



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
MESTRADO EM AGRONOMIA

OBTENÇÃO DE CLASSES DE VIGOR E VIABILIDADE EM SEMENTES DE  
*Urochloa brizantha* cv MARANDU, ATRAVÉS DE IMAGENS DE TESTE DE  
TETRAZÓLIO

RAFAELLE PERSOLI DE AGUIAR

**OBTENÇÃO DE CLASSES DE VIGOR E VIABILIDADE EM SEMENTES DE  
*Urochloa brizantha* cv MARANDU, ATRAVÉS DE IMAGENS DE TESTE DE  
TETRAZÓLIO**

**RAFAELLE PERSOLI DE AGUIAR**

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia – Área de concentração: Fisiologia e Tecnologia da Produção Vegetal.

Orientador:  
Prof. Dr<sup>a</sup>. Ceci Castilho Custódio

633.2  
A282o

Aguiar, Rafaelle Persoli de.

Obtenção de classes de vigor e viabilidade em sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu, através de imagens de teste de tetrazólio./ Rafaelle Persoli de Aguiar. – Presidente Prudente, 2017.

70 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2017.

Bibliografia.

Orientador: Ceci Castilho Custódio

1. Forrageiras. 2. *Poaceae*. 3. Imagens Digitalizadas. I. Título.

Campus I Rua José Bongiovani, 700 · Cidade Universitária · CEP 19050 920 · Presidente Prudente - SP · Tel|Fax: 18 3229 1000

Campus II Rodovia Raposo Tavares, Km 572 · Bairro Limoeiro · CEP 19067 175 · Presidente Prudente - SP · Tel|Fax: 18 3229 2000

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "OBTENÇÃO DE CLASSES DE VIGOR E VIABILIDADE EM SEMENTES DE  
*Urochloa brizantha* cv MARANDU, ATRAVÉS DE IMAGENS DE TESTE DE TETRAZÓLIO"

AUTOR(A): RAFAELLE PERSOLI DE AGUIAR

ORIENTADOR(A): CECI CASTILHO CUSTÓDIO

Aprovado(a) como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE em  
AGRONOMIA

Área de Concentração PRODUÇÃO VEGETAL, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. Alessandra Ferreira Ribas



UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

Profa. Dra. Ceci Castilho Custódio



UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

Profa. Dra. Charline Zaratini Alves



Universidade Federal do Mato Grosso do Sul / Chapadão do Sul (MS)

Data da realização: 07 de dezembro de 2017.

## DEDICATÓRA

*“Dedico inteiramente às pessoas que compõem minha vida, meus pais Renato de Aguiar e Rubia Persoli de Aguiar, minha irmã Renata Persoli de Aguiar e ao meu namorado Celso Renan Burgueti Lopes. São eles que me motivam, amparam, alegram. Tornei-me a pessoa que sou hoje graças a eles, pois na minha existência, tem um pedacinho de cada um. Jamais mediram esforço algum quando eu era assunto. Dedico àqueles que fazem minha vida ter sentido, amor, que me fazem dar valor a cada momento que estamos juntos. Dedico àqueles que amo imensuravelmente.”*

## **AGRADECIMENTOS**

*Agradeço primeiramente á Deus e a Nossa Senhora Aparecida, pela bênção e amparo tão grande que recebo em todos os dias da minha vida.*

*Agradeço á minha amada família por sempre se dedicarem ao máximo pela minha felicidade, saúde, por jamais me abandonarem. Agradeço, por todo amor que recebo, por toda proteção e por estarem comigo nos momentos mais difíceis, por serem meus melhores amigos, por sempre colocarem um sorriso em meu rosto.*

*Agradeço a todos os professores, por dedicarem sua vida em prol de meu conhecimento. Por sempre que precisei estarem me auxiliando.*

*Agradeço imensuravelmente minha orientadora Prof. Dr. Ceci Castilho Custódio e a minha Co-Orientadora Prof. Dr. Fabiana Lima Abrantes, por todo carinho e dedicação que sempre tiveram comigo, não só no período do meu mestrado, mas desde minha graduação.*

*Agradeço a Prof. Dr. Alessandra Ferreira Ribas por todo o auxílio prestado em minhas bancas de acompanhamento de projeto no mestrado.*

*Agradeço a Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE pela infraestrutura utilizada para realização da pesquisa.*

*Agradeço as empresas: Soesp, Matsuda e Cooapi, de onde vieram as sementes utilizadas no projeto.*

*“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.”  
(Charles Chaplin).*

## RESUMO

### **OBTENÇÃO DE CLASSES DE VIGOR E VIABILIDADE EM SEMENTES DE *Urochloa brizantha* cv Marandu, ATRAVÉS DE IMAGENS DE TESTE DE TETRAZÓLIO**

A velocidade e a amplitude da expansão de pastagens tropicais, no Brasil, estão associadas à disponibilidade de sementes de alta qualidade, dessa maneira o país é considerado o maior produtor, consumidor e exportador de sementes de gramíneas forrageiras tropicais do mundo. O objetivo desse trabalho foi o estabelecimento de classes de vigor para sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu via imagens digitalizadas realizadas a partir do teste de tetrazólio. O projeto foi realizado no período de março a dezembro de 2016, no Laboratório de Sementes da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), em Presidente Prudente, SP. As análises foram realizadas em dois experimentos, utilizando seis lotes de sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu, com o intuito de classificar as sementes em três classes distintas, sendo elas: viáveis e vigorosas, viáveis e não vigorosas e não viáveis. Na segunda etapa além do diferencial de utilização de duas partes da semente para o teste de tetrazólio foram utilizadas duas concentrações 0,1% e 1% de sal 2, 3, 5 trifenil cloreto de tetrazólio. Os testes realizados foram: teste de germinação, teste de tetrazólio, teste de emergência, IVE (índice de velocidade de emergência), comprimento de parte aérea e raiz e massa de matéria seca de parte aérea e raiz. Todos os testes realizados seguiram as normas referentes às Regras para Análise de Sementes. A utilização de imagens digitalizadas através dos dois métodos (escâner e câmera) se mostrou eficiente para determinação de viabilidade das sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu, porém os resultados de classificação de vigor de sementes, através de imagens digitalizadas, utilizando testes de vigor, não foram promissores.

**Palavras-chave:** Forrageiras. Qualidade fisiológica de semente. *Poaceae*. Vitalidade. Imagens digitalizadas.



## ABSTRACT

### OBTAINING VIGOR CLASS AND VIABILITY IN SEED *Urochloa brizantha* cv Marandu THROUGH TETRAZOLIUM TEST PATTERNS

The speed and amplitude of tropical pasture expansion in Brazil are associated with the availability of high quality seeds, thus the country is considered the largest producer, consumer and exporter of tropical forage grass seed in the world. The objective of this work was the establishment of vigor classes for seeds of *Urochloa brizantha* cv Marandu via digitized images made from the tetrazolium test. The project was carried out from March to December 2016 at the University of Oeste Paulista (UNOESTE) Seed Laboratory in Presidente Prudente, SP. The analyzes were carried out in two experiments using six seed lots of *Urochloa brizantha* cv Marandu, in order to classify the seeds into three distinct classes: viable and vigorous, viable and non - vigorous and non - viable. In the second step besides the differential use of two parts of the seed for the tetrazolium test two concentrations were used 0.1% and 1% of salt 2, 3, 5 triphenyl tetrazolium chloride. The tests carried out were: germination test, tetrazolium test, emergency test, IVE (emergence speed index), shoot length and root and dry matter mass of shoot and root. All the tests performed followed the rules for the Rules for Seed Analysis. The use of scanned images through the two methods (scanner and camera) proved to be efficient for determination of the viability of the seeds of *Urochloa brizantha* cv Marandu, but the results of seed vigor classification using scanned images using vigor tests did not were promising.

**Keywords:** Forages. Physiological quality of seed. *Poaceae*. Vitality. Scanned images

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - <i>Urochloa</i> spp.....	22
FIGURA 2 - <i>Urochloa</i> spp. Avaliação de viabilidade das sementes.....	41
FIGURA 3 - <i>Urochloa brizantha</i> cv Marandu, teste de tetrazólio, classe 1.....	42
FIGURA 4 - <i>Urochloa brizantha</i> cv Marandu, teste de tetrazólio, classe 2.....	43
FIGURA 5 - <i>Urochloa brizantha</i> cv Marandu, teste de tetrazólio, classe 3.....	44

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	Valores médios obtidos de germinação (G), emergência (E) e índice de velocidade de emergência (IVE) em lotes de sementes de <i>Urochloa brizantha</i> cv. Marandu, na primeira etapa.....	47
TABELA 2 -	Valores médios obtidos de comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), comprimento total (CT), matéria seca de parte aérea (MSPA), matéria seca de raiz (MSR) e matéria seca total (MST) em lotes de sementes de <i>Urochloa brizantha</i> cv. Marandu, na primeira etapa.....	48
TABELA 3 -	Valores médios obtidos para classe vigorosa (Vig) e viabilidade (V) através dos três métodos de leitura em lotes de sementes de <i>Urochloa brizantha</i> cv. Marandu, na primeira etapa.....	49
TABELA 4 -	Valores médios obtidos para germinação por plântulas normais (G), germinação + viabilidade de sementes remanescentes (G + Remas), emergência de plântulas e índice de velocidade de emergência (IVE) em lotes de sementes de <i>Urochloa brizantha</i> cv. Marandu, na segunda etapa.....	50
TABELA 5 -	Valores médios obtidos para comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), comprimento total (CT), matéria seca de parte aérea (MSPA), matéria seca de raiz (MSP) e matéria seca total (MST) em lotes de sementes de <i>Urochloa brizantha</i> cv. Marandu, na segunda etapa.....	52
TABELA 6 -	Valores médios obtidos para sementes vigorosa (Vig) e viabilidade (V) pelo teste de tetrazólio através dos três métodos de leitura de tetrazólio na concentração de 0,1% de sal 2, 3, 5 trifênil cloreto de tetrazólio em lotes de sementes de <i>Urochloa brizantha</i> cv. Marandu, na segunda etapa.....	54
TABELA 7 -	Valores médios obtidos para sementes vigorosas (Vig) e viabilidade (V) através dos três métodos de leitura de tetrazólio na concentração de 1% de sal 2, 3, 5 trifênil cloreto de tetrazólio em lotes de sementes de <i>Urochloa brizantha</i> cv. Marandu, na segunda etapa.....	55
TABELA 8 -	Coefficientes de correlação simples de Pearson (r) em relação à classe vigorosa de sementes, estimados entre a leitura fresca de tetrazólio com os outros métodos de leitura, por imagens digitalizadas por scanner e câmera e em duas concentrações do sal 2, 3, 5 trifênil cloreto de tetrazólio em lotes de sementes de <i>Urochloa brizantha</i> cv. Marandu, na segunda etapa.....	56

TABELA 9 -	Coeficientes de correlação simples de Pearson (r) em relação à viabilidade de sementes, estimados entre a leitura fresca de tetrazólio com os outros métodos de leitura, por imagens obtidas por scanner e câmera e em duas concentrações do sal 2, 3, 5 trifenil cloreto de tetrazólio em lotes de sementes de <i>Urochloa brizantha</i> cv Marandu, utilizando, na segunda etapa.....	57
TABELA 10 -	Coeficientes de correlação simples de Pearson (r) estimados entre os testes de qualidade e vigor de sementes e os resultados do teste de tetrazólio nos diferentes métodos de leitura de tetrazólio para sementes vigorosa em duas concentrações do sal 2, 3, 5 trifenil cloreto de tetrazólio em lotes de sementes de <i>Urochloa brizantha</i> cv Marandu, na segunda etapa.....	58
TABELA 11 -	Coeficientes de correlação simples de Pearson (r) para viabilidade de sementes, estimados entre os testes de germinação (G) e germinação + viabilidade de sementes remanescentes (G + Remas) e os resultados do teste de tetrazólio nos diferentes métodos de leitura de tetrazólio em duas concentrações do sal 2, 3, 5 trifenil cloreto de tetrazólio em lotes de sementes de <i>Urochloa brizantha</i> cv Marandu, na segunda etapa.....	59

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	15
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	16
<b>3.1</b>	<b>Histórico das sementes forrageiras no Brasil</b> .....	16
<b>3.2</b>	<b>Uso de gramíneas forrageiras</b> .....	16
<b>3.3</b>	<b>Gênero <i>Urochloa</i></b> .....	18
3.3.1	<i>Urochloa brizantha</i> cv Marandu.....	18
<b>3.4</b>	<b>Qualidade de semente</b> .....	19
<b>3.5</b>	<b>Morfologia de sementes de <i>Urochloa</i> spp</b> .....	21
<b>3.6</b>	<b>Utilização de imagens digitalizadas</b> .....	23
<b>3.7</b>	<b>Germinação</b> .....	25
<b>3.8</b>	<b>Vigor de sementes</b> .....	26
<b>3.9</b>	<b>Teste de tetrazólio</b> .....	30
<b>3.10</b>	<b>Parâmetros de avaliação fisiológica</b> .....	34
3.10.1	Teste de IVE e comprimento de plântula.....	34
3.10.2	Matéria seca de plântula.....	35
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	37
<b>4.1</b>	<b>Local do experimento e material utilizado</b> .....	37
<b>4.2</b>	<b>Testes realizados</b> .....	37
4.2.1	Teste de germinação.....	37
4.2.2	Teste de tetrazólio.....	38
4.2.2.1	Experimento um.....	38
4.2.2.2	Experimento dois.....	39
4.2.2.3	Determinação das classes de vigor.....	41
4.2.3	Emergência em bandeja (índice de velocidade de emergência).....	45
4.2.4	Comprimento de parte aérea e raiz.....	46
4.2.5	Matéria seca.....	46
<b>4.3</b>	<b>Análise estatística</b> .....	46
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	47
<b>5.1</b>	<b>Experimento um</b> .....	47
<b>5.2</b>	<b>Experimento dois</b> .....	49
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	61
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	62

## 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Urochloa*, pertence a família Poaceae e reúne cerca de 100 espécies, sendo algumas de grande importância econômica como as forrageiras (RENVOIZE; CLAYTON; KABUYE, 1996). Com base em estudos florísticos e moleculares, foi sugerida uma nova nomenclatura para algumas espécies, antes formalmente inseridas no gênero *Brachiaria*, incluindo-as no gênero *Urochloa*. Esta nova sistemática tem sido utilizada como forma de sinônimo para algumas espécies do gênero *Urochloa*, sendo nomeadas *U. brizantha*, *U. decumbens*, *U. dictyoneura*, *U. humidicola* e *U. ruziziensis* (GONZÁLEZ; MORTON, 2005).

