melhor se relaciona com a emergência em campo (NOLI et al., 2008), no entanto ele é relativamente moroso. Este teste é conduzido em substrato composto de uma mistura de terra já cultivado com o milho e areia, sendo que após a sementeira, as sementes são mantidas por 7 dias em câmara fria a 10 °C e, posteriormente, por 7 dias em câmaras de crescimento a 25 °C, demandando um total de 14 dias para a realização do teste (BARROS et al., 1999).

Para o teste de envelhecimento acelerado o tempo gasto para realizar o teste varia de acordo com a metodologia utilizada. Em todas as metodologias utiliza-se uma caixa de plástica de dimensão 11,0x11, 0x3, 5 cm contendo uma tela de inox na parte superior, onde as sementes são dispostas em camada única, colocando-se no fundo desta 40 mL de água. Desta maneira a caixa plástica simulará uma câmara úmida (AOSA, 2009). Neste teste o que pode variar é a temperatura e o tempo de acondicionamento da caixa em câmara BOD.

Para o milho, a AOSA (2009) recomenda um acondicionamento em câmara de crescimento regulada a 42 °C por 72 horas, porém, combinações de temperatura e tempo de acondicionamento como 42 °C ou 45 °C por 72 horas, 42 °C por 96 horas (BITTENCOURT; VIEIRA, 2006) e 42 °C por 48 horas (DUTRA; VIEIRA, 2004) também foram relatadas na literatura como metodologias eficientes na detecção de diferenças na qualidade fisiológica de lotes de sementes de milho. Além desta espécie, o teste de envelhecimento acelerado é empregado com sucesso para as culturas de soja (DUTRA; VIEIRA, 2004), trigo (OHLSON et al., 2010), arroz (WRASSE et al., 2009), sorgo (VANZOLINI; CARVALHO, 2002), aveia preta (SOUZA; NAKAGAWA; MACHADO, 2009), nabo forrageiro (NERY; CARVALHO; GUIMARÃES, 2009), entre outras.

Além destes testes tradicionalmente utilizados, existem outros testes de vigor relacionados com a determinação da velocidade e uniformidade de crescimento das plântulas que são considerados testes de grande importância para a avaliação do vigor de lotes sementes (HOFFMASTER et al., 2003). O crescimento inicial das plântulas de milho esta diretamente relacionado com o vigor das sementes (MONDO et al., 2013) e conseqüentemente isso refletirá no desempenho das plantas em campo (DIAS; MONDO; CICERO, 2010). O teste de emissão da raiz primária em plântulas de milho já foi validado como um teste de vigor para essa espécie (MATTHEWS et al., 2011), o qual foi inserido em

2012 nas regras internacionais para análise de sementes (*International Rules for Seed Testing*).

O teste de comprimento de plântulas não necessita de equipamentos e nem de analistas especializados; no entanto esta medição é realizada manualmente, demandando tempo e estando muitas vezes sujeita à variações entre analistas (DORNELAS; LOBO; VIEIRA, 2005).

A alternativa que reduziria o tempo gasto para a realização da avaliação manual, bem como eliminaria a subjetividade do teste, seria a automatização desse processo, pois além de ser um teste rápido ele seria também um teste com resultados mais precisos (MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009). Uma técnica relativamente recente que tem grande potencial para a avaliação da qualidade das sementes é a análise de imagens computadorizadas de plântulas.

2.2 Análise de imagens

2.2.1 Imagens digitais

Uma imagem é formada por uma função bidimensional de intensidade de luz $f(x, y)$ sendo x e y coordenadas espaciais e o valor de f em um determinado par de coordenadas é proporcional ao brilho (amplitude) da imagem naquele ponto. Em uma imagem digital a $f(x, y)$ é discretizada. Isso é possível, pois a imagem contínua passa pelos processos de amostragem e quantização, onde ocorre a transformação dos componentes da função em valores pontuais (GONZALEZ; WOODS, 2010).

A representação mais comum da função discreta das imagens é o uso de matrizes bidimensionais, o qual cada posição (x, y) , chamado também de pixel, equivale a um determinado intervalo contínuo da imagem original.

Nas imagens digitais, a resolução espacial e resolução de cor são fatores importantes para o entendimento da formação e processamento da imagem. A primeira representa o tamanho da matriz que se utilizou para representar uma imagem, e que determinará o seu nível de detalhes desta. A segunda representa o número de cores possíveis que cada célula matriz (pixels) possui (GONZALEZ; WOODS, 2007).

O processamento da imagem digital pode ser dividido em 4 etapas: a aquisição da imagem, o pré-processamento, a segmentação e a análise. A aquisição da imagem pode ser feita com o auxílio de câmera fotográfica e escâner, e é nesta etapa que ocorre a digitalização da imagem. No pré-processamento haverá a melhoria da imagem, como o realce de contrastes e a remoção de ruídos, sendo esta etapa de grande importância para aumentar as chances de sucesso das etapas seguintes (GONZALEZ; WOODS, 2007).

A etapa de segmentação consiste nos processos de limiarização e o reconhecimento dos objetos de interesse. Segundo Gonzalez e Woods (2010), a limiarização é uma das mais importantes ferramentas de separação do objeto de estudo com o fundo das imagens, devido suas propriedades intuitivas, simplicidade de implementação e velocidade computacional.

A limiarização, originado da palavra em inglês *threshold*, consiste na varredura da imagem original identificando os pixels pertencentes ao objeto e ao fundo, por meio de limiares ou limites pré-definidos, que podem ser por intensidade de cinza ou por variação de cor (GONZALEZ; WOODS, 2010). Para limiarização por cor pode-se utilizar vários tipos de modelo de cores na identificação dos pixels pertencentes ao objeto e ao fundo da imagem, entre eles estão os modelos de RGB, HSV, CIELab e YCbCr que estão descritos abaixo:

- *Modelo RGB*: sistema proposto por Young-Helmholtz que se baseia na teoria do estímulo de três cores: Vermelha (*Red-R*), Verde (*Green-G*) e Azul

(*Blue-B*), as quais podem formar cores secundárias, como a cor magenta (vermelho mais azul), ciano (verde mais azul) e amarelo (vermelho mais verde).

- *Modelo HSV*: composto por um sistema de cores formado pelos componentes de Matiz (*Hue-H*), Saturação (*Saturation-S*) e Valor (*value-V*). O matiz é responsável por verificar o tipo de cor que varia desde o vermelho até o violeta, mais o magenta a saturação regula a quantidade de tom de cinza que uma imagem apresentará, e o valor representa a intensidade de brilho de uma imagem.

- *Modelo CIELab*: definido pela *Comission Internationale de l'Eclairage* - CIE na tentativa de aumentar a uniformidade das cores percebidas pelo sistema visual humano. Este sistema funciona como um tradutor universal de línguas entre os dispositivos, permitindo controlar as cores que passam de um dispositivo para outro, correlacionando os valores em RGB com os valores em "L" (a luminosidade que define a cor relativamente a ser mais clara ou mais escura nos limites do preto e branco), "a" (o tom que define a tonalidade da cor nos limites de verde e vermelho) e "b" (a saturação que define a intensidade ou pureza da cor nos limites de azul e amarelo).

- *Modelo YCbCr*: este modelo foi desenvolvido para permitir que as emissões dos sistemas de televisores coloridos fossem compatíveis com os receptores preto e branco. É um sistema de espaços cores usado como parte do canal de cor de uma imagem, vídeo ou sistema de fotografia digital, no qual, "Y" representa o componente da luma, "Cb" a diferença de azul no componente chroma e Cr a diferença de vermelho no componente chroma (LOPES, 2003).

O processo de segmentação aumenta a probabilidade de sucesso na solução de problemas que dependem da identificação correta dos objetos. A resolução dos impasses é realizada com auxílio de *softwares* específicos durante a última etapa do processamento da imagem, a análise da mesma.