A qualidade das sementes, independente da cultura, é de fundamental importância para os produtores, pois delas vem à possibilidade de formações de plântulas vigorosas, uniformes, ausência de patógenos transmitidos por sementes, refletindo assim em maior produção, o que gera lucro aos produtores.

Desta maneira, várias empresas de sementes utilizam testes rápidos e precisos para avaliar a qualidade de um lote de sementes. Entre eles o que mais se destaca é o teste de tetrazólio, pois oferece informações de forma mais rápida que os demais testes, proporcionando dados em relação à viabilidade e vigor das sementes. Para a avaliação dos dados obtidos pelo teste, é necessário que os analistas tenham treinamento específico, para que os resultados sejam precisos.

O teste de tetrazólio é de fundamental importância para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes, pois permite analisar suas estruturas essenciais. Além de o teste analisar viabilidade e vigor das sementes, para algumas culturas como a soja, segundo Moore (1973) e França Neto (1984) é possível identificar também danos mecânicos, deterioração por umidade, danos de percevejo, danos por seca e altas temperaturas, danos de secagem excessiva, danos por geada. Com toda essa precisão, é possível verificar a causa do dano e resolvê-lo, e quando for mecânico ou por percevejo planejar correção para a próxima safra. Devido a isso, pode-se dizer que cada vez mais o teste de tetrazólio tem se tornado rotina nas empresas de sementes.

Para as sementes de gramíneas forrageiras, o teste de tetrazólio está desenvolvido apenas para viabilidade, até o momento, não foram encontrados

relatos que estabelecem classes de vigor, como a soja, algodão, amendoim, milho, feijão, trigo, entre outras.

Uma proposta interessante é a utilização de imagens realizadas a partir do teste de tetrazólio para sua interpretação. A vantagem é a possibilidade de ter as imagens armazenadas e o fato da análise poder ser mais detalhada e realizada com calma pelos analistas, já que quando a análise é realizada no laboratório, com o auxílio de uma lupa de iluminação fluorescente, deve ser realizada rapidamente, já que as sementes começam a desidratar, prejudicando a visualização das estruturas da semente e podendo alterar o resultado final.

Sendo assim, o presente trabalho se propõe a estudar métodos de realização do teste de tetrazólio em sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu, para ampliar a abrangência do teste para, além da viabilidade, estabelecer-se também classes de vigor e adicionalmente verificar a possibilidade de avaliações via imagens digitalizadas.

## 2 OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho foi estudar metodologias do teste de tetrazólio para o estabelecimento de classes de vigor para sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu e comparação de leituras de imagens digitalizadas via escâner e câmera digital com leituras convencionais, usando lotes com qualidade conhecida por testes usualmente empregados para avaliação de qualidade fisiológica de lotes de sementes.



### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Histórico das sementes forrageiras no Brasil

Segundo Souza (2003), a produção de sementes forrageiras na história do Brasil seguiu em três fases. A primeira, anterior aos anos 1970, com poucas áreas cultivadas. O suprimento das sementes era insatisfatório, cuja introdução deu-se de forma acidental pelos escravos africanos. Entre as espécies africanas estavam o capim colônia (*Panicum maximum*), o estrela (*Cynodon plectostachyus*), o capim gordura (*Melinis minutiflora*) e o jaraguá (*Hyparrhenia rufa*). A segunda fase, no início dos anos 1970 priorizou a importação de sementes oriundas da Austrália, caracterizada por algumas espécies do gênero *Urochloa*, tais como *U. decumbens* cv. Basiliski, *U. ruziziensis*, *U. humidicola*, entre outras gramíneas e leguminosas forrageiras.

A terceira fase, que é presente até os dias de hoje, corresponde ao período em que as cultivares estão sendo desenvolvidas pelo sistema oficial de pesquisa brasileira. Desde então, instituições de pesquisas como Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária) vêm lançando novas cultivares forrageiras. A Embrapa em 1984 lançou a *Urochloa brizantha* (Syn. *Brachiaria brizantha*) cv. Marandu popularmente conhecida como brizantão ou braquiarião (NUNES; PENTEADO; GOMES, 1984).

#### 3.2 Uso de gramíneas forrageiras

Plantas forrageiras podem ser definidas como todas aquelas consumidas por herbívoros e, por isso, abrangem variada gama de gêneros e espécies, desde herbáceas até arbustivas (PEREIRA, 2001). Dentre as espécies mais utilizadas na implantação de pastagens estão as do gênero *Urochloa* (GERDES, 2000).

As plantas constituintes das pastagens, ou plantas forrageiras, são aquelas consumidas por animais, em geral ruminantes, e que concorrem para seu desenvolvimento e reprodução. As forrageiras bem sucedidas, por sua vez, são aquelas que desenvolveram, ao longo de sua evolução, mecanismos de escape ao

superpastejo e aos predadores, além de adaptação a condições edafo-climáticas adequadas à sua sobrevivência e dispersão. Esse tipo de estratégia exigiu forte e constante exposição a herbívoros e, talvez por essa razão, as gramíneas africanas, tais como as dos gêneros *Panicum*, *Urochloa*, *Pennisetum*, são utilizadas para formação de pastagens no mundo tropical (WALTON, 1983).

Nas regiões tropicais brasileiras há expressivo uso de gramíneas forrageiras do gênero *Urochloa* spp, com destaque para as espécies *U. decumbens*, *U. brizantha*, *U. humidicola* e *U. ruziziensis* (PIRES, 2006). Além de extensas áreas de pastagens perenes voltadas à bovinocultura, tem aumentado a demanda de sementes de braquiárias para cobertura do solo no sistema plantio direto e para compor pastagens sazonais em programas de integração lavoura-pecuária (CRUSCIOL et al., 2009).

A utilização de pastagens constitui, desse modo, a principal fonte de alimentação do rebanho bovino nacional. Isso ocorre, possivelmente, em função da praticidade de exploração das pastagens e do baixo custo de produção desse tipo de alimento comparativamente aos alimentos concentrados (PORTO, 2012).

O Brasil apresenta condições edafoclimáticas favoráveis ao desenvolvimento das pastagens, sendo esta a principal fonte de alimento tanto para a bovinocultura de corte como de leite. A pecuária brasileira, especialmente no Brasil Central, tem como base o sistema de produção extensivo com uso de pastagens. Estimativas admitem que 80 a 90% das áreas de pastagens no país são constituídas por capins do gênero *Urochloa* (BODDEY, 2004).

As espécies deste gênero são extremamente importantes para as regiões pecuárias, principalmente devido às seguintes características: adaptam-se a vários tipos de solos, em particular aos de baixa fertilidade, possuem elevado valor nutritivo, produção de massa seca, poucos problemas fitopatológicos e crescimento vigoroso durante a maior parte do ano, inclusive no período seco (BOTREL; NOVAES; ALVIM, 1998; COSTA et al., 2005).

As áreas que são referentes à pecuária correspondem a 210 milhões de hectares, sendo 20% do território nacional para pecuária, enquanto que 10% são destinadas as áreas agrícolas. No Estado de São Paulo as áreas com pastagens representam 39,37% do total, sendo que desta, 89% é cultivada com gramíneas do gênero *Urochloa* (LUPA, 2008).

### 3.3 Gênero *Urochloa*

O gênero *Urochloa*, pertence à família Poaceae e reúne cerca de 100 espécies, sendo algumas de grande importância econômica como as forrageiras (RENVOIZE; CLAYTON; KABUYE, 1996).

As espécies de *Urochloa* spp. são importantes forrageiras de regiões tropicais como a África, Ásia, Austrália e América do Sul (FERRAZ, 2003).

A área ocupada por espécies forrageiras cultivadas no Brasil corresponde a cerca de 117 milhões de hectares, sendo que 50% desta área é ocupada por *Urochloa brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf., com predominância ampla das cultivares Marandu e Xaraés (MACEDO et al., 2013). No mercado de sementes de forrageiras estima-se que estas duas cultivares respondam por 60% da produção de sementes e 53% das exportações do país (WITT et al., 2015).

Devido à alta produção de matéria seca, boa adaptação a diferentes solos, crescimento durante a maior parte do ano, proporcionar produções satisfatórias de forragem em solos com baixa a média fertilidade as espécies de *Urochloa* são as forrageiras mais importantes nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Norte do Brasil (SOARES FILHO, 1994; EUCLIDES, et al., 2010).

As áreas de pastagens cultivadas com espécies do gênero *Urochloa*, quando comparada com outras forrageiras, vem ganhando cada vez mais espaço no Brasil, principalmente por ser rústica, permitindo adaptação as mais variadas condições, tanto de clima quanto de solo. O país exporta semente com valor cultural em torno de 80% para cerca de 40 países, sendo o maior produtor e exportador de sementes forrageiras tropicais do mundo (CARDOSO et al., 2014).

#### 3.3.1 *Urochloa brizantha* cv Marandu

A *Urochloa brizantha* (Syn. *Brachiaria brizantha*) é originária do Zimbábue, na África e é considerada uma espécie perene que diferencia-se da *Urochloa decumbens* e *Urochloa ruziziensis* pelo seu porte quase ereto. Apresenta folhas glabras com colmos eretos ou suberetos, porte de 1 a 1,5 m de altura, com rizomas curtos e inflorescências formadas por 2 a 12 racemos (EMBRAPA GADO DE CORTE, 1980). Suas raízes são profundas, o que favorece sua sobrevivência

durante períodos de seca prolongados. Desenvolve-se bem na maioria dos solos, arenosos ou argilosos, inclusive ácidos, mas requerem um índice pluviométrico acima de 500 mm por ano. É moderadamente tolerante à seca, desenvolvendo-se bem em solos não úmidos (COSTA et al., 2001; VILELA, 2009).

O capim-marandu foi lançado no Brasil pela Embrapa Gado de Corte e Embrapa Cerrados em 1984 (EMBRAPA GADO DE CORTE, 1980). Apresenta diversas sinonímias segundo a região, contudo, no Brasil é comumente chamada de braquiário ou brizantão (VILELA, 2009).

É o capim mais cultivado no Brasil, e na região Norte, onde outras espécies do gênero *Urochloa* foram inviabilizadas pelo ataque de cigarrinha-das-pastagens, o Marandu é a cultura que ocupa a maior área de pastagens cultivadas (SENRA, 2006).

Seu valor nutritivo é considerado entre moderado e bom, considerando-se consumo, digestibilidade e composição química. Com duas a seis semanas de rebrote, apresenta em média, digestibilidade da matéria seca entre 65 e 72%; teores de proteína bruta entre 7 e 15%; teores de fósforo de 0,15 a 0,17% e de cálcio entre 0,14 e 0,22% (COSTA et al., 2001).

### **3.4 Qualidade de sementes**

Dentre as várias referências que se encontram na literatura, no que diz respeito à avaliação da qualidade fisiológica de um lote de sementes, destacam-se Spina e Carvalho (1986), os quais relatam que um lote poderia ser razoavelmente bem avaliado, usando-se o teste de germinação, porém os testes de vigor representariam melhor o desempenho do lote em campo.

A semente é considerada estrutura de sobrevivência da espécie. São fontes diretas e indiretas de alimentos para homens e animais e contribuem decisivamente para o sucesso do estabelecimento do estande desejado em cultivos em campo. A qualidade de um lote de sementes depende da interação de uma série de características de natureza genética, física, sanitária e fisiológica. A disponibilidade de sementes de alta qualidade é de fundamental importância para a expansão e renovação de áreas agrícolas no Brasil (MARCOS FILHO, 2015).

O crescente uso de gramíneas forrageiras e a eficiência dos produtores de sementes resultaram no desenvolvimento da indústria de sementes forrageiras tropicais no Brasil (SILVA FILHO, 2009). Sendo assim, o Brasil se tornou o maior produtor, consumidor e exportador mundial de sementes de *Urochloa*. Nos últimos anos as empresas do setor sementeiro têm se deparado com um mercado internacional exigente e consciente da importância de se adquirir sementes com bons atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários porque o desempenho das sementes em condições de campo tem relação com o seu potencial fisiológico (SILVA; GAMEIRO, 2006; VERSZIGNASSI, 2013).

Nas duas últimas décadas, foi notável o aumento da área de pastagens formadas com gramíneas do gênero *Urochloa*, acompanhado de aumento proporcional na produção e comercialização das suas sementes. Diversos agentes interagem nesse processo de produção, que representa um faturamento anual de milhões de dólares e a manutenção de milhares de empregos. Apesar da importância econômica e social, a viabilidade das sementes produzidas pelas espécies deste gênero é variável (DIAS; ALVES, 2008).

A qualidade de um lote de sementes resulta da interação de características que determinam o seu valor para a semeadura. É o principal foco da tecnologia de sementes, sempre visando o retorno econômico (MARCOS FILHO, 2015). É um fenômeno complexo que correlaciona resultados de testes laboratoriais e o seu desempenho em campo.

Segundo Menezes (2012), a qualidade fisiológica indica a capacidade das sementes germinarem e estabelecerem uma população adequada de plantas, avaliada entre os produtores como causa de maior preocupação, pois sementes sem bons atributos, genéticos, físicos e sanitários não são indicadas para a semeadura.

A alta qualidade das sementes reflete indiretamente no resultado final da cultura (ANDREOLI et al., 2002), proporcionando uniformidade de população, alto vigor de plântulas e plantas (DIAS et al., 2010), ausência de patógenos transmitidos por sementes e, conseqüentemente, maior produção. Portanto, avaliações que permitam a obtenção de informações seguras sobre o potencial fisiológico das sementes são de importância fundamental para as decisões a serem tomadas durante o processo produtivo e de comercialização das mesmas (BITTENCOUR et al., 2012).

Assim, diferentes procedimentos para a avaliação da qualidade das sementes têm sido empregados, principalmente os que permitem a identificação de lotes com alto ou baixo vigor (MCDONALD, 1998; HAMPTON, 2002; TEKRONY, 2003).

Ainda com relação ao controle de qualidade, a avaliação fisiológica das sementes de pastagens é realizada. Apenas pelo teste de germinação, que é conduzido em condições ideais de ambiente de laboratório (TOMAZ et al., 2010; 2015; 2016). Por isso, este teste pode superestimar o potencial fisiológico das sementes, uma vez que o desempenho de lotes com porcentagens de germinação similares podem diferir no campo quanto à porcentagem e uniformidade de emergência de plântulas devido ao vigor das sementes (MARCOS FILHO, 2015).

Nas empresas produtoras de sementes de grandes culturas agrícolas, os testes de vigor são utilizados para complementar as informações obtidas pelo teste de germinação, cujos resultados, considerados em conjunto, são utilizados no controle de qualidade, auxiliando na tomada de decisões quanto ao manejo dos lotes durante as etapas de pré e pós-colheita, quanto ao destino destes, bem como às prioridades de comercialização, semeadura em campo, regiões de distribuição e potencial de armazenamento (COIMBRA et al., 2009; CUSTÓDIO et al., 2012; MARCOS FILHO, 2015).

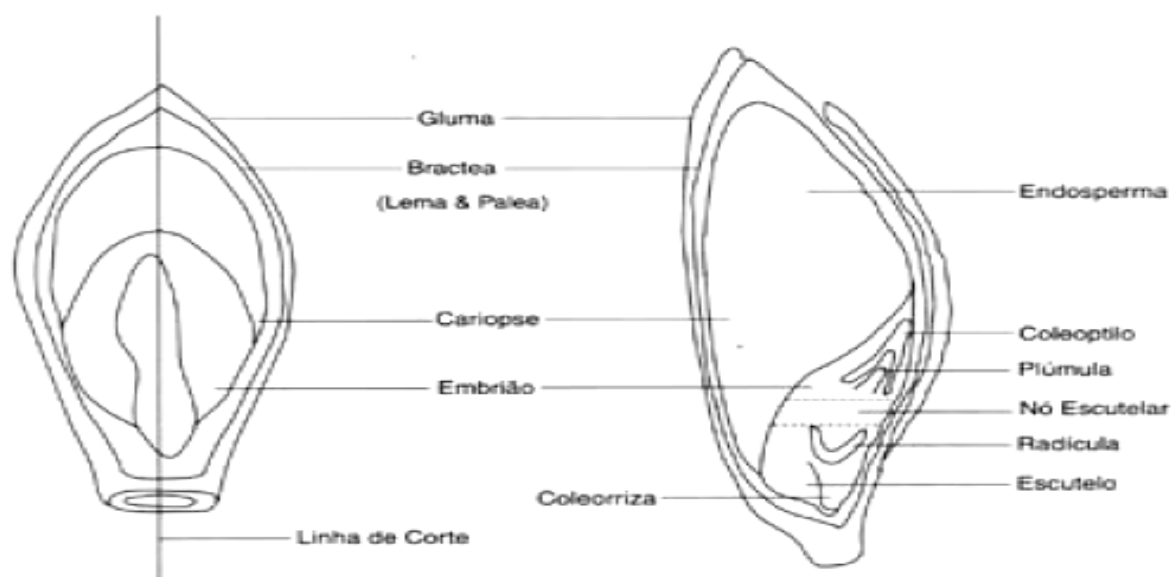
### **3.5 Morfologia da semente de *Urochloa* spp.**

É de fundamental importância conhecer as partes que constituem a semente, para realizar uma avaliação adequada dos testes efetuados.

Após a fertilização, o zigoto é envolvido por parede celular e, em seguida, ocorrem diversas divisões celulares, resultando numa massa de células que se desenvolve e origina o embrião da semente. O embrião é uma estrutura totipotente. Essa característica reflete a capacidade de regeneração de um organismo a partir de uma célula, sendo característica dos vegetais. Conseqüentemente, o embrião dispõe de todas as informações necessárias para crescer e dar origem a uma planta adulta, de modo que a embriogênese pode ser visualizada ou encarada como uma preparação para o futuro sucesso da

germinação. Durante a embriogênese, ocorre aumento tanto do número como do tamanho de células e a diferenciação de tecidos (MARCOS FILHO, 2015).

FIGURA 1- Semente de *Urochloa* spp.



Fonte: (BRASIL, 2009).

Glumas são cada uma das duas peças (lema e pálea) escamiformes, escariosas ou paleáceas que se encontram na base do antéculo fértil (lema fértil e pálea fértil) de Gramíneas. A pálea é a glumela seca, superior ou interna da espiguetas das gramíneas. A lema é a glumela inferior ou externa (bractéola fértil) da espiguetas das gramíneas (BRASIL, 2009).

Durante o desenvolvimento do embrião, o núcleo do endosperma também passa por divisões sucessivas, acompanhadas ou não pela formação de paredes celulares, formando uma massa celular que pode preencher todo o espaço não ocupado pelo embrião. A diferenciação desse tecido inclui a deposição de reservas não provenientes da transferência de matéria seca da planta-mãe para a semente em desenvolvimento. Dessa maneira, forma-se o endosperma. O embrião pode utilizar o tecido endospermático para o seu desenvolvimento, tendo a função de fornecer proteção e suporte nutritivo para o desenvolvimento do embrião ou para a germinação, de modo que sua composição é compatível com as necessidades embrionárias (MARCOS FILHO, 2015).

O cariópsis é definido como, sementes-frutos, simples, sendo o fruto típico das gramíneas e é genericamente denominado de grão (BRASIL, 2009).

Coleóptilo é parte do escutelo que protege a plúmula em gramíneas, fotossensível, tendo crescimento paralisado quando exposto á luz, apresenta um poro apical, de modo que a plúmula pode rompê-lo e continuar seu desenvolvimento. A plúmula é uma massa de células meristemáticas, constituindo a gema apical ou broto vegetativo do embrião, acompanhada ou não pelo desenvolvimento dos primórdios foliares. A partir da plúmula se desenvolvem os primórdios foliares, o epicótilo, o caule e as folhas do vegetal (MARCOS FILHO, 2015).

O nó escutelar é a parte do eixo embrionário, a partir do qual se origina uma folha (BRASIL, 2009).

O escutelo é a estrutura de armazenamento temporário de reservas ou uma estrutura de transferência de reserva do endosperma e de proteção ao eixo embrionário, em monocotiledôneas. A coleoriza é a camada de tecido que forma uma “capa” protetora da radícula, em várias gramíneas, e a radícula é a raiz rudimentar. (MARCOS FILHO, 2015).

### **3.6 Utilização de imagens digitalizadas**

Segundo Custódio; Damasceno; Machado Neto (2012), a utilização de imagens digitalizadas com o intuito de análise de tetrazólio em *Urochloa spp.* ainda é escasso, apesar da técnica gerar benefícios, proporcionando aos analistas facilidade de analisar as sementes de forma mais rápida. Quando é realizada a leitura no laboratório com o auxílio da lupa de iluminação fluorescente, as sementes são avaliadas individualmente e o tempo não pode ser longo, devido ao fato das sementes desidratarem, causando danos ás suas estruturas, o que compromete o resultado do teste.

Desta maneira, com as imagens digitalizadas tem-se a possibilidade de armazená-las; a aferição de resultados pode ser realizada por mais um analista; transmissão das imagens via rede mundial de computadores para compartilhar a informação; facilitar a padronização de procedimentos; as sementes de uma repetição podem ser visualizadas simultaneamente; ampliação das imagens, já que no caso das *Urochloa spp.*, por exemplo, suas sementes possuem um tamanho



relativamente pequeno, o que promove dessa maneira uma avaliação mais precisa dos resultados (CUSTÓDIO; DAMASCENO; MACHADO NETO, 2012).

Na Universidade Estadual de Ohio – USU, foi desenvolvido um Software, Seed Vigor Imaging System – SVIS, que por meio de imagens digitalizadas, tem o intuito de avaliar o vigor em sementes de alface, através do crescimento e uniformidade de desenvolvimento de plântulas, e que em outras espécies tem sido utilizado também com eficiência, sendo elas, soja, (MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009), milho (ALVARENGA; MARCOS FILHO; GOMES JUNIOR, 2012; GOMES JUNIOR et al., 2009; MCDONALD, 2005; OTONI; MCDONALD, 2005), melão (MARCOS FILHO et al. 2006), pepino (CHIQUITO; GOMES JUNIOR; MARCOS FILHO, 2012), crotalária (SILVA et al. 2012), amendoim (MARCHI; CICERO; GOMES JUNIOR, 2011) e trigo (SILVA; GOMES JUNIOR; CICERO, 2012). Após três ou quatro dias de germinação, as plântulas são digitalizadas por meio de um escâner e o vigor é determinado com base em valores numéricos variando de 0 a 1000, sendo que mais próximo de 1000, maior é o vigor do lote (KIKUTI; MARCOS FILHO, 2012).

No Brasil por outro lado, existe no mercado o Sistema de Análise de Sementes – SAS, que foi desenvolvido pela empresa Tbit Tecnologia e Sistema, que tem a finalidade de avaliação da qualidade física e fisiológica das sementes de milho, através de imagens de alta resolução. No SAS é possível extrair informações de cor, textura, geometria das sementes, e também índices de crescimento, uniformidade e vigor de plântulas, porém ainda não existem pesquisas de que ele possa ser utilizado como uma ferramenta de avaliar vigor de sementes (PINTO et al., 2015).

A partir das imagens digitais, Braga Júnior et al. (2001) propuseram uma linha de pesquisa para o desenvolvimento de um teste para avaliar a viabilidade das sementes através da técnica do biospeckle, que se baseia no uso de raios laser na captura das imagens por câmeras CCD (NASCIMENTO et al., 2007), o que permite a eliminação da subjetividade, redução de tempo de análises e automação do processo de avaliação da viabilidade das sementes.

A análise de imagens digitais consiste no reconhecimento da cena para a geração de características dimensionais, como áreas ou comprimentos de objetos, ou atributos, como padrões de cores e texturas, e a sua mensuração através de

métodos de contagem ou frequência dos elementos formadores da imagem denominados “pixels”, do inglês “pictures elements” que foi abreviado para “picsels” e então fundido gerando o termo “pixels”. Para o processamento de imagens digitais foram desenvolvidos algoritmos de computação, que devidamente sistematizados são a base para a análise de imagens digitais, podendo esta ser caracterizada pelo arquivamento de dados e ou comparação de padrões (TEIXEIRA; CÍCERO; NETO, 2006).