2.2.2 Análise de imagens de plântulas

A análise computadorizada de imagens de plântulas representa uma técnica potencial para a avaliação do vigor de lotes de sementes (MCDONALD; CHEN, 1990). O primeiro relato de sua utilização dessa técnica do início da década de 90, onde se realizou a avaliação do comprimento de raiz primária de alface e cenoura por meio de análise de imagem (MCCOMARC; KEFFE; DRAPER, 1990). Esta técnica foi repetida em alface e sorgo por Howarth e Stanwood (1993).

A avaliação de imagens plântulas digitalizadas permite diferenciar lotes em níveis de vigor, sendo um processo de análise relativamente rápida e precisa (HOFFMASTER et al., 2003; MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009; SAKO et al., 2001).

Sako et al. (2001) desenvolveram na Universidade Estadual de Ohio-OSU, nos Estados Unidos, um sistema computacional de análise de imagens de plântulas de alface, o *Seed Vigor Imaging System-SVIS*, que, por meio do processamento das imagens digitalizadas, calcula índices que se baseiam no crescimento e uniformidade inicial das plântulas. A utilização de plântulas de alface para esse estudo foi justificada por a mesma apresentar plântulas eretas, bem como hipocótilo e raiz bem definidos (MARCOS FILHO, 2010).

Para a utilização do SVIS, inicialmente as imagens são capturadas com o auxílio de um escâner tendo como operador um *software* específico. Geneve e Kester (2001) demonstraram que a utilização de escâner poderia ser uma ferramenta eficiente no monitoramento da germinação de sementes floríferas. Esta teoria foi posteriormente confirmada por Oakley, Kester e Geneve (2004).

Após a captura das imagens estas são analisadas pelo *software* SVIS, fornecendo os índices de vigor, uniformidade e crescimento, cujos valores

podem variar de 1 a 1000. As fórmulas para o cálculo dos índices estão descritas abaixo (SAKO et al., 2001):

$$\text{Índice de Vigor} = w_C \text{ crescimento} + w_U \text{ uniformidade},$$

$$\text{Índice de Crescimento} = \text{mín.} (w_h * l_h + w_r * l_r, 1000),$$

$$\text{Índice de Uniformidade} = \text{máx.} (1000 - (w_{sh} * s_h + w_{sr} * s_r + s_{total} + w_{sr/h} * s_{r/h}) - w_M * n^\circ \text{ sementes mortas}, 0),$$

Sendo,

- l_h e l_r : médias amostrais do comprimento do hipocótilo e da raiz;
- s_h , s_r , s_{total} e $s_{r/h}$: desvio padrão do comprimento do hipocótilo, da raiz, total e da razão da raiz pelo hipocótilo;
- w : o peso dos parâmetro.

No SVIS, apenas os pesos dos parâmetros de crescimento (w_C) e uniformidade (w_U) na fórmula do cálculo de vigor podem ser alterados manualmente pelo usuário do equipamento, os demais pesos são valores pré-determinados (MCDONALD et al., 2008).

O sistema computacional SVIS foi adaptado com sucesso para a avaliação do vigor de lotes de sementes de outras espécies além da alface. Entre elas estão o milho (ALVARENGA; MARCOS FILHO; GOMES JUNIOR, 2012; GOMES JUNIOR et al., 2009; MCDONALD, 2005; OTONI; MCDONALD, 2005), soja (HOFFMASTER et al., 2003; MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009), melão (MARCOS FILHO et al., 2006), amendoim (MARCHI; CICERO; GOMES JUNIOR, 2011), pepino (CHIQUITO; GOMES JUNIOR; MARCOS FILHO, 2012), trigo (SILVA; GOMES JUNIOR; CICERO, 2012), crotalária (SILVA et al., 2012) e girassol (ROCHA, 2012). Para todos os trabalhos os pesos dos

parâmetros de crescimento e uniformidade para o cálculo do índice de vigor foram de 70% e 30%, respectivamente.

Além de comparar diretamente o vigor dos lotes por meio da análise do crescimento de plântulas, os resultados obtidos pelo SVIS podem se relacionar com os testes de vigor tradicionais como envelhecimento acelerado para o milho doce (ALVARENGA; MARCOS FILHO; GOMES JUNIOR, 2012), amendoim (MARCHI; CICERO; GOMES JUNIOR, 2011) e soja (MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009), e o teste de emergência em campo para o amendoim (MARCHI; CICERO; GOMES JUNIOR, 2011) e girassol (ROCHA, 2012). O SVIS também foi utilizado com sucesso na avaliação da eficiência do condicionamento osmótico em sementes de *Guazuma ulmifolia* L (BRANCALION et al., 2010) e de milho doce (GOMES JUNIOR et al., 2009).

Recentemente a Tbit tecnologias e Sistemas, empresa incubada na Universidade Federal de Lavras (UFLA), lançou no mercado um sistema de análise de imagem computadorizado, o Sistema de Análise de Sementes - SAS, composto por uma câmara de captação da imagem e um *software* de análise. A câmara é constituída de uma bandeja com fundo de acrílico transparente, no qual é disposto o objeto de análise, e uma, ou duas câmeras fotográficas de alta resolução.

A aquisição das imagens no SAS pode ser realizada de duas maneiras: realiza-se apenas a captura da imagem e depois a análise, ou, captura-se e analisa-se a imagem ao mesmo tempo. A decisão de qual caminho escolher depende da existência de uma calibração pré-definida para o objeto a ser analisado.

Antes da captura e análise da imagem é necessário que o usuário do equipamento defina qual plano de fundo usar, ou seja, defina o padrão para a segmentação da imagem. A segmentação no SAS é realizada por diferença de

cor, sendo que o *software* possui três opções de modelos de cor, o HSV, YCbCr e Cielab.

O SAS analisa imagens de sementes e de plântulas extraindo informações de cor, textura e geometria de cada indivíduo da imagem. Além de analisar individualmente a plântula, esse sistema de análise de imagens computadorizado fornece informações sobre vigor, uniformidade e crescimento de cada amostra por meio dos índices, cujos valores variam de 1 a 100. As fórmulas que o SAS utiliza para o cálculo desses índices são as mesmas do SVIS, porém todos os pesos dos parâmetros que compõem a fórmula podem ser modificados a cada análise, podendo variar entre as espécies, embora não tenha trabalhos que comprovem esta variação.

Para definir os pesos, o SAS possui uma ferramenta de calibração automática que, por meio de regressão multivariada, determina quais os valores dos pesos para que o valor do índice de vigor correlacione com o teste de vigor tradicional, utilizado para a calibração da fórmula.

O SAS é um equipamento com potencial de utilização para avaliação do vigor de sementes por meio da avaliação de imagens de plântulas, porém, é necessário realizar pesquisas para cada espécie, de maneira a comprovar a sua eficiência na avaliação do vigor de sementes.

O objetivo com na pesquisa foi adequar uma metodologia de análise de imagens de plântulas de milho pelo SAS, bem como verificar a potencialidade de utilização desse equipamento na avaliação do potencial fisiológico de sementes de milho.

3 MATERIAL E METÓDOS

Utilizaram-se 18 lotes de sementes de milho com qualidade fisiológica distinto, sendo 9 lotes (1 a 9) do híbrido 1, e 9 lotes (A a I) do híbrido 2, ambos

fornecidos pela empresa Dow Agrosiences Industrial Ltda. A pesquisa foi realizada no Laboratório Central de Análise de Sementes da Universidade Federal de Lavras- UFLA e na empresa Tbit Tecnologias e Sistemas, em Lavras-MG, no período de fevereiro 2012 a dezembro de 2013.

3.1 Caracterização dos lotes

3.1.1 Teor de água

Determinou-se o teor de água pelo método de estufa a $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas (BRASIL, 2009) utilizando 2 repetições de 5 g de sementes por tratamento. Os resultados foram expressos em porcentagem.

3.1.2 Germinação

O teste de germinação foi realizado com 4 repetições de 50 sementes por lote. Utilizou-se como substrato o papel toalha na forma de rolo, umedecido com água destilada equivalente a 2,5 vezes o peso seco do papel. Os rolos foram mantidos em germinadores a temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, e realizando-se as leituras ao quarto dia (primeira contagem de germinação) e ao sétimo dia após a semeadura (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem. Foram avaliadas as plântulas normais, anormais infectadas, anormais deformadas e sementes mortas, sendo as deformações especificadas.

3.1.3 Envelhecimento acelerado

O teste de envelhecimento acelerado foi conduzido em caixa plástica (11,0x11, 0x3, 5 cm), pelo método de caixas plásticas de germinação (AOSA,

2009). As sementes de cada tratamento foram distribuídas sobre a tela inox interna a caixa em camada única, de maneira a cobri-la de forma completa e uniforme, e no fundo da caixa colocou-se 40 mL de água destilada. As caixas foram tampadas e mantidas em BOD regulada a $42\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ durante 96 horas e posteriormente foi realizado o teste de germinação segundo o item 3.1.2.

Realizou-se uma única leitura ao sétimo dia após a semeadura computando a porcentagem de plântulas normais, plântulas anormais infectadas, plântulas anormais deformadas e sementes mortas, definindo os tipos de deformações.

3.1.4 Teste de frio

Utilizaram-se 4 repetições de 50 sementes para cada tratamento. A semeadura foi realizada em bandejas de plástico (51x30x9, 7) utilizando uma mistura de terra e areia na proporção de 2:1, sendo umedecido com 60% da sua capacidade de retenção de água (KIKUTI; PINHO; REZENDE, 1999). Após a semeadura as caixas foram mantidas em câmara fria a $10\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, durante 7 dias. Posteriormente as caixas foram acondicionadas em câmara de crescimento vegetal com temperatura de $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ durante 7 dias, quando se realizou contagem de plântulas emergidas (BARROS et al., 1999). Os resultados foram expressos em porcentagem.

3.1.5 Emergência de plântulas

Foram realizados dois testes de emergência de plântulas sob condições controladas na temperatura de 25 °C e 30 °C . Para cada teste utilizou-se 4 repetições de 50 sementes por tratamento. As sementes foram semeadas em

substrato composto de mistura de terra e areia na proporção 2:1, umedecido com 60% da sua capacidade de retenção de água. As leituras foram realizadas diariamente para o cálculo do Índice de Velocidade de Emergência (IVE), computando o número de plântulas emergidas no dia (MAGUIRE, 1962). A última leitura foi realizada ao 15º dia, quando a emergência das plântulas se estabilizou. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas emergidas.

Após a caracterização dos lotes pelos testes tradicionais foram efetuadas as avaliações no equipamento SAS.

3.2 Metodologia de análise de imagens no SAS

Para a obtenção das imagens das plântulas a serem analisadas foram realizados dois testes de germinação, com e sem o substrato tecido não tecido-TNT, utilizando-se 8 repetições de 25 sementes por tratamento para cada teste. O TNT na cor azul foi utilizado para possibilitar maior contraste entre as raízes e o substrato. A captura e análise inicial das imagens das plântulas foram realizadas com as plântulas de milho aos três dias após a semeadura.

A análise das imagens foi feita automaticamente sem correção manual e com correção de falhas na identificação das partes das plântulas pelo *software*, o que originou quatro metodologias avaliadas: sem TNT e com correção, sem TNT e sem correção, com TNT e com correção, e com TNT e sem correção.

3.2.1 Testes de germinação

Substrato rolo de papel toalha

Foi realizado o teste de germinação utilizando como substrato o papel toalha na forma de rolo umedecido com água equivalente a 2,5 vezes o seu peso seco. As sementes foram distribuídas em duas fileiras (uma na porção superior do papel e outra no terço médio) e dispostas com o escutelo exposto e a radícula voltada para o inferior do papel. Posteriormente os rolos foram acondicionados em germinador regulado a $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ por três dias, quando se realizou a captura das imagens.

Substrato rolo de papel toalha mais folha de TNT azul

Utilizou-se a mesma metodologia descrita acima, porém, com o acréscimo de uma folha de TNT azul na superfície do substrato.

3.2.2 Captura das imagens das plântulas e análise inicial

A captura das imagens em ambos os testes de germinação foram realizadas por uma câmera profissional de alta resolução (informações confidenciais do equipamento) contidas dentro da câmara de captação do equipamento SAS. A calibração de cor de fundo utilizado foi o modelo de cor CIELab com luminosidade de 0 a 100, dimensão “a” -120 a 120, e dimensão “b” de -120 a 30. O tipo de parâmetro de reconhecimento foram plântulas com 3 dias, fundo de preenchimento não selecionado e o tamanho mínimo de descarte de objeto de $0,3\text{ cm}^2$.

Para a captura das imagens sem o substrato TNT, as plântulas foram retiradas do papel toalha de forma cuidadosa e foram colocadas sobre uma bandeja de acrílico transparente, de maneira que as plântulas não se encostassem. Posteriormente a bandeja foi inserida na câmara de captação do SAS para serem analisadas.

No caso da captura das imagens com a utilização do TNT, o rolo de papel toalha com TNT foi aberto na bandeja de acrílico transparente e posteriormente, esta foi inserida na câmara de captação do SAS para ser analisada.

Após a análise das imagens das plântulas nos dois substratos foram criados dois arquivos, um contendo os dados das análises originais e outro contendo as imagens em que as partes das plântulas (coleóptilo e raiz) foram corrigidas, nos casos em que a detecção automática não foi eficiente (Figura 1).



Figura 1– Tela de correção manual do SAS: (a) identificação automática da raiz e coleótilo e (b) correção manual do coleótilo, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014.

3.2.3 Calibração automática

A calibração foi realizada automaticamente pelo equipamento SAS que, por meio de regressão multivariada, relaciona o valor do teste de vigor tradicional, utilizado como padrão, com o valor do Índice de Vigor calculado pelo equipamento. Utilizou-se o Teste de Frio como o teste padrão e foram selecionadas aleatoriamente as imagens de três lotes de cada híbrido obtidas pelo teste de germinação ao terceiro dia, sem o uso do substrato TNT (item 3.2.1).

Foi realizada uma calibração para cada híbrido. Os resultados do peso dos parâmetros contidos nas fórmulas descritas abaixo foram definidos para cada calibração. Posteriormente as imagens foram reanalisadas utilizando as calibrações definidas.

- Índice de Crescimento = $\text{mín}(w_h * I_h + w_r * I_r, 1000)$,

- Índice de Uniformidade = $\text{máx}(1000 - (w_{Sh} * s_h + w_{Sr} * s_r + s_{total} + w_{Sr/h} * s_{r/h}) - w_M * n^\circ \text{ sementes mortas}, 0)$,

- Índice de Vigor = p_C crescimento + p_U uniformidade,

Sendo,

- I_h e I_r : médias amostrais do comprimento do hipocótilo e da raiz;

- s_h , s_r , s_{total} e $s_{r/h}$: desvio padrão do comprimento do hipocótilo, da raiz, total e da razão da raiz pelo hipocótilo;

- p_G e p_U : peso dos parâmetros de crescimento e uniformidade

- w : o peso dos parâmetro.

3.2.4 Reanálise das imagens

Todas as imagens foram reanalisadas sendo que foram utilizadas duas calibrações para cada híbrido: a calibração automática do SAS e a calibração manual. Na calibração manual utilizaram-se os mesmos pesos dos parâmetros do *software* SVIS (Tabela 1) e os valores dos pesos de crescimento e uniformidade foram de 70% e 30% respectivamente.

Tabela 1 – Valores dos pesos dos parâmetros fixados nas fórmulas do cálculo dos índices de Vigor, Crescimento e Uniformidade no *software* SVIS.