Utilizando a análise de imagens, Gunasekaran et al. (1988), avaliaram danos provocados por patógenos em sementes de soja e de milho, enquanto Zayas et al. 1990, avaliaram danos mecânicos em sementes de milho. Voorene Heijden 1993 utilizaram a análise de imagens digitais para avaliar características externas, como tamanho e forma, de bulbos e tubérculos.

### **3.7 Germinação**

O encerramento do período de repouso fisiológico e a retomada da atividade metabólica da semente são sucedidos pelo início do processo de germinação (MARCOS FILHO, 2015).

Germinação de uma semente é a reativação do crescimento do embrião, resultando na ruptura da cobertura da semente e na emergência da plântula (COPELAND; MCDONALD, 1995).

Morfologicamente, a germinação é a transformação do embrião em plântula, enquanto sob o ponto de vista fisiológico, a germinação consiste na retomada do metabolismo e do crescimento, que estavam reduzidos ou suspensos após a maturidade, e o reinício da transcrição do genoma. Bioquimicamente, a germinação refere-se à diferenciação sequencial dos caminhos oxidativos e de síntese e à retomada de uma sequencia de processos bioquímicos característicos do crescimento vegetativo e do desenvolvimento (JANN; AMEN, 1980).

O potencial fisiológico reúne informações sobre germinação e o vigor das sementes. O teste de germinação é o mais padronizado para determinar a qualidade de sementes. Nele é avaliada a capacidade que uma semente tem de germinar em condições de luminosidade, temperatura e umidade ideais (MARCOS FILHO, 2015).

A indicação das Regras para Análise de Sementes (RAS) é de até 21 dias para complementação do teste de germinação de *Urochloa brizantha* e neste material, são indicadas outras instruções para condução do teste como forma de semeadura, temperatura, indicações de procedimentos para superação de dormência (BRASIL, 2009). O teste de germinação consiste na determinação do potencial máximo de germinação, por ser realizado em condições ótimas de laboratório, podendo ser usado para se comparar o desempenho de diferentes lotes e estimar o valor para semeadura em campo (MARCOS FILHO, 2015).

As informações fornecidas pelo teste de germinação são consideradas insuficientes para, isoladamente, estimar o potencial de desempenho das sementes em condições de campo (OHLSON, 2010).

Dessa forma, as empresas produtoras de sementes têm utilizado, em conjunto com o teste de germinação, informações obtidas com testes de vigor; assim, é crescente a busca de testes que sejam rápidos para agilizar a tomada de decisões e aumentar a eficiência das atividades envolvidas no controle de qualidade (BITTENCOURT et al., 2012).

### **3.8 Vigor de sementes**

A noção do vigor deve ter surgido no início da humanidade, a partir do ponto em que o homem começou a ter um contato maior com os animais e vegetais. O vigor trata-se de um termo biológico que é facilmente visualizado a partir de uma observação mais atenta: indivíduos de mesma espécie, vegetal ou animal, apresentam taxas de desenvolvimento diferentes, o que, naturalmente, os coloca em uma classificação distinta, sendo fortes ou fracos (CARVALHO, 1994).

A história dos testes de vigor teve início com o desenvolvimento do teste padrão de germinação, conforme relatou Carvalho, (1994). Segundo este autor, Nobbe estabeleceu, em 1869, o primeiro laboratório de análise de sementes em Tharandt/Alemanha; em 1876, ocorreu o mesmo em Connecticut/EUA. Durante vários anos, a avaliação da qualidade fisiológica foi efetuada apenas por meio do teste padrão de germinação; apenas nos anos 40 o teste de tetrazólio foi desenvolvido por Lakon, na Alemanha.

De acordo com o relato de vários pesquisadores, a introdução do termo vigor foi, primeiramente, atribuída a Nobbe, em 1876, que utilizou a palavra “triebkraft”, com significados de “força motriz” ou “energia de crescimento”, ao discorrer sobre o processo de germinação, no tratado de Handbuch der Samenkund (AOSA, 1983).

Para a AOSA (1983), os principais testes de vigor, bem como outros que estão sendo desenvolvidos e propostos, podem ser agrupados em três categorias: física, fisiológica e bioquímica.

Os testes físicos mensuram as características das sementes, como tamanho; peso e densidade. Os fisiológicos utilizam parâmetros de germinação e crescimento, como teste de envelhecimento acelerado; taxa de crescimento de plântulas; velocidade de germinação e emergência; teste frio; estresse osmótico. Os testes bioquímicos monitoram reações químicas que envolvem a manutenção celular, como o teste de tetrazólio; condutividade elétrica; respiração; proteína; ação enzimática; conteúdo de adenosina trifosfato (ATP) e atividade da descarboxilase do ácido glutâmico.

Segundo Woodstock, (1973) a avaliação do vigor de sementes pode ser útil para o agricultor sob vários aspectos, tais como permitir a decisão sobre a compra de determinado lote, ajudar na decisão de que lote deverá ser utilizado no início da estação de plantio, que quantidade de sementes deve ser utilizada por área e que uniformidade pode-se esperar para a população de plantas por área.

Não basta aos testes de vigor apresentarem possibilidade de padronização de metodologia e de interpretação dos resultados. Além dessas características e, para que os testes venham a ser amplamente utilizados, vários autores (DELOUCHE, 1976; AOSA, 1983; TEKRONY; EGLI 1991) são unânimes em afirmar que esses testes devem apresentar características tais como: reprodutibilidade dos resultados; interpretação e correlação com emergência; rapidez; objetividade; simplicidade e viabilidade econômica.

A determinação rápida do potencial fisiológico das sementes é fundamental para que as empresas utilizem seus recursos de forma racional, e testes para avaliação do vigor das sementes têm grande importância na tomada de decisão quanto ao armazenamento e à comercialização do produto (TEKRONY, 2003; CARVALHO et al., 2009).

A análise de sementes é ferramenta importante no controle de qualidade, principalmente a partir do final do período de maturação, quando as sementes atingem a maturidade fisiológica. Portanto, a seleção de testes de vigor deve atender a objetivos específicos, sendo importante a identificação das características avaliadas pelo teste e sua relação com o comportamento das sementes diante de situações específicas como, por exemplo, o desempenho após a secagem, o potencial de armazenamento, a resposta a injúrias mecânicas e as condições climáticas (BAALBAK, 2009).

Na literatura, há relatos de que as avaliações do potencial fisiológico das sementes por meio de testes que demandam período de tempo relativamente curto estão relacionadas a mudanças bioquímico-fisiológicas associadas ao vigor, como por exemplo, as atividades enzimáticas e respiratórias, cujas alterações podem ser identificadas nos tecidos do embrião pelo teste de tetrazólio (ABDULBAKI; ANDERSON, 1973; MARCOS FILHO, 2015).

A definição de vigor de sementes foi um dos aspectos que mais labutaram o Comitê de Vigor e tecnologistas de sementes do mundo todo, não se tendo chegado a uma redação única (CARVALHO, 1994). As tentativas iniciais para a conceituação do vigor destacam a habilidade da semente para germinar sob condições desfavoráveis; a evolução demonstrou que o vigor de sementes traduz um potencial de desempenho. Dentre os conceitos emitidos sobre esse atributo da qualidade de sementes, existem várias definições para vigor, algumas são citadas a seguir (MARCOS FILHO, 2015):

Segundo ISTA (1981), o vigor de sementes é a soma daquelas propriedades que determinam o nível potencial de atividade e desempenho de uma semente ou de um lote de sementes durante a germinação e a emergência da plântula. Já para AOSA (1983), o vigor de sementes compreende aquelas propriedades que determinam o potencial para uma emergência rápida e uniforme e para o desenvolvimento de plântulas normais sob uma ampla faixa de condições ambientais.

Um conceito de vigor não pode ser emitido simplesmente em termos de germinação; uma definição completa deve incluir o comportamento durante o armazenamento e efeitos sobre a produção (GRABE, 1966).

O resultado do vigor é a ação conjunta de todos os atributos da semente, que permitem a obtenção de estande, sob condições favoráveis de campo (ISELY, 1957).

Vigor é uma característica fisiológica determinada pelo genótipo e modificada pelo ambiente, que governa a capacidade de uma semente produzir rapidamente uma plântula no solo e o limite em que a semente tolera uma série de fatores ambientais. A influência do vigor pode persistir ao longo da vida da planta e afetar a produtividade (PERRY, 1972).

Vigor é a soma total das propriedades da semente, que determinam o nível de atividade e desempenho da semente ou lote de sementes, durante a germinação e a emergência das plântulas. As sementes que apresentam bom desempenho são chamadas “vigorosas”, enquanto as que apresentam fraco desempenho são chamadas “sementes de baixo vigor” (PERRY, 1978).

O vigor é conhecido como um parâmetro para caracterizar o potencial fisiológico das sementes e indica os lotes de maior ou menor probabilidade de sucesso após a semeadura em campo ou durante o armazenamento, sob diferentes condições do ambiente, ampliando o leque de informações disponíveis sobre a viabilidade das sementes (avaliada sob condições ótimas). Assim, o vigor reúne um conjunto de características que poderiam ser consideradas como atributos independentes, como a velocidade de germinação, o crescimento das plântulas, a habilidade para germinar sob temperaturas sub-ótimas e outras. Os testes de vigor são utilizados com várias finalidades, mas a principal razão é a determinação das diferenças significativas no potencial fisiológico de um lote de sementes (MARCOS FILHO, 2015).

Analisando essas definições, torna-se visível as dificuldades encontradas que o homem tem para definir conceitos. No momento em que deve-se definir são utilizadas palavras sinônimas para o vigor, como, “aquelas propriedades”, “aquela condição”, assim, passa-se a listar os componentes de desempenho germinativo das sementes que são afetados pelo vigor. A definição, contudo, é apenas uma parte da ideia, ou conceito, que se faz de um determinado fato. Nesse sentido, acredita-se que os estudos sobre como a deterioração se instala e progride (ou seja, como a perda de vigor se dá) são pertinentes no sentido de produzirem um conceito mais estruturado e solidificado de vigor de sementes (CARVALHO, 1994).

### 3.9 Teste de tetrazólio

A avaliação da qualidade de sementes por meio de testes rápidos que proporcionem resultados reproduzíveis tem sido uma busca constante dos tecnólogos de sementes (MARCOS FILHO, 2015) e pode auxiliar na tomada de decisões quanto ao uso ou descarte de lotes, principalmente para espécies que demandam longo período para a germinação (AÑEZ, 2007).

O teste de tetrazólio é promissor nesses casos, uma vez que é um teste rápido (resultados fornecidos em menos de 24 horas), não sofre influência da dormência das sementes, por se basear apenas no processo respiratório das células (DESWAL; CHAND, 1997; SANTOS; NOVEMBRE; MARCOS FILHO, 2007; DIAS; ALVES, 2008; ISTA, 2008).

O teste de tetrazólio é de grande importância para a avaliação da qualidade das sementes, porque, além da viabilidade, o mesmo pode informar sobre o vigor e ainda identificar diversos problemas que afetam o desempenho das sementes (MENEZES, 2012). O teste de tetrazólio se baseia na alteração da coloração dos tecidos vivos em presença de uma solução de tetrazólio (BRASIL, 2009).

Existe diferença nas metodologias utilizadas nos Laboratórios de Análise de Sementes para a condução do teste de tetrazólio em sementes de *Urochloa* spp. A ISTA recomenda o descarte de metade da semente e imersão em solução de tetrazólio a 1,0%; os Laboratórios de Análise de Sementes no Brasil utilizam descarte de metade da semente e uso de solução de tetrazólio a 0,2%; e também, a avaliação das duas metades da semente que permanecem unidas pela lema e pálea, após imersão em solução de tetrazólio a 0,1% (DIAS; ALVES, 2008).

Segundo Abbade; Massanori, (2014), em algumas culturas, como a soja e o feijão, além de avaliar a viabilidade e o vigor dos lotes de sementes, tem-se o diagnóstico das possíveis causas responsáveis pela redução de sua qualidade: danos mecânicos, deterioração por umidade e danos de percevejo, que são os problemas que mais comumente afetam a qualidade fisiológica dessas sementes. Porém, além desses, os danos de secagem, de estresse hídrico e de geada podem também ser facilmente visualizados.

O fornecimento desse diagnóstico é o grande responsável pelo elevado índice de adoção do teste em nosso país, pois, além de apontar os problemas de redução de qualidade das sementes, o teste, quando aplicado nas diversas etapas do sistema de produção, pode identificar os pontos de origem desses problemas, permitindo que ações corretivas sejam adotadas, resultando na produção de sementes de alta qualidade (ABBADE; MASSANORI, 2014). Vale ressaltar que em forrageiras, até o momento, nenhum artigo referente às classes de vigor foi publicado, como existe para o milho (KRZYZANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA, 1999).

Diversos autores têm abordado a adequação da metodologia do teste para várias espécies, como Oliveira, Carvalho e Davide (2005), em sementes de Canafístula, Chamma e Novembre (2007), em milho; Kak, Pandey e Gupta (2009) e Pinto et al. (2009), em pinhão-mansão; Souza et al. (2010), em triticales; Costa e Santos (2010), em leucena; e Clemente et al. (2011), em café. Para a *Urochloa*, no entanto, as recomendações para o teste de tetrazólio são feitas somente para a avaliação da viabilidade das sementes de acordo com a ISTA (2008) ou com as Brasil (2009).