Parâmetros	Pesos
Crescimento (w_C)	Variável
Uniformidade (w_U)	Variável
Comprimento do hipocótilo (w_{l_h})	2,5
Comprimento da raiz (w_{l_r})	5,0
Desvio padrão do comprimento do hipocótilo (ws_h)	0,75
Desvio padrão do comprimento da raiz (ws_r)	0,5
Desvio padrão do comprimento total (ws_{total})	2,5
Desvio padrão da relação do comprimento do hipocótilo/raiz ($w_{s_{r/h}}$)	50
Número de sementes mortas (w_M)	0

Fonte: McDonald et al., 2008.

Após a reanálise foram anotados os valores médios do comprimento da raiz, do hipocótilo e do total da plântula e os índices de vigor, sendo que, para as imagens reanalisadas na calibração manual, também foram anotados os índices de crescimento e uniformidade.

3.3 Delineamento experimental e análise estatística

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado no esquema fatorial 9 X 4, para cada híbrido avaliado, sendo o primeiro fator relativo a 9 lotes de sementes de milho e o segundo fator relativo aos métodos de análise de imagem (sem substrato TNT com e sem correção e com substrato TNT com e sem correção), com 4 repetições de 50 sementes para os testes de caracterização dos lotes e 8 repetições de 25 sementes para os métodos de análise de imagem. Para a análise dos dados foi utilizado o teste de comparação de médias, por meio do teste de Scott Knott a 5% de significância, usando o *software* Sisvar (FERREIRA, 2003).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização dos lotes

Os valores obtidos na determinação do teor de água dos 9 lotes dos dois híbridos foram semelhantes, sendo que para os lotes do híbrido 1 houve variação de 10,5% a 10,9%, e para os lotes do híbrido 2 de 9,6% a 10,0%. A uniformidade do grau de umidade entre os lotes é importante para que se possam obter resultados consistentes na avaliação do potencial fisiológico das sementes (TEKRONY, 2003).

Tabela 2 – Resultados médios obtidos na avaliação do potencial fisiológico de sementes de milho de 9 lotes do híbrido 1 pelos testes de: 1ª Contagem de germinação (1ª C), Germinação (G), Envelhecimento Acelerado (EA), Teste de Frio (TF), Emergência de plântulas a 25 °C (E25), Emergência de plântulas a 30 °C (E30), Índice de Velocidade de Emergência de plântulas a 25 °C (IVE 25) e Índice de Velocidade de Emergência de plântulas a 30 °C (IVE 30), UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014.

Lote	1ª C (%)	G (%)	EA (%)	TF (%)	E25 (%)	E30 (%)	IVE 25	IVE 30
1	76 c	92 b	85 b	89 b	97 b	98 a	15,35 b	15,92 b
2	77 c	93 b	91 b	91 b	95 c	95 a	15,12 b	15,68 b
3	78 c	94 b	93 a	89 b	96 b	95 a	15,22 b	15,88 b
4	89 a	97 a	96 a	94 a	99 a	98 a	16,01 a	16,41 a
5	86 a	96 a	95 a	95 a	99 a	99 a	16,40 a	16,66 a
6	90 a	97 a	97 a	94 a	99 a	99 a	16,05 a	16,71 a
7	82 b	93 b	89 b	88 b	95 c	95 a	14,68 c	15,44 c
8	77 c	93 b	86 b	86 b	96 b	95 a	14,67 c	15,36 c
9	82 b	95 b	88 b	87 b	97 b	96 a	14,98 b	15,52 c
CV(%)	3,99	1,86	5,73	3,54	1,25	4,00	2,05	1,66

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, no nível de 5% de significância pelo teste de Scott-Knott.

Na tabela 2 constam os resultados da caracterização dos 9 lotes do híbrido 1. Pode-se verificar que os lotes desse híbrido apresentaram germinação superior a 92%. No entanto, pelo teste de germinação foi possível classificar os 9 lotes em dois níveis de potencial fisiológico, sendo que os lotes 4, 5 e 6 apresentaram os maiores valores de germinação. Os resultados do vigor dos lotes desse híbrido pelos testes de envelhecimento acelerado, teste de frio e de emergência de plântulas foram superiores a 85%, padrão mínimo estabelecido para a germinação de lotes comerciais de sementes de milho (BRASIL, 2013). Uma vez que esses testes de vigor estão relacionados com a germinação em condições de estresse, esses resultados permitem inferir que além dos 9 dos lotes apresentarem alto poder germinativo também apresentou vigor elevado.

No entanto, como o teste de germinação, todos os testes de vigor utilizados para a caracterização identificaram diferenças no vigor entre os 9 lotes, sendo que destacaram os lotes 4, 5 e 6 como de vigor superior, exceto o teste de emergência de plântulas a 30 °C, onde não houve separação de níveis de vigor dos lotes. O híbrido 1 apresenta características de alto desempenho em campo sob condições de temperatura elevada, uma vez que a indicação de região ideal para semeadura desse híbrido pela empresa produtora envolve regiões de maior temperatura ambiental. Essas características pode explicar o fato do teste emergência de plântulas a 30 °C não detectar diferenças na emergência das plântulas dos 9 lotes. Segundo Tekrony, Egli e Wickham (1989), em condições ideais de germinação o vigor não afeta a emergência de lotes de sementes de milho.

Os testes de vigor envolvendo velocidade de germinação separaram os 9 lotes do híbrido 1 em diferentes níveis de vigor (Tabela 2). No entanto houve variação na classificação dos lotes de vigor intermediário e baixo. Essa variação pode ser explicada pela maior variação individual entre sementes de lotes de médio potencial fisiológico. A maior variação individual entre sementes de um

mesmo lote é observada em lotes de médio vigor, já que para a maioria das espécies, como em soja (ILLIPRONTI JUNIOR, 1997) lotes mais homogêneos são mais vigorosos. À medida que o processo de determinação ocorre, a variação individual entre as sementes aumenta.

Tabela 3- Resultados médios obtidos na avaliação do potencial fisiológico de sementes de milho de 9 lotes do híbrido 2 pelos testes de: 1ª Contagem de germinação (1ª C), Germinação (G), Envelhecimento Acelerado (EA), Teste de Frio (TF), Emergência de plântulas a 25 °C (E25), Emergência de plântulas a 30 °C (E30), Índice de Velocidade de Emergência de plântulas a 25 °C (IVE 25) e Índice de Velocidade de Emergência de plântulas a 30 °C (IVE 30), UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014.

Lote	1ª C (%)	G (%)	EA (%)	TF (%)	E25 (%)	E30 (%)	IVE 25	IVE 30
A	61 c	93 a	86 a	94 a	96 a	97 a	13,91 a	13,92 a
B	62 c	88 b	91 a	87 a	96 a	96 a	13,91 a	13,79 a
C	65 c	89 b	89 a	92 a	96 a	95 a	13,93 a	13,78 a
D	69 b	94 a	83 b	79 b	96 a	96 a	13,77 a	13,79 a
E	61 c	94 a	77 b	80 b	97 a	95 a	13,83 a	13,67 a
F	70 b	95 a	82 b	80 b	98 a	97 a	13,94 a	13,76 a
G	71 b	94 a	78 b	91 a	96 a	95 a	13,93 a	13,75 a
H	75 b	94 a	75 b	88 a	96 a	95 a	13,85 a	13,69 a
I	82 a	92 a	83 b	93 a	95 a	97 a	13,81 a	13,86 a
CV(%)	6,92	2,35	5,73	4,62	1,47	1,48	1,78	1,39

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, no nível de 5% de significância pelo teste de Scott-Knott.

Na caracterização dos 9 lotes do híbrido 2, descrito na tabela 3, pode-se verificar uma variação da classificação dos lotes em níveis de potencial fisiológico pelos testes utilizados. O desempenho dos lotes pode variar entre os testes de avaliação fisiológica das sementes, visto que estes avaliam características distintas. Resultados semelhantes foram obtidos por Caliari e Silva (2001), Castro (2011) e Fessel et al. (2003) que detectaram diferenças no

desempenho de lotes de sementes de milho em função dos testes de vigor utilizados na avaliação do potencial fisiológico.