Segundo Krzyzanowski, Vieira e França, (1999), o teste não é afetado por diversas condições que podem interferir no teste padrão de germinação, sendo necessários equipamentos simples para a sua realização. No entanto, requer treinamento especial para a correta interpretação dos resultados.

Embora o teste de tetrazólio possa fornecer informações rápidas e precisas quanto à viabilidade e vigor de sementes, tem como entrave à sua ampla difusão e adoção, a necessidade de profissional qualificado para uma avaliação minuciosa e interpretação do padrão de coloração das sementes. Os resultados ficarão comprometidos se o analista não tiver habilidade, paciência e experiência na identificação dos tecidos vivos e deteriorados. A eficiência do teste para avaliação da viabilidade das sementes depende de uma série de fatores que devem ser determinados para cada espécie, desde condições adequadas para a hidratação das sementes até a avaliação e interpretação do padrão de coloração exibido pelas mesmas (AZERÊDO, 2011).

Como o teste de germinação é demorado e os tratamentos para superar a dormência podem danificar sementes viáveis e comprometer a avaliação da real qualidade, é importante que se tenham metodologias mais confiáveis para



avaliar a qualidade das sementes em menor tempo. Neste contexto, o teste de tetrazólio pode ser realizado em sementes dormentes presentes no final do teste de germinação (DIAS; ALVES, 2008).

Na realização do teste de tetrazólio são indicados procedimentos, chamados de pré-condicionamento, que visam à penetração da solução nos tecidos de interesse a serem avaliados. Além do pré-condicionamento que visa hidratar as sementes, provocando o amolecimento das mesmas facilitando o preparo e a penetração da solução de tetrazólio, bem como a ativação do sistema enzimático permitindo o desenvolvimento de coloração adequada para a interpretação da sua viabilidade; a forma de exposição dos tecidos à coloração (se com ou sem tegumento), a concentração da solução do sal de tetrazólio, a temperatura e o tempo de condicionamento e a avaliação adequada de coloração das sementes são fundamentais para que se obtenham resultados confiáveis sobre a qualidade das sementes (AZERÊDO, 2011).

Segundo França-Neto (1999), o teste se baseia na alteração da coloração dos tecidos vivos na presença de uma solução do sal cloreto 2,3,5-trifenil tetrazólio, uma solução incolor. A alteração na coloração reflete a atividade das enzimas desidrogenases envolvidas na atividade respiratória nas mitocôndrias, especificamente a desidrogenase do ácido málico, que reduz o sal de tetrazólio nos tecidos vivos da semente, onde íons de hidrogênio são transferidos para o referido composto. A difusão do sal de tetrazólio nos tecidos vivos da semente resulta na formação de um composto estável e não-difusível de coloração avermelhada conhecido como trifênil formazan. Isso indica a atividade respiratória significativa nas mitocôndrias, permitindo delimitar, de maneira definida, o tecido que respira (vivo) e o que apresenta atividade fisiológica deficiente, pois este permanece descolorido ou exibe coloração anormal.

Os tecidos acentuadamente deteriorados liberam quantidades muito pequenas de íons de hidrogênio, insuficientes para que ocorra a reação normal com o sal de tetrazólio (MARCOS FILHO, 2015).

A formação de um vermelho carmim claro indica tecido viável e um vermelho carmim intenso revela o tecido em deterioração (ROVERSI; THEISEN, 2005), em virtude da maior intensidade de difusão da solução de tetrazólio pelas membranas celulares comprometidas de tais tecidos; se o mesmo é não viável, a

redução do sal não ocorrerá e o tecido morto contrastará como branco (não colorido) com o tecido colorido viável (FRANÇA NETO, 1999).

O padrão de coloração dos tecidos pode ser utilizado para identificar sementes viáveis, não viáveis e, dentro da categoria viável, as de alto e baixo vigores (VIEIRA; VON-PINHO, 1999).

O objetivo principal do teste de tetrazólio é distinguir as sementes viáveis das não viáveis. Uma avaliação cuidadosa, baseada nos padrões de coloração e de sanidade dos tecidos, torna possível separar diferentes categorias de sementes dentro desses dois grupos:

Sementes viáveis são aquelas capazes de produzir plântulas normais em um teste de germinação sob condições favoráveis, depois de superada a dormência. Os embriões das sementes colorem completamente e, se em alguns locais ficarem parcialmente coloridos, os padrões de coloração apresentados ainda indicam que a semente é viável. O local e o tamanho das áreas necrosadas, e não necessariamente, desenvolvem intensidade na coloração, determina-se se as sementes analisadas podem ser classificadas como viáveis ou não. É importante também analisar a firmeza dos tecidos. Já as sementes não viáveis são classificadas como aquelas que não se encaixam nas condições apresentadas anteriormente e ainda apresentam suas colorações não muito definidas, também apresentam as suas partes essenciais com tecidos necrosados e sem firmeza, flácidos e sem coloração. Sementes com desenvolvimento anormal do embrião ou de alguma outra parte essencial devem ser classificadas como não viáveis, mesmo se o tecido apresentar coloração (BRASIL, 2009).

Todavia, para observação de espécies que produzem sementes relativamente pequenas, como as forrageiras, é necessário o auxílio de estéreo microscópio para facilitar a visualização. O uso de imagens digitalizadas é uma alternativa que pode permitir a ampliação, o acesso rápido e o arquivamento da informação obtida para uso posterior (GENEVE; KESTER 2001; MCDONALD, 2001; DELL'AQUILA, 2004; DELL'AQUILA, 2007, HOSOMI et al., 2011). Estudos que investiguem a possibilidade de avaliação do teste de tetrazólio por meio de imagens digitalizadas são altamente desejáveis, pois, as simples possibilidades de ampliação e armazenamento das imagens digitalizadas constituem-se em ferramentas valiosas (CUSTÓDIO; DAMASCENO; MACHADO NETO, 2012).

### 3.10 Parâmetros de avaliação fisiológica

#### 3.10.1 IVE (Índice de Velocidade de Emergência) e Comprimento de plântula

Os testes de vigor baseados na avaliação de plântulas, conforme apresentados por Popinigis (1977), Liberal (1987) e Marcos Filho et al. (1987) são: velocidade de germinação, primeira contagem do teste de germinação, crescimento da plântula ou parte dela e classificação do vigor das plântulas em condições de laboratório, porcentagem de emergência de plântulas, velocidade de emergência de plântulas, altura ou comprimento de planta, peso da matéria verde da planta ou peso da matéria seca da planta.

Um dos objetivos, se não o principal dos testes de vigor é de verificar o potencial de emergência de plântulas no campo e no laboratório, em condições mais amplas possíveis (favoráveis e desfavoráveis); Em geral, os mais empregados são o de porcentagem de emergência e o de velocidade de emergência de plântulas (NAKAGAWA, 1983).

O estabelecimento adequado do estante depende da utilização de sementes com alto potencial fisiológico, capazes de germinar uniforme e rapidamente, sob ampla variação do ambiente. A rapidez e o sincronismo são muito importantes porque permitem reduzir o grau de exposição das sementes e das plântulas a fatores adversos (MARCOS FILHO, 2015).

A uniformidade e a rapidez de emergência de plântulas são importantes componentes dentro da conceituação de vigor de sementes. Assim sendo, a avaliação da intensidade do crescimento da plântula é um teste de vigor bastante lógico (AOSA, 1983). Em acordo com esta ideia, pelo levantamento feito pelo Comitê de Vigor da ISTA, em 1990, pode-se constatar que o crescimento de plântulas é empregado, por alguns laboratórios, conjuntamente com outros testes, para avaliar o vigor de sementes (HAMPTON; COOLBEAR, 1990).

Pode-se avaliar o crescimento das plântulas determinando o comprimento da plântula, ou de parte desta ou mensurando o peso da matéria seca. As diferenças de vigor entre plântulas são, na maioria das vezes, bastante visíveis, todavia há necessidade de valores numéricos para separar as vigorosas das que não são. Para isso, a determinação do comprimento médio das plântulas normais ou

das partes destas é realizada, tendo em vista que as amostras que apresentam os maiores valores médios são as mais vigorosas (NAKAGAWA, 1999).

Essas considerações são válidas porque as sementes vigorosas originam plântulas com maior taxa de crescimento, em função de apresentarem maior capacidade de transformação e de suprimento de reservas dos tecidos de armazenamento e da maior incorporação destas pelo eixo embrionário (DAN et al., 1987).

Este teste visa determinar o vigor relativo do lote de sementes, avaliando o comprimento médio das plântulas normais, quando postas a germinar sob condições controladas de ambiente em laboratório. Para a correta avaliação da qualidade de lotes, é importante que, conjuntamente com os resultados obtidos por este teste, seja também levada em consideração a porcentagem de germinação, pois pode haver situações em que o lote apresenta alta porcentagem de germinação e baixo valor de comprimento médio de plantas, assim como lote com baixa porcentagem de germinação, mas com alto valor de comprimento médio de plantas; assim as poucas plântulas normais formadas apresentam alta taxa de crescimento, o que não pode estender-se para todo o lote, considerando-o vigoroso (NAKAGAWA, 1999).

### 3.10.2 Matéria seca de plântula

Na avaliação do crescimento da plântula, tanto a mensuração do comprimento como a determinação do peso da matéria seca, por serem medidas de grandeza física (dimensão e massa), independem de subjetividade do analista, o que torna estes testes mais fáceis de reprodutibilidade, desde que as condições e os procedimentos sejam bem definidos (NAKAGAWA, 1999).

É possível que o vigor da semente tenha um efeito direto na habilidade da planta de acumular matéria seca, mas, na realidade, as reservas da semente e sua mobilização adequada são responsáveis apenas pelo crescimento inicial da plântula, durante período relativamente curto após a emergência. Parte dos tecidos da planta envolvidos no acúmulo de matéria seca é formada após a emergência das plântulas (TEKRONY; EGLI, 1991; ELLIS, 1992).

A determinação do peso da matéria seca da plântula é uma maneira de avaliar seu crescimento, onde se consegue determinar, com certa precisão, a transferência de matéria seca dos tecidos de reserva para o eixo embrionário. Assim, por este teste, as amostras que apresentam maiores pesos médios de matéria seca de plântulas normais são consideradas mais vigorosas (NAKAGAWA, 1999).

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Local do experimento e material utilizado**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes e na casa de vegetação da UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista, em Presidente Prudente – SP, no período de março a dezembro de 2016.

O projeto foi realizado em dois experimentos. Os lotes de sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu foram selecionados por meio de testes usualmente empregados para avaliação de qualidade fisiológica de lotes de sementes, sendo eles: teste de germinação e tetrazólio, onde foram selecionados lotes com diferentes viabilidades e aqueles que não apresentaram dormência.

### **4.2 Testes realizados**

Os testes realizados, no primeiro e segundo experimento foram: teste de germinação, teste de tetrazólio, emergência em bandeja (onde foi calculado o IVE - índice de velocidade de emergência e a emergência final em porcentagem), comprimento de parte aérea e raiz e matéria seca de parte aérea e raiz. A diferença entre o experimento um e dois foi em relação a metodologia aplicada no teste de tetrazólio.

No experimento um foi utilizada uma metade da semente para leitura de viabilidade e vigor e a solução do sal 2-3-5 trifênil tetrazólio na concentração de 0,1%. No experimento dois foram utilizadas as duas metades da semente para leitura de viabilidade e vigor e duas concentrações, 0,1% e 1% da solução do sal 2-3-5 trifênil tetrazólio.

#### **4.2.1 Teste de germinação**

O teste de germinação foi realizado com quatro repetições de 100 sementes para cada lote. As sementes foram colocadas de forma equidistante uma da outra, sobre duas folhas de papel tipo germibox umedecidas com a quantidade de água que corresponde a 2,5 vezes a massa do substrato seco, dentro do gerbox

(caixas plásticas transparentes). Posteriormente foram colocadas em um germinador, permanecendo 8 horas com iluminação e temperatura de 35°C e 16 horas sem iluminação com temperatura de 15°C (BRASIL, 2009).

Semanalmente, durante 21 dias, foi realizada avaliação de porcentagem de plântulas normais. Nas sementes que não germinaram ao final do teste, consideradas sementes remanescentes, foi realizado o teste de tetrazólio, para saber se estavam vivas (o tempo não foi suficiente para que elas germinassem) ou mortas (BRASIL, 2009).

#### 4.2.2 Teste de tetrazólio

O teste de tetrazólio, tanto no primeiro quanto no segundo experimento, seguiu metodologia das Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009; CUSTÓDIO; DAMASCENO; MACHADO NETO, 2012).

##### 4.2.2.1 Experimento um

No experimento um foram utilizados os lotes 1 ao 6 de sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu. Foram avaliadas quatro repetição de 25 sementes cada, totalizando 100 sementes para cada lote. Inicialmente foi realizado o pré-condicionamento, onde as sementes foram imersas em água destilada a 25°C por 18h. Após o tempo estipulado, foi realizado um corte transversal nas sementes do ápice para base, próximo ao embrião com auxílio de bisturi e pinça, no qual apenas uma metade da semente foi utilizada, a outra foi descartada. As metades das sementes utilizadas foram colocadas em placas de petri com solução de 0,1% de cloreto 2-3-5 trifênil tetrazólio e encaminhadas ao interior do equipamento para banho-maria, onde permaneceram por 4h a 40°C, no escuro (CUSTÓDIO; DAMASCENO; MACHADO NETO, 2012).

A solução de tetrazólio foi preparada com água destilada, com pH entre 6,5 e 7,5, mantidas em frascos de vidro de cor âmbar e armazenadas em local fresco e escuro.

Após o período de 4h as sementes foram lavadas em água corrente para retirar a solução presente nelas e em seguida foram realizadas as imagens

digitalizadas do resultado do teste de tetrazólio por meio de um escâner, modelo CanoScan LiDE100 com resolução de 600 dpi, e câmera digital com um celular modelo Samsung Galaxy S4 com resolução de 13 Megapixels. As imagens digitalizadas por meio de escâner obtiveram padronização, devido o aparelho proporcionar as imagens, já com a câmera digital, para que houvesse um padrão as imagens foram realizadas a 20 cm de distância das sementes.

As sementes foram colocadas sobre uma placa de vidro transparente, com o corte (parte plana) da semente voltado para baixo, de forma a deixar visível nas imagens as partes vitais do embrião.

Após a digitalização das imagens, foi realizado o método de leitura convencional/fresca das sementes, com o auxílio de uma lupa com iluminação fluorescente. A partir do teste de tetrazólio por meio de leitura convencional, imagens digitalizadas via escâner e câmera digital, as sementes foram determinadas em três classes de vigor: classe 1 - viáveis e vigorosas, classe 2 - viáveis e não vigorosas e classe 3 - não viáveis, usando metodologia desenvolvida para milho (KRZYZANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA, 1999). No computador as sementes puderam ser analisadas e avaliadas, individualmente e em conjunto, por meio das imagens digitalizadas do teste de tetrazólio. Os resultados foram expressos em porcentagem.

#### 4.2.2.2 Experimento dois

No experimento dois foram utilizados os lotes 7 ao 12 de sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu. Seguindo a mesma metodologia utilizada no experimento um, porém com dois diferenciais: foram utilizadas as duas partes das sementes com a intenção de melhorar avaliação, esperando assim resultados mais precisos e foram utilizadas duas concentrações do sal de tetrazólio, sendo elas: 0,1% (como no experimento um) e 1% de cloreto 2-3-5 trifênil tetrazólio.

A intuito de utilizar mais de uma concentração foi verificar qual seria a mais adequada para a metodologia de determinação de classes de vigor em sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu e também averiguar em qual dos métodos de leitura (fresca/ escâner/ câmera digital) sua interpretação seria melhor.



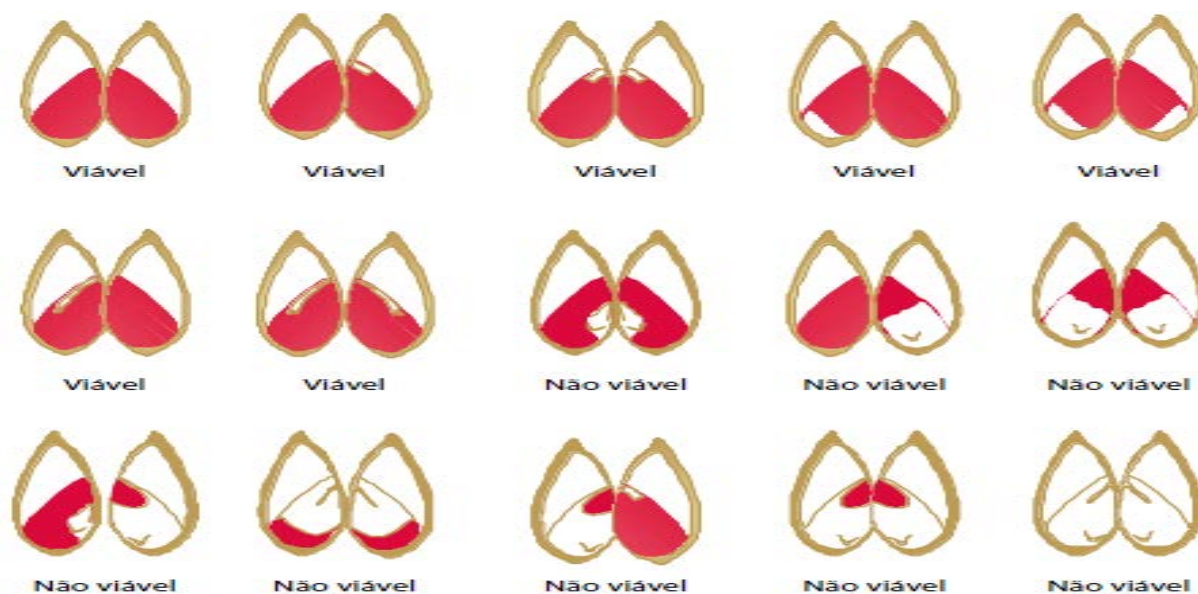
Nas regras para análise de sementes são permitidas concentrações de 0,1% até 1% do sal 2-3-5 trifenil tetrazólio para sementes de *Urochloa* spp. (BRASIL, 2009).

O modelo do escâner utilizado foi o HP Scan Jet G2710, com resolução de 1200 dpi, proporcionando imagens digitalizadas com maior nitidez e o modelo da câmera digital utilizada foi a Samsung PL120 com resolução de 14.2 Megapixels na tentativa de interpretação mais precisa dos resultados através das imagens digitalizadas.

No teste de tetrazólio, após o pré-condicionamento, as sementes foram cortadas de forma transversal, do ápice para base, próximo ao embrião com auxílio de bisturi e pinça. As duas metades foram colocadas em uma placa de petri com duas folhas de papel filtro com 4mL de solução de tetrazólio (0,1% e 1%), no qual a parte de dentro (o embrião) ficou em contato com a solução. Depois de 4h em banho-maria, seguiram os mesmos processos de avaliações do experimento um, porém as sementes ao invés de serem lavadas, o que iria desfazer os pares, foram somente esfregadas em papel filtro para retirar os resíduos do sal da solução.

Conforme as Regras Para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) para a avaliação da viabilidade, além da coloração que deve ser vermelha, e o tecido não necrosado, para ser considerada uma semente viável, deve-se analisar a área máxima permitida de tecido não colorido, flácido ou necrosado, que só é permitido ser 1/3 da radícula medida a partir da extremidade. Assim se o embrião da semente está com apenas 1/3 da radícula não colorido e o restante sim, esta semente pode ser considerada como viável. Para determinar as classes de vigor da *Urochloa*, esse foi também um dos padrões utilizados e considerados. Conforme a figura 2, podemos analisar as áreas máximas permitidas de não coloração para que uma semente possa ser considerada viável ou não.

FIGURA 2 - *Urochloa* spp. Avaliação de viabilidade das sementes.



Fonte: (adaptado de DIAS; ALVES, 2008; BRASIL, 2009).

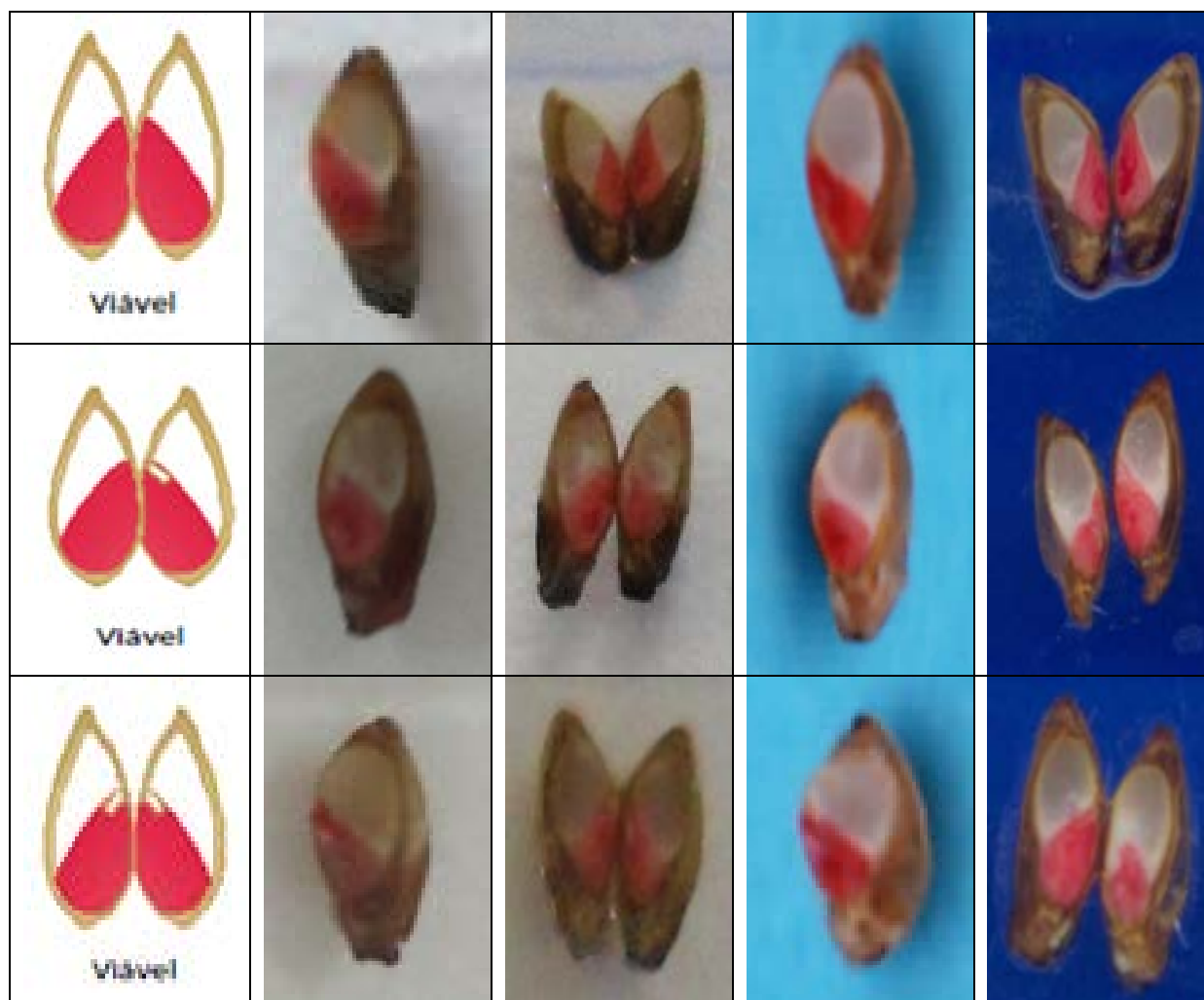
#### 4.2.2.3 Determinação das classes de vigor

As sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu foram determinadas em três classes de vigor: classe 1 - sementes viáveis e vigorosas, classe 2 - sementes viáveis e não vigorosas e classe 3 - sementes não viáveis, adaptando-se as classificações já existentes para milho (KRZYŻANOWSKI; VIEIRA; FRANÇA, 1999) e também foram consideradas as áreas máximas permitidas de não coloração para que uma semente possa ser considerada viável (Figura 2) (BRASIL, 2009).

Na classe 1 foram consideradas viáveis e vigorosas aquelas sementes que apresentaram a coloração do embrião rosa vivo e totalmente preenchido, que não apresentaram lesões, possuindo uniformidade no padrão de cor. Porém se o embrião não apresentar coloração tão intensa do rosa, mas possuir uniformidade em seu preenchimento, a semente pode ser classificada como viável e vigorosa.

Descolorações mínimas são permitidas, desde que não sejam afetadas as partes vitais das sementes, como o coleóptilo, plúmula e 1/3 da radícula. É importante verificar nas sementes do experimento dois (duas metades) a posição do embrião, em algumas vezes devido ao corte não estar tão preciso, ele fica todo em uma metade só, o que acaba acontecendo de uma metade possuir coloração mais intensa do que a outra, porém as duas devem estar totalmente preenchidas. Alguns exemplos de sementes viáveis e vigorosas estão na Figura 3.

FIGURA 3 - *Urochloa brizantha* cv Marandu, teste de tetrazólio classe 1.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Legenda: Fundo branco: Imagens digitalizadas por câmeras digitais. Fundo Azul: Imagens digitalizadas pelos escâneres. Experimento um: uma metade da semente. Experimento dois: duas metades da semente. Todas as sementes estão com a concentração de 0,1% do sal de tetrazólio.

Na classe 2 são consideradas viáveis e não vigorosas, aquelas sementes que apresentaram coloração mais densa, escura o que segundo Dias; Alves (2008), indica maior permeabilidade dos tecidos devido á deterioração. Deve-se verificar a região do escutelo, se esta apresentar pouca coloração, porém com a região central em uma tonalidade viva, significa que esta semente ainda assim vai conseguir produzir uma plântula normal.