Pelo teste de germinação foi possível classificar os lotes em dois níveis de potencial fisiológico, sendo que os lotes B e C apresentaram as porcentagens de germinação inferiores aos demais lotes. A baixa germinação desses ocorreu principalmente pelo elevado número de plântulas infectadas por fungos. Porém, pode-se observar que o mesmo não ocorreu nos testes de emergência de plântulas. As temperaturas utilizadas nos testes de emergência de plântulas provavelmente são as ideais para a germinação das sementes de milho do híbrido 2. Segundo Pinho et al. (1995), sob condições ideais para a germinação, as plântulas emergem de forma rápida escapando da ação dos patógenos presentes na sementes, porém, o mesmo não ocorre no teste de germinação que é realizado em substrato papel.

Pelo teste de frio foi possível detectar os lotes D, E e F como de potenciais fisiológicos inferiores aos demais. No teste de envelhecimento acelerado, além desses três lotes, os lotes G, H e I também foram classificados como de vigor inferior. O teste de envelhecimento acelerado foi mais sensível na identificação dos lotes de milho de baixo vigor para este híbrido. Resultados semelhantes foram obtidos por Teixeira (2004) que avaliou cinco lotes de sementes de milho e também detectou uma maior sensibilidade desse teste na identificação de lotes de milho menos vigorosos. No entanto, tanto no teste de frio quanto no envelhecimento acelerado os lotes A, B e C foram superiores aos lotes D, E e F.

Por meio da caracterização dos lotes dos híbridos avaliados pode-se identificar: (a) para híbrido 1, os lotes 4, 5 e 6 foram classificados como de alto vigor em todos os testes utilizados na caracterização, exceto o teste de emergência de plântulas a 30 °C onde não houve diferenças entre os lotes; e (b) para o híbrido 2 os lotes A, B e C foram classificados como de alto vigor, e os

lotes D, E e F como de baixo vigor nos testes de envelhecimento acelerado e teste de frio.

4.2 Calibração automática

Após a captura e análise inicial das imagens das plântulas foi realizada a calibração automática pelo SAS para cada híbrido utilizado. Foram selecionados aleatoriamente os lotes 5, 7 e 8 para a calibração 1 (híbrido 1) e os lotes A, F e I para a calibração 2 (híbrido 2). A calibração foi feita baseada nos resultados do teste de frio, sendo os resultados de: 95%, 88% e 86% para os lotes 5, 7 e 8, e 94%, 80% e 93% para os lotes A, F e I, respectivamente. Os pesos das fórmulas para o cálculo do índice vigor obtidas pelas calibração automática do SAS estão descritos na tabela 4.

Tabela 4 – Pesos dos parâmetros da fórmula de vigor gerados pela calibração automática do SAS, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014.

Parâmetros	Pesos	
	Híbrido 1	Híbrido 2
Crescimento (w_c)	83,85629072	108,4964549
Uniformidade (w_{ij})	83,85629072	108,4964549
Comprimento do hipocótilo (w_{l_h})	-2,823343321	9,322130566
Comprimento da raiz (w_{l_r})	1,762574061	-2,252439132
Desvio padrão do hipocótilo (w_{s_h})	15,69882055	3,365555998
Desvio padrão da raiz (w_{s_r})	8,572735849	-6,881685425
Desvio padrão do comprimento total ($w_{s_{total}}$)	-11,61613778	-0,279812909
Desvio padrão do hipocótilo/raiz ($w_{s_{r/h}}$)	0,016115942	-2,058411161
Número de sementes mortas (w_M)	0,788050143	3,716112821

A eficiência da calibração foi verificada pela comparação dos resultados do teste de frio e o índice de vigor obtido automaticamente pelo SAS. Observa-se a proximidade dos valores do teste de frio dos lotes selecionados para a calibração do híbrido 1 (a) e do híbrido 2 (b), com o índice de vigor calculado pelo SAS, sendo que a calibração 1 apresentou 98,4% de acerto e a calibração 2, 96,9% de acerto.

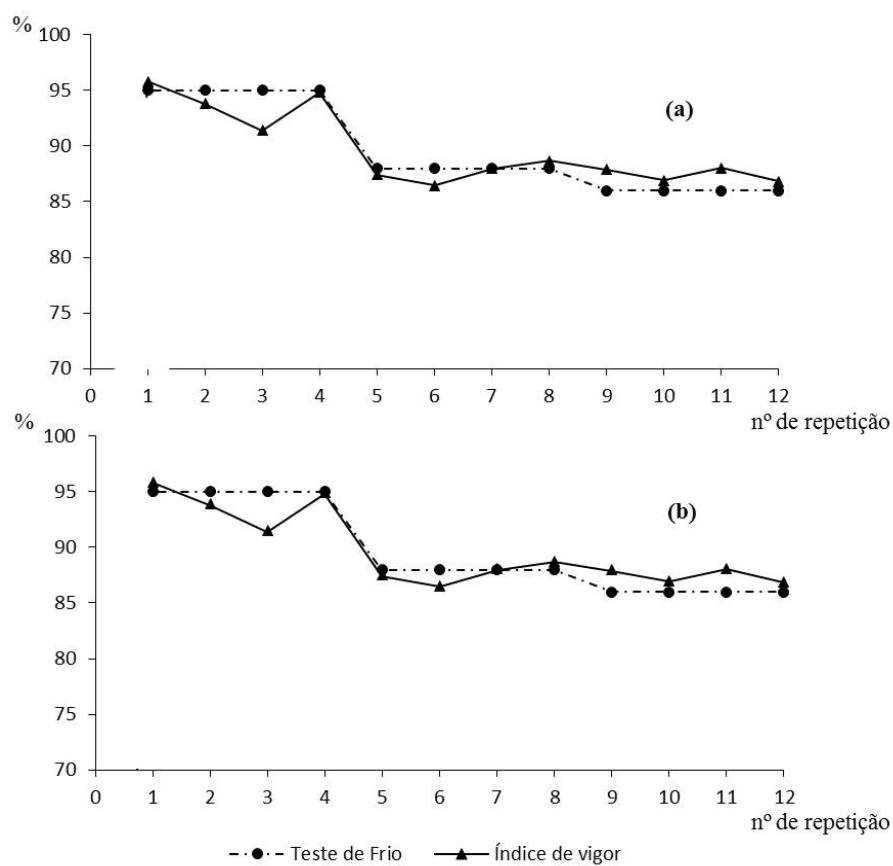


Gráfico 1 – Resultado da calibração automática do SAS: (a) calibração do híbrido 1 e (b) calibração do híbrido 2, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014.

4.3 Análise de imagens

Após a definição dos pesos das fórmulas para o cálculo do índice de vigor automático, foram realizadas reanálises das imagens de duas maneiras: a primeira utilizando os pesos definidos na calibração automática do SAS, o qual o índice de vigor calculado foi denominado de “automático”; e a segunda utilizando os pesos da fórmula de vigor pré-estabelecido pelo método no equipamento SVIS (Tabela 1) denominado “manual”, com os pesos de 70% para o crescimento e 30% para uniformidade.

Para o híbrido 1, os métodos de análise de imagem utilizados interferiram de maneira semelhante nos nove lotes para as variáveis analisadas pelo SAS, exceto para o comprimento médio de raiz, no qual houve variação em função do método de avaliação utilizado, para os lotes 4, 5, 6, 7, e 8 (Tabela 5). Para esses cinco lotes, de modo geral, foi observado maior crescimento de raiz nos métodos sem TNT e com correção. Isso indica que o uso do TNT como forma de melhorar o contraste da cor entre a raiz de milho e o substrato não deve ser recomendado. Guimarães et al. (2008) também utilizou o TNT para esse fim, em plântulas de café, porém, em sua pesquisa não avaliou a interferência do TNT no desenvolvimento das plântulas dessa espécie.