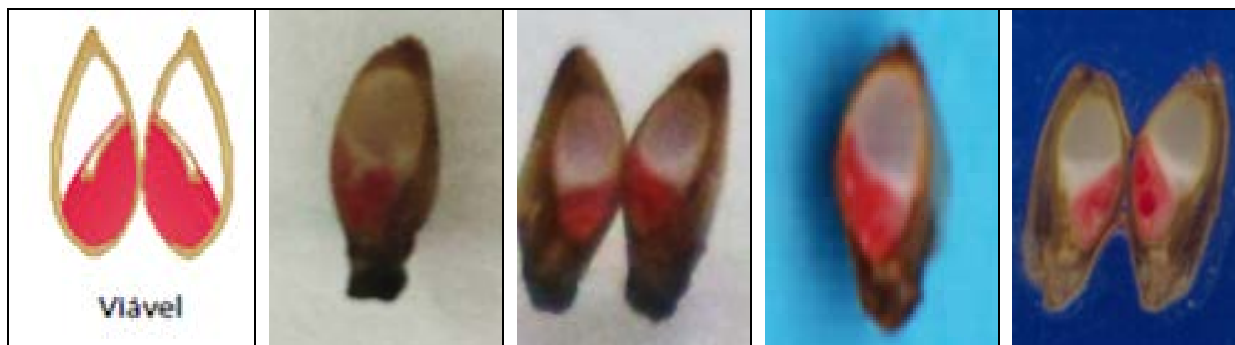
É permitido que apenas 1/3 da radícula apresente pouca ou nenhuma coloração. Muitas vezes devido ao corte não ser sempre preciso devido ao tamanho diminuto das sementes é necessário averiguar a tonalidade de coloração, pois ao analisarmos as sementes nos deparamos com partes do embrião com pequenas descolorações, o que nos leva a pensar que aquela semente não se tornaria uma

plântula normal, porém não é verdade. Devemos distinguir entre um rosa claro e o branco.

Outro fato que acontece, devido ao corte não preciso, é a não semelhança entre as duas metades da semente. Deparamo-nos com descolorações que aparecem uma e na outra não, por isso é importante termos as duas partes, pois se é realizado um corte transversal no embrião, tudo o que tem em uma metade deveria estar simetricamente na outra, por isso para resultados mais precisos devemos ter as duas metades. Então devemos avaliar o embrião como um todo, verificando a uniformidade, tonalidade de coloração. Alguns exemplos de sementes viáveis e não vigorosas estão na Figura 4.

FIGURA 4 - *Urochloa brizantha* cv Marandu, teste de tetrazólio classe 2.





Fonte: Elaborado pelo autor.

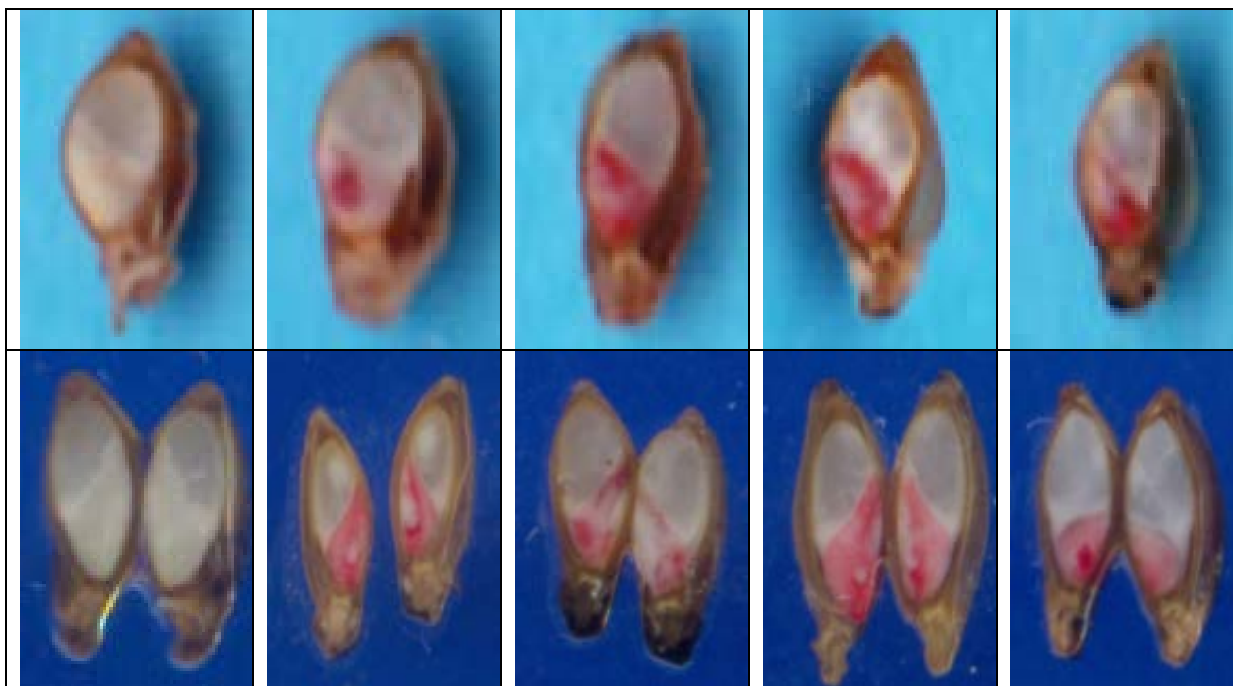
Legenda: Fundo branco: Imagens digitalizadas por câmeras digitais. Fundo Azul: Imagens digitalizadas pelos escâneres. Experimento um: uma metade da semente. Experimento dois: duas metades da semente. Todas as sementes estão com a concentração de 0,1% do sal de tetrazólio.

Na classe 3 foram consideradas não viáveis aquelas sementes que apresentaram uma coloração escura, vermelho vinho, com apenas algumas partes coloridas, porém bastante descoloração (branco).

Foram analisadas as partes vitais da semente que se encontram descoloridas, como por exemplo, plúmula, radícula, coleóptilo, escutelo, dessa maneira essas sementes não seriam capazes de produzi plântulas normais. Aquelas que apresentaram o embrião totalmente branco, sem coloração, significando que estão mortas, portanto não viáveis. Alguns exemplos de sementes não viáveis se encontram na Figura 5.

FIGURA 5 - *Urochloa brizantha* cv Marandu, teste de tetrazólio classe 3.





Fonte: Elaborado pelo autor.

Legenda: Fundo branco: Imagens digitalizadas por câmeras digitais. Fundo Azul: Imagens digitalizadas pelos escâneres. Experimento um: uma metade da semente. Experimento dois: duas metades da semente. Todas as sementes estão com a concentração de 0,1% do sal de tetrazólio.

#### 4.2.3 Emergência em Bandeja (Índice de Velocidade de Emergência)

Conforme Nakagawa (1999), o teste de emergência em bandeja foi conduzido na casa de vegetação da UNOESTE, que possui três turnos de irrigação, de cinco minutos cada, com lâmina de 6,4 mm por turno. Foram utilizadas seis bandejas de isopor, cada bandeja representou um lote com quatro repetições, totalizando 50 sementes por repetição. O substrato utilizado no teste foi o Bioplant®.

Cada célula recebeu uma semente, com profundidade de semeadura de 3 mm. Diariamente, durante 21 dias, foi realizada a contagem do número de plântulas emergidas, considerando como emergidas aquelas que apresentaram 3 mm a partir do substrato.

Foi calculado o índice de velocidade de emergência (IVE), que foi realizado em conjunto com o teste de emergência, através da fórmula de Maguire (1962) da seguinte maneira:

$$IVE = \frac{E_1}{N_1} + \frac{E_2}{N_2} + \dots + \frac{E_n}{N_n}$$

Sendo: IVE = índice de velocidade de emergência;



$E_1, E_2, E_n$  = número de plântulas normais computadas na primeira contagem, na segunda e na última contagem;

$N_1, N_2, N_n$  = número de dias da semeadura à primeira, à segunda e à última contagem.

#### 4.2.4 Comprimento de parte aérea e raiz

Após ser realizado o teste de emergência em bandeja aos 21 dias, as plântulas que emergiram foram medidas com o auxílio de uma régua graduada em centímetros. Foram aferidas medidas de comprimento de parte aérea e comprimento de raiz dos seis lotes (NAKAGAWA,1999).

#### 4.2.5 Massa de matéria seca

Após aferidas medidas de comprimento de parte aérea e raiz, foi determinada a massa de matéria seca da parte aérea e da raiz, no qual foram colocados em recipientes de alumínio as partes aéreas e raízes de cada lote separado por quatro repetições, levadas a estufa de circulação forçada de ar, com temperatura de 65°C, onde permaneceram durante 24 horas. Transcorrido esse período determinou-se a massa do conjunto recipiente + material vegetal, com o auxílio de uma balança analítica de quatro casas (0,0001), após o resultado foi descontado a massa do recipiente, obtendo a massa de matéria seca da parte aérea e da raiz (NAKAGAWA,1999).

### 4.3 Análise Estatística

O delineamento estatístico foi o inteiramente casualizado e as médias foram submetidas ao teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ), utilizando o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011), e posteriormente à análise de correlação de Pearson ( $p \leq 0,05$ ), usando o programa SAS.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Experimento um

Com base nos dados apresentados na tabela 1, observam-se os valores de germinação, emergência e índice de velocidade de emergência entre os seis lotes de sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu. Referente á germinação, os lotes de 1 a 4 estatisticamente não diferiram entre si, porém o lote 1 apresentou um valor considerado abaixo do mínimo exigido para comercialização de sementes de *Urochloa brizantha* spp., que de acordo com a instrução normativa nº 30/2008, é de 60% de germinação (BRASIL, 2008).

Segundo Nakagawa (1983), no teste de germinação, são consideradas normais mesmo àquelas plântulas que apresentam pequenas deficiências ou irregularidades em alguma de suas estruturas essenciais, como sistema radículas; hipocótilo, epicótilo, cotilédones. Estas deficiências ou irregularidades não chegam a comprometer o processo de germinação e a produção de plântula, mas as tornam menos vigorosas.

**Tabela 1.** Valores médios obtidos de germinação (G), emergência (E) e índice de velocidade de emergência (IVE) em lotes de sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, na primeira etapa.

<b>Lotes</b>	<b>G</b> (%)	<b>E</b> (%)	<b>IVE</b> -
Lote 1	54 a	40 cb	24 b
Lote 2	72 a	51 b	29 b
Lote 3	60 a	35 c	20 b
Lote 4	72 a	71 a	64 a
Lote 5	11 b	6 d	3 c
Lote 6	0 b	0 d	0 c
<b>Valores F</b>	59,407**	65,823**	106,538**
<b>CV(%)</b>	18,2	19,6	18,9

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste Tukey, ( $p \leq 0,05$ ). \*\* Significativo á 1%, pelo teste F.



O lote 4 alcançou altos valores de germinação, emergência e índice de velocidade de emergência, sendo assim considerado o lote que possui maior qualidade e vigor de sementes (Tabela 1).

Analisando de forma geral a tabela 1, podemos observar que lotes que apresentaram valores altos de germinação, como o lote 2 e 3, quando submetidos aos testes de vigor seus valores se igualaram a lotes que obtiveram germinação menor do que 60%, como o lote 1, determinando desta maneira, sementes não vigorosas.

Nos testes de desempenho de plântulas, o lote 4 apresentou os maiores valores novamente, sendo considerado de boa qualidade. Assim como na tabela anterior, os lotes 1, 2 e 3 não diferiram estatisticamente, sendo classificados como não vigorosos. Os lotes 5 e 6 apresentaram resultados estatísticos inferiores em relação a todos os demais lotes (Tabela 2).

**Tabela 2.** Valores médios obtidos de comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), comprimento total (CT), matéria seca de parte aérea (MSPA), matéria seca de raiz (MSR) e matéria seca total (MST) em lotes de sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, na primeira etapa.

<b>Lotes</b>	<b>CPA (cm)</b>	<b>CR (cm)</b>	<b>CT (cm)</b>	<b>MSPA (mg)</b>	<b>MSR (mg)</b>	<b>MST (mg)</b>
Lote 1	2,6 cb	2,0 b	4,6 b	42 cb	13 b	55 cb
Lote 2	3,6 b	2,4 b	6,0 b	48 cb	18 b	66 b
Lote 3	2,3 c	1,8 b	4,1 b	52 ba	12 b	64 b
Lote 4	5,5 a	4,0 a	9,5 a	91 a	28 a	119 a
Lote 5	0,4 d	0,3 d	0,7 d	7,5 d	3,2 c	10,7 cd
Lote 6	0 d	0 d	0 d	0 d	0 c	0 d
<b>Valores F</b>	<b>77,505**</b>	<b>35,253**</b>	<b>35,253**</b>	<b>12,206**</b>	<b>38,503**</b>	<b>17,397**</b>
<b>CV (%)</b>	<b>19,2</b>	<b>27,73</b>	<b>27,73</b>	<b>47,21</b>	<b>25,90</b>	<b>39,14</b>

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste Tukey, ( $p \leq 0,05$ ). \*\* Significativo á 1%, pelo teste F.

Os lotes que produzem plântulas com maiores comprimentos médios de parte aérea são considerados mais vigorosos. Sementes mais vigorosas apresentam plântulas com maior taxa de crescimento que se traduzem na maior rapidez de emergência e crescimento inicial da plântula (NAKAGAWA, 1983).

Na Tabela 3 de forma geral observa-se que estatisticamente os lotes não apresentaram diferenças consideráveis para identificação de um lote que se sobressaia, como era possível identificar nas tabelas 1 e 2. Pode-se observar que

entre os três métodos de leitura de tetrazólio, os valores foram semelhantes, quando comparando à leitura fresca (Vig e V) com as imagens digitalizadas pelo escâner (Vig e V) e câmera digital (Vig e V).

**Tabela 3.** Valores médios obtidos para sementes vigorosas (Vig) e viabilidade (V) pelo teste de tetrazólio através dos três métodos de leitura em lotes de sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, na primeira etapa.

<b>Lotes</b>	<b>LF Vig</b>	<b>LF V</b>	<b>LS Vig</b>	<b>LS V</b>	<b>LC Vig</b>	<b>LC V</b>
Lote 1	6 ab	38 a	6 ab	38 a	10 a	33 ab
Lote 2	4 ab	44 a	4 ab	47 a	7 a	38 a
Lote 3	8 ab	50 a	7 a	50 a	8 a	42 a
Lote 4	1 b	38 a	1 ab	42 a	3 a	36 a
Lote 5	2 ab	17 b	1 ab	20 b	9 a	24 b
Lote 6	0 b	0 b	0 b	0 c	0 a	0 c
<b>Valores F</b>	4,886**	21,206**	4,168*	28,856**	2,472 <sup>ns</sup>	34,561**
<b>CV (%)</b>	79,68	26,33	90,55	23,93	79,81	18,13

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste Tukey, ( $p \leq 0,05$ ). \*, \*\* e <sup>ns</sup> são: Significativo á 5%, á 1% e não significativo pelo teste F, respectivamente. LF: leitura de sementes frescas; LS: leitura das imagens escaneadas; LC: leitura das imagens fotografadas com câmera digital.

Independente da metodologia de leitura do teste de tetrazólio os valores de sementes viáveis (V) e vigorosas (Vig) foram baixos, quando comparados com os resultados das tabelas 1 e 2. Esperava-se que lotes que apresentaram resultados satisfatórios nos testes de qualidade e desempenho de plântulas mostrassem correlação com os resultados obtidos pela leitura fresca do tetrazólio e das imagens digitalizadas por escâner e câmera, o que acabou acontecendo contrariamente, desta maneira o experimento um não obteve sucesso (Tabela 3).

## 5.2 Experimento dois

Diante dos resultados obtidos nas análises do experimento um onde foi utilizada apenas uma das partes das sementes, optou-se por proceder às análises do experimento dois com as duas partes.

Na Tabela 4 o lote que apresentou os maiores valores de G, G + Remas, E e IVE foi o lote 10. O lote 8 obteve valores estatísticos semelhantes ao lote 10, diferindo apenas no IVE, onde seus valores se igualaram ao lote 11 que apresentou germinação em 64%. Os lotes que muitas vezes apresentam germinação semelhante podem apresentar diferenças nos testes de desempenho de plântulas por isso a importância dos testes de germinação serem realizados em conjunto com testes de vigor, para desta maneira fazer com que os resultados sejam de maior precisão.

**Tabela 4.** Valores médios obtidos para germinação por plântulas normais (G), germinação + viabilidade de sementes remanescentes (G + Remas), emergência de plântulas e índice de velocidade de emergência (IVE) em lotes de sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, na segunda etapa.

<b>Lotes</b>	<b>G</b> (%)	<b>G + Remas</b> (%)	<b>Emergência</b> (%)	<b>IVE</b> -
Lote 7	77 cd	80 bc	71 b	10 b
Lote 8	80 ab	86 ab	74 ab	10 b
Lote 9	69 cd	73 cd	56 c	7 c
Lote 10	91 a	91 a	84 a	19 a
Lote 11	64 d	65 d	54 c	10 b
Lote 12	16 e	16 e	16 d	3 d
<b>Valores F</b>	18,161**	135,914**	90,523**	66,097**
<b>CV (%)</b>	7,27	6,81	8,43	12,63

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste Tukey, ( $p \leq 0,05$ ). \*\* Significativo á 1% pelo teste F.

Os lotes 7, 9 e 11 apresentaram valores intermediários nos teste de germinação e germinação + remanescentes, porém nenhum inferior ao mínimo exigido pela instrução normativa 30/2008. O lote 12 foi o que apresentou os menores valores estatísticos em todos os testes, dessa maneira, suas sementes apresentam baixíssima viabilidade (Tabela 4).

Segundo AOSA (1983), a velocidade de germinação é um dos conceitos mais antigos de vigor de sementes. Lotes de sementes com porcentagens

de germinação semelhantes, frequentemente mostram diferenças em suas velocidades de germinação, indicando desta maneira, que existe diferença de vigor entre eles. Este método baseia-se no princípio de que aqueles lotes que apresentarem maior velocidade de germinação de sementes são os mais vigorosos, ou seja, que há uma relação direta entre a velocidade e o vigor de sementes.

Na Tabela 5, para comprimento de parte aérea os lotes 10 e 11 foram os únicos que diferiram estatisticamente do lote 8. Para comprimento de raiz os lotes 7, 8, 9, 10 e 11 não diferiram entre si, o único lote que apresentou valor inferior foi o lote 12.

No comprimento total, os lotes que se destacaram e que não diferem entre si estatisticamente, foram os lotes 7, 9, 10 e 11. Os lotes 8 e 12 apresentaram valor estatístico igual, porém inferior quando comparados aos demais lotes (Tabela 5).

As amostras que apresentam maiores valores de comprimento médios de plântulas normais ou das partes destas são consideradas mais vigorosas. As sementes vigorosas originam plântulas com maior taxa de crescimento, em função de apresentarem maior capacidade de transformação e de suprimento de reserva dos tecidos de armazenamento e da maior incorporação destes pelo eixo embrionário, desta maneira plântulas mais vigorosas terão maiores possibilidades de emergir e produzir plantas normais em condições adversas de campo (DAN et al., 1987; OLIVEIRA et al., 2009).

**Tabela 5.** Valores médios obtidos para comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), comprimento total (CT), matéria seca de parte aérea (MSPA), matéria seca de raiz (MSP) e matéria seca total (MST) em lotes de sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, na segunda etapa.

<b>Lotes</b>	<b>CPA</b> (cm)	<b>CR</b> (cm)	<b>CT</b> (cm)	<b>MSPA</b> (mg)	<b>MSR</b> (mg)	<b>MST</b> (mg)
Lote 7	5 ab	5 a	10 ab	10 ab	5,3 bc	15 bc
Lote 8	4 b	5 a	9 b	8,7 ab	5,6 bc	14,3 c
Lote 9	5 ab	5 a	10 ab	8,2 b	4 c	12 c
Lote 10	5 a	5 a	11 a	12 a	10 a	23 a
Lote 11	5 a	5 a	11 a	11 ab	9 ab	20 ab
Lote 12	4 ab	4 b	9 b	9 ab	5 c	14,4 bc
<b>Valores F</b>	7,180**	8,764**	9,028**	3,204*	7,886**	9,377**
<b>CV (%)</b>	7,07	4,24	4,58	19,26	27,62	16,63

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste Tukey, ( $p \leq 0,05$ ). \*, \*\* São: Significativo á 5% de probabilidade, á 1% de probabilidade, respectivamente.

Para massa seca de parte aérea o lote que produziu maior valor foi o lote 10, porém os lotes 7, 8, 11 e 12 não diferiram estatisticamente dele. Apenas o lote 9 apresentou valor inferior ao lote 10. Na massa seca de raiz, os lotes que apresentaram maiores valores estatísticos foram os lotes 10 e 11. Os lotes 7 e 8 obtiveram valores intermediários, porém não diferindo estatisticamente do lote 11. E os lotes que apresentaram os valores mais baixos foram os lote 9 e 12 (Tabela 5).

Na massa seca total dos lotes, o que apresentou maior valor foi o lote 10, seguido pelo lote 11 que em relação aos lotes 7 e 12 não diferiram estatisticamente. Os lotes 8 e 9 obtiveram os menores valores de massa seca de plântulas, porém seus valores estatísticos não diferiram dos lotes 7 e 12. O lote que apresentou maior valor no resultado de MSPA, MSR e MST foi o lote 10, conforme dados apresentados na Tabela 5.

As amostras que apresentam maiores pesos médios de matéria seca de plântulas normais são consideradas mais vigorosas. As sementes vigorosas proporcionam maior transferência de matéria seca de seus tecidos de reserva para o

eixo embrionário na fase de germinação, originando plântulas com maior peso, em função do maior acúmulo de matéria (NAKAGAWA, 1999).

Na Tabela 6, para concentração de 0,1% de sal de tetrazólio, observou-se que para classe um, sementes vigorosas (Vig), na leitura fresca o lote 10 apresentou maior valor, não diferindo apenas do lote 8 estatisticamente. Na leitura das imagens digitalizadas por escâner os lotes 7 ao 11 não diferiram entre si, porém o lotes 7 e 8 diferiram do lote 12, que apresentou o menor valor de todos. Com relação às imagens digitalizadas pela câmera os únicos que diferiram foram os lotes 7 e 8 em relação aos lotes 11 e 12.

Podemos observar que no experimento dois, ao utilizarmos as duas metades das sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu no teste de tetrazólio, tanto os valores da classe 1 (Vig) como da classe 2 (V) foram maiores comparados com o experimento um, apresentando maior correlação com os dados de qualidade e desempenho de plântulas apresentados nas tabelas anteriores. Desta maneira, quando utilizamos as duas metades das sementes, existe maior facilidade na avaliação da sua viabilidade, já que o analista pode fazer uma comparação entre elas, eliminando dúvidas quando analisadas cada parte individualmente, contribuindo assim para resultados mais precisos.

Segundo Dias e Alves (2008), em sementes de *Panicum maximum* quando utilizadas as duas metades das sementes, a visualização da estrutura embrionária é facilitada na realização do teste de tetrazólio.

**Tabela 6.** Valores médios obtidos para sementes vigorosas (Vig) e viabilidade (V) pelo teste de tetrazólio, através dos três métodos de leitura de tetrazólio na concentração de 0,1% de sal 2, 3, 5 trifenil cloreto de tetrazólio em lotes de sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, na segunda etapa.

<b>Lotes</b>	<b>LF Vig</b>	<b>LF V</b>	<b>LS Vig</b>	<b>LS V</b>	<b>LC Vig</b>	<b>LC V</b>
Lote 7	40 bc	90 ab	22 a	91 ab	52 a	90 a
Lote 8	47 ab	89 ab	28 a	90 ab	56 a	93 a
Lote 9	18 cd	75 bc	11 ab	81 b	41 ab	85 ab
Lote 10	69 a	93 a	17 ab	95 a	45 ab	99 a
Lote 11	33 bcd	69 c	12 ab	68 c	28 b	71 b
Lote 12	8 d	22 d	0 b	26 d	5 c	26 c
<b>Valores F</b>	11,896**	62,929**	6,201**	83,590**	15,253**	53,252**
<b>CV (%)</b>	35,03	9,22	52,02	7,55	25,44	9,52

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste Tukey, ( $p \leq 0,05$ ). \*\* Significativo á 1% pelo teste F. LF: leitura de sementes frescas; LS: leitura das imagens escaneadas; LC: leitura das imagens fotografadas com câmera digital.

Conforme os resultados obtidos na Tabela 6, pode-se dizer que para a classificação de sementes vigorosas (Classe 1) analisadas em qualquer um dos três métodos de leitura de tetrazólio, os resultados não foram promissores. Esses resultados também foram confirmados na Tabela 8, onde verificou-se baixa correlação entre o método de leitura fresca com os dois métodos de leitura de imagens digitalizadas.

Devido o fato das sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu possuírem tamanho pequeno, ficou difícil classifica-las como vigorosas, mesmo quando foi possível analisa-las através das imagens digitalizadas. Quando ampliadas, surgiram dúvidas sobre o vigor das sementes, porém quando se tratou apenas da viabilidade das sementes, nos dados apresentados na Tabela 7, notou-se distinção de viabilidade entre os lotes de forma nítida, o que na Tabela 9 foram confirmados, pois existiu alta correlação de viabilidade entre a leitura fresca e os dois métodos de leitura através de imagens digitalizadas, demonstrando assim, resultados promissores.

Conforme Dias e Alves (2008), quando se utiliza apenas uma metade da semente pode haver dúvidas quanto à coloração do embrião (pequeno) desta espécie, pois devido à dificuldade de cortar no meio do eixo embrionário, os