Tabela 5 – Comprimento médio da raiz de plântulas de milho (cm) de 9 lotes do híbrido 1 por diferentes métodos de análise de imagem de plântulas pelo SAS, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014.

Lotes	Métodos de análise de imagem no SAS			
	Sem TNT c/ correção	Sem TNT s/ correção	Com TNT c/ correção	Com TNT s/ correção
1	4,44 cA	4,40 cA	4,52 bA	4,52 bA
2	2,25 cA	5,21 cA	5,05 bA	4,96 bA
3	4,78 cA	4,73 cA	5,08 bA	5,10 bA
4	7,66 aA	7,49 aB	6,47 aB	6,51 aB
5	7,78 aA	7,76 aB	6,38 aB	6,32 aB
6	7,13 aA	7,13 aA	6,93 aA	6,95 aA
7	5,93 bA	6,01 bA	5,20 bB	5,27 bB
8	6,15 bA	6,26 bA	4,92 bB	4,96 bB
9	5,80 bA	5,85 bA	5,34 bA	5,41 bA
CV(%)	9,22			

*As médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott no nível de 5% de significância.

Para a maioria dos lotes não houve efeito nos resultados com a correção das imagens, o que indica a eficiência do equipamento SAS na identificação da parte radicular das plântulas de milho, diminuindo o tempo necessário para a obtenção dos resultados da análise de imagens nesse equipamento. Teixeira, Cícero e Dourado Neto (2006), utilizando uma rotina de processamento no programa “Scil-Image” para a análise das imagens digitais obtidas das plântulas, verificaram que o método digital viabiliza análises dimensionais apuradas, com possibilidades de ajustes no procedimento para análises de plântulas de milho como para outras espécies.

Pode-se verificar também na tabela 5 que para os quatro métodos de análise de imagem utilizados, os lotes 4, 5 e 6 foram classificados como de alto vigor pela variável comprimento médio de raiz. De maneira similar, isso também foi observado nos resultados obtidos na caracterização dos lotes do híbrido 1, exceto para a emergência a 30 °C, onde não houve diferenças entre os

lotes. Por esses resultados é possível afirmar que o comprimento médio da raiz das plântulas foi um parametro eficiente para a avaliação do vigor de milho. Resultados semelhantes foram obtidos por Coimbra et al. (2009) que avaliaram a eficiência de diferentes testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho-doce.

Pelo resultados do comprimento médio das plântulas também foi possível classificar os lotes 4, 5 e 6 como de vigor superior aos demais lotes (Tabela 6). Resultados similares foram obtidos na classificação dos 9 lotes do híbrido 1 pelos testes tradicionais (Tabela 2), bem como o observado para a variável comprimento médio de raiz. Portanto, o comprimento inicial das plântulas de milho desse híbrido esta relacionada diretamente com o vigor das sementes, isso também foi relatado por Mondo et al. (2013) que avaliaram o efeito do vigor das sementes no crescimento inicial das plântulas de milho.

No entanto pode-se verificar que, para o híbrido 1, pelos resultados do comprimento médio do coleóptilo foi possível identificar apenas os lotes 1 e 3 como de baixo vigor, sendo que essa variável foi menos sensível na identificação de diferenças no vigor das sementes dos lotes desse híbrido do que o comprimento médio da raiz. Isso pode ter ocorrido pois, os 9 lotes do híbrido 1 apresentaram alto vigor das sementes (item 4.1), o que propicia uma maior uniformidade no crescimento da parte aérea das plântulas. Segundo Engli e Rucker (2012), sementes de alto vigor apresentam uma maior uniformidade de emergência das plântulas. Dessa maneira, para o híbrido 1, o crescimento inicial radicular esta mais relacionado com o vigor das sementes desse híbrido em comparação com o crescimento inicial da parte aérea das plântulas.

Tabela 6 – Análise de imagem das plântulas de milho dos 9 lotes do híbrido 1 pelo SAS: comprimento médio do coleóptilo e total da plântula, índices de Vigor Automático, Vigor Manual (VM), Uniformidade (U) e Crescimento (C), UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014.

Lotes	Comprimento (cm)		Índices			
	Coléop.	Total	VA	VM	U	C
1	0,94 b	5,41 e	88,2 b	40,7 d	78,1 a	24,7 d
2	1,16 a	6,29 c	88,7 b	43,7 b	79,0 a	28,5 c
3	1,02 b	5,95 d	88,7 b	42,5 c	78,3 a	27,2 c
4	1,16 a	8,19 a	93,1 a	48,7 a	73,5 b	38,1 a
5	1,29 a	8,35 a	93,8 a	50,1 a	77,2 a	38,5 a
6	0,23 a	8,26 a	93,1 a	49,1 a	74,5 b	38,2 a
7	1,25 a	6,85 b	88,6 b	45,0 b	77,5 a	31,1 b
8	1,22 a	6,79 b	88,7 b	44,6 b	76,5 a	30,9 b
9	1,21 a	6,81 b	89,2 b	44,4 b	75,6 b	31,0 b
CV(%)	13,81	9,62	1,57	5,42	5,42	9,41

*As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott no nível de 5% de significância

Pelos índices de vigor automático e manual, e o índice de crescimento foi possível classificar os lotes 4, 5 e 6 do híbrido 1 como de alto vigor, sendo essa classificação compatível com as obtidas pelos testes de vigor utilizados na caracterização desses lotes, exceto para o teste de emergência de plântulas a 30 °C (Tabela 2). Esses resultados indicam que a análise de imagens de plântulas de milho pelo equipamento SAS foi eficiente na detecção de diferenças no vigor dos lotes de sementes de milho do híbrido 1, de maneira semelhante que os testes de envelhecimento acelerado, teste de frio, primeira contagem de germinação, emergência de plântulas a 25 °C e os índices de velocidade de emergência de plântulas a 25 °C e a 30 °C.

Segundo Marcos Filho, Kikuti e Lima (2009) a análise de imagens de plântulas é uma técnica promissora para a avaliação do vigor de sementes, e trabalhos como de Alvarenga, Marcos Filho e Gomes Júnior (2012) com sementes de milho doce e de McDonald (2005) e Otoni e McDonald (2005) com

sementes de milho comum também verificaram a eficiência da análise de imagens de plântulas na avaliação do vigor utilizando SVIS.

O índice de uniformidade fornecido pelo SAS, por si só, não foi uma ferramenta eficiente na avaliação do vigor dos 9 lotes de sementes de milho do híbrido 1, visto que, com seus resultados, propiciou classificações distinta da verificada nos testes tradicionais utilizados na caracterização dos lotes. A uniformidade de crescimento das plântulas de milho está diretamente relacionado com o vigor das sementes, sendo que, sementes de alto vigor apresentam uma emergência uniforme (ENGLI; RUCKER, 2012). Como foi observado na caracterização dos lotes do híbrido 1 pelos testes de vigor tradicionais (item 4.1), eles apresentaram vigor elevado. Isso pode explicar o fato do índice de uniformidade não ter sido um parametro eficiente na avaliação do vigor dos 9 lotes sementes de milho desse híbrido.

Tabela 7 – Análise de imagem de plântulas de milho do híbrido 1 para os diferentes métodos de análise de imagem de plântulas pelo SAS: comprimento médio do coleóptilo e total da plântula, índices de Vigor Automático, Vigor Manual (VM), Uniformidade (U) e Crescimento (C), UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014.

Métodos de AI	Comprém. (cm)		Índices			
	Coléop.	Total	VA	VM	U	C
s/TNT c/ correção	1,33 a	7,43 a	89,7 b	47,5 a	79,3 a	30,1 a
s/TNT s/correção	1,44 a	7,54 a	91,2 a	46,7 a	76,3 b	30,1 a
c/TNT c/ correção	0,96 b	6,50 b	89,2 b	44,4 b	77,8 b	33,8 b
c/TNT s/ correção	0,93 b	6,48 b	90,8 a	43,1 c	73,4 c	34,1 b
CV(%)	13,81	9,62	1,57	5,42	5,42	9,41

*As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott no nível de 5% de significância.

O uso do TNT azul interferiu negativamente nos valores do: comprimento médio do coleóptilo e das plântulas e nos valores dos índices de vigor manual e de crescimento, indicando que uso do TNT azul não é indicado na análise de

imagens de plântulas de milho (Tabela 7). A correção das partes das plântulas nas imagens não interferiu nos resultados da maioria das variáveis analisadas pelo SAS. Dessa forma pode-se constatar que não há necessidade de correção das imagens analisadas no equipamento SAS, permitindo reduzir o tempo gasto para a realização do processo de análise das imagens.

Para o híbrido 2, os métodos de análise de imagem utilizados interferiram de maneira semelhante nos nove lotes de sementes de milho, para todas as variáveis analisadas pelo SAS (Tabela 8). Verificou-se grande variação quanto à classificação dos nove lotes desse híbrido entre os resultados fornecidos pelo SAS. Isso também foi observado nos resultados dos testes utilizados para a caracterização dos lotes (Tabela 3).

Tabela 8 – Análise de imagem de plântulas de milho dos 9 lotes do híbrido 2 pelo SAS: comprimento médio do coleóptilo, raiz e total da plântula, índices de Vigor Automático, Vigor Manual (VM), Uniformidade (U) e Crescimento (C), UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014.

Lotes	Comprim. (cm)			Índices			
	Coléop.	Radíc.	Total	VA	VM	U	C
A	1,17 b	5,46 c	6,63 c	91,2 a	44,4 b	77,6 a	30,2 c
B	1,18 b	5,18 c	6,36 c	92,4 a	43,5 b	77,7 a	28,8 c
C	1,18 b	5,36 c	6,55 c	91,2 a	44,2 b	77,8 a	29,8 c
D	0,97 c	6,08 b	7,04 b	85,0 c	44,9 b	73,3 b	32,8 b
E	0,78 d	5,36 c	6,14 c	83,9 c	41,2 c	70,3 b	28,7 c
F	1,06 c	6,22 b	7,28 b	84,0 c	45,2 b	71,8 b	33,8 c
G	1,13 b	5,98 b	7,11 b	87,8 b	45,7 b	76,0 a	32,7 b
H	1,35 a	6,45 a	7,80 a	88,9 b	47,8 a	76,3 b	35,6 a
I	1,39 a	6,54 a	7,93 a	89,7 b	48,5 a	77,2 b	36,2 a
CV(%)	15,71	8,73	9,39	3,20	5,52	6,04	9,06

*As médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott no nível de 5% de significância.

Pelos resultados do comprimento médio do coleóptilo foi possível classificar os lotes D, E F como de baixo vigor, sendo esse resultado também observado nos testes de envelhecimento acelerado e teste de frio, indicando que

esse parâmetro foi eficiente na avaliação do vigor dos 9 lotes do híbrido 2. Como já relatado anteriormente, o crescimento inicial das plântulas está relacionado diretamente com o vigor das sementes de milho (MONDO et al., 2013). No entanto, os resultados da classificação dos 9 lotes pelos parâmetros de comprimento médio da raiz não apresentou semelhanças com a classificação do vigor pelos testes avaliados na caracterização dos lotes do híbrido 2. Para o híbrido 2 o comprimento médio do coleóptilo foi mais eficiente na identificação do vigor dos lotes em comparação com o comprimento médio da raiz, indicado que para esse híbrido o crescimento da parte aérea da planta está mais relacionado com o vigor das sementes do que a parte radicular.

Pelo índice de vigor automático foi possível classificar os lotes D, E e F como de baixo vigor, e os lotes A, B e C como de alto vigor (Tabela 8), sendo essas classificações similares às obtidas nos testes de envelhecimento acelerado e no teste de frio (Tabela 3). A semelhança dos resultados do índice de vigor automático com os resultados obtidos no teste de frio demonstram que a calibração automática da fórmula do índice de vigor pelo SAS foi eficiente, visto que os resultados do teste de frio foram utilizados para a calibração.

A relação direta dos resultados do teste de frio com o índice de vigor automático fornecido pelo SAS é um resultado importante em relação à utilização desse equipamento na avaliação do vigor de sementes de milho. Segundo Noli et al. (2008) o teste de frio é o mais utilizado pelas indústrias produtoras de milho na avaliação do vigor dos lotes de sementes, porém esse teste necessita de 14 dias para a obtenção dos resultados, já a análise de imagens de plântulas pelo SAS necessita de apenas três dias. Dessa maneira o equipamento SAS representa um equipamento promissor para a avaliação do vigor de sementes de milho.

Para o híbrido 2, o TNT interferiu na maioria dos valores dos parâmetros avaliados pelo SAS, porém a correção das imagens das plântulas não interferiu

nesses resultados (Tabela 9). Dessa maneira, pode-se afirmar que o TNT não é indicado para melhorar o contraste entre a raiz de milho e o substrato, bem como não há a necessidade de correção das imagens das plântulas de milho analisadas no SAS.

Tabela 9 – Análise de imagem de plântulas de milho do híbrido 2 para os diferentes métodos de análise de imagem de plântulas pelo SAS: comprimento médio do coleóptilo, raiz e total da plântula, índices de Vigor Automático, Vigor Manual (VM), Uniformidade (U) e Crescimento (C), UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2014.

Métodos de AI	Comprimento (cm)			Índices			
	Coléop.	Rad.	Total	VA	VM	U	C
s/TNT c/correção	0,93 b	5,18 b	6,11 b	89,0 a	43,0 b	77,5 b	28,2 b
s/TNT s/correção	0,99 b	5,21 b	6,19 b	89,2 a	42,6 b	75,4 a	28,5 b
c/TNT c/correção	1,33 a	6,50 a	7,80 a	88,0 b	47,7 a	75,5 a	35,8 a
c/TNT s/ correção	1,29 a	6,51 a	7,82 a	86,7 b	46,9 a	72,8 b	35,8 a
CV(%)	15,71	8,73	9,39	3,20	5,52	6,04	9,06

*As médias seguidas de mesma letra nas linhas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott no nível de 5% de significância

Com os resultados obtidos nessa pesquisa pode-se verificar que o equipamento SAS é promissor para a avaliação do vigor de lotes de sementes de milho, e o *software* apresentou eficiência quanto à identificação das partes das plântulas nas imagens, não necessitando de correção destas.

5 CONCLUSÕES

O vigor de sementes de milho pode ser avaliado em plântulas obtidas em semeadura em papel toalha branco, a temperatura de 25 °C com avaliação ao terceiro dia. A análise da imagem deve ser feita com a calibração automática pelo *software* SAS, sem necessidade de correção da imagem das plântulas.

O SAS é um equipamento promissor para a avaliação do potencial fisiológico de sementes de milho.

REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, R. O.; MARCOS FILHO, J.; GOMES JUNIOR, F. G. Avaliação do vigor de sementes de milho super doce por meio da análise computadorizada de imagens de plântulas. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 488-494, set. 2012.
- ANDREOLI, C. et al. Influência da germinação da semente e da densidade de semeadura no estabelecimento do estande e na produtividade de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 24, n. 2, p. 1-5, 2002.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS. **Levantamento estatístico**. Disponível em: <<http://www.abrasem.com.br/category/estatisticas/#>>. Acesso em: 12 nov. 2013.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. Lincoln, 2009. 105 p. (Contribution, 32).
- BAALBAKI, R. et al. **Seed vigor testing handbook**. Lincoln: AOSA, 2009. 346 p. (Contribution, 32).
- BARROS, A. S. R. et al. Teste de frio. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap. 5, p. 1-5.
- BITTENCOURT, S. R. M. et al. Metodologia alternativa para condução do teste de envelhecimento acelerado em sementes de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 8, p. 1360-1365, ago. 2012.
- BITTENCOURT, S. R. M.; VIEIRA, R. D. Temperatura e período de exposição de sementes de milho no teste de envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 161-168, set. 2006.
- BRANCALION, P. H. S. et al. Priming of pioneer tree *Guazuma ulmifolia* (Malvaceae) seeds evaluated by an automated computer image analysis. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 67, n. 3, p. 274-279, maio/jun. 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Padrões para produção e comercialização de sementes de milho cultivares híbrida**. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/PDF/padroes_milho.pdf>. Acesso em: 12 nov. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 2009. 365 p.

CALIARI, M. F.; SILVA, W. R. da. Interpretação de dados de testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 239-251, jul. 2001.

CASEIRO, R. F.; MARCOS FILHO, J. Procedimentos para condução do teste de frio em sementes de milho: pré-resfriamento e distribuição do substrato no interior da câmara fria. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 24, n. 2, p. 6-11, 2002.

CASTRO, M. B. **Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho por meio da atividade respiratória**. 2011. 68 p. Tese (Doutorado Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

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

COIMBRA, R. A. et al. Testes de vigor utilizados na avaliação da qualidade fisiológica de lotes de sementes de milho-doce (sh2). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 9, p. 2402-2408, dez. 2009.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos: segundo levantamento safra 2013/14**. Brasília, 2013. 53 p.

DEPARTAMENTO DO AGRONEGÓCIO. **Safra mundial de milho 2013/14: 5º levantamento do USDA, set/13**. Disponível em: <<http://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra-mundial-de-milho-2>>. Acesso em: 12 nov. 2013.

DIAS, M. A. N.; MONDO, V. H.; CICERO, M. S. M. Vigor de sementes de milho associado à mato-competição. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 93-101, 2010.

DORNELAS, M. C.; LOBO, C. A.; VIEIRA, I. G. Avaliação do tamanho de plântulas de *Eucalyptus* spp. após a germinação, com utilização de análise de imagens digitais auxiliada por computador. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 68, p. 125-130, ago. 2005.

DUTRA, A. S.; VIEIRA, R. D. Envelhecimento acelerado como teste de vigor para sementes de milho e soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 3, p. 715-721, jun. 2004.

EGLI, D. B.; RUCKER, M. Seed vigor and the uniformity of emergence of corn seedlings. **Crop Science**, Madison, v. 52, p. 2774-2782, Nov./Dec. 2012.

FERREIRA, D. F. **Programa de análises estatísticas (Statistical Analysis Software) e planejamento de experimentos**. Lavras: UFLA, 2003. Software.

FESSEL, S. A. et al. Avaliação da qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de milho durante o beneficiamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 25, n. 2, p. 70-76, 2003.

GENEVE, R. L.; KESTER, S. T. Evaluation of seedling size following germination using computer-aided analysis of digital images from a flat-bed scanner. **HortScience**, Alexandria, v. 36, n. 6, p. 1117-1120, Oct. 2001.

GOMES-JUNIOR, F. G. et al. Evaluation of priming effects on sweet corn seeds by SVIS. **Seed Technology**, Lincoln, v. 31, n. 6, p. 95-100, 2009.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. **Digital image processing**. 3rd ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2010. 976 p.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. **Digital image processing**. 3rd ed. Reading: A. Wesley, 2007. 988 p.

GUIMARÃES, G. C. et al. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de café por meio de análise de imagens de plântulas. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA, 19., 2010, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2008. 1 CD-ROM.

HOFFMASTER, A. L. et al. An automated system for vigor testing three-day old soybean seedlings. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 31, n. 3, p. 701-713, 2003.

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

ILLIPRONTI JUNIOR, R. A. **Variation in quality of individual seeds within a seed lot of soybean [*Glycine max*(L.) Merrill]**. 1997. 157 p. Thesis (Ph.D. in Landbouw) - Wageningen University, Wageningen, 1997.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **Handbook of vigor test Methods**. Zurich, 1981. 72 p.

KIKUTI, A. L. P.; PINHO, É. V. de R. von; REZENDE, M. de L. Estudos de metodologias para condução do teste de frio em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 21, n. 2, p. 175-179, 1999.

LOPES, J. M. B. **Computação gráfica: cor e luz**. Lisboa: Universidade Técnica de Lisboa 2003. 45 p.

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

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

MARCOS FILHO, J. Sistema computadorizado de análise de imagens de plântulas (SVIS) para avaliação do vigor de sementes. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 20, n. 3, p. 40-44, out. 2010.

MARCOS-FILHO, J. et al. Assessment of melon seed vigour by an automated computer imaging system compared to traditional procedures. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 34, n. 2, p. 485-497, July 2006.

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, jan./fev. 2009.

MATTHEWS, S. et al. Early counts of radicle emergence during germination as a repeatable and reproducible vigour teste for maize. **ISTA New Bulletin**, Zurich, n. 141, p. 20-26, Apr. 2011.

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

MCDONALD, M. B. The Ohio State University Seed Vigor Imaging System (SVIS) for soybean and corn seedlings. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 27, n. 1, p. 7-24, Feb. 2005.

MCDONALD, M. B. et al. **System and method for determining a seed vigor index from germinated seedlings by automatic separation of overlapped seedlings**. US n. 7.372.978 B2, 13 May 2008. Columbus: Ohio State University Research Foundation, 2008.

MCDONALD, T.; CHEN, Y. R. Application of morphological image processing in agriculture. **American Society of Agricultural and Biological Engineers**, Saint Joseph, v. 33, n. 4, p. 1346-1352, 1990.

MONDO, V. H. V. et al. Seed vigor and initial growth of corn crop. **Journal of Seed Science**, Zurich, v. 35, n. 1, p. 64-69, 2013.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 2.1-2.21.

NERY, M. C.; CARVALHO, M. L. M.; GUIMARÃES, R. M. Testes de vigor para avaliação da qualidade de sementes de nabo forrageiro. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 19, n. 1, p. 9-20, 2009.

NOLI, E. et al. Suitability of three vigour test procedures to predict field performance of early sown maize seed. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 36, n. 1, p. 168-176, Apr. 2008.

OAKLEY, K.; KESTER, S. T.; GENEVE, R. L. Computer-aided digital image analysis of seedling size and growth rate for assessing seed vigour in impatiens. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 32, p. 837-845, Apr. 2004.

OHLSON, O. C. et al. Teste de envelhecimento acelerado de trigo. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 118-124, 2010.

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

PINHO, E. V. R. Von et al. Efeitos no tratamento fungicida sobre a qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 17, n. 1, p. 23-28, 1995.

ROCHA, C. R. M. **Avaliação da qualidade de sementes de girassol por meio de análise de imagens**. 2012. 68 p. Dissertação (Mestrado Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2012.

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

SILVA, C. B. et al. Automated system of seedling image analysis (SVIS) and electrical conductivity to assess sun hemp seed vigor. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 55-60, mar. 2012.

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

SOUZA, S. A.; NAKAGAWA, J.; MACHADO, C. G. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de aveia preta. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 155-163, 2009.

TEIXEIRA, E. F. **Análise de imagens digitais na avaliação de plântulas de milho**. 2004. 73 p. Tese (Doutorado Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2004.

TEIXEIRA, E. F.; CICERO, S. M.; DOURADO NETO, D. Análise de imagens digitais de plântulas para avaliação do vigor de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 28, n. 2, p. 159-167, 2006.

TEKRONY, D. M. Precision is an essential component in seed vigour testing. **ISTA New Bulletin**, Zurich, v. 31, n. 2, p. 435-447, 2003.

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

VANZOLINI, S.; CARVALHO, N. M. Efeito do vigor de sementes de soja sobre o seu desempenho em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 24, n. 1, p. 33-41, 2002.

WRASSE, C. F. et al. Testes de vigor para sementes de arroz e sua relação com o comportamento de hidratação de sementes e a emergência de plântulas. **Científica**, Jaboticabal, v. 37, n. 2, p. 107-114, 2009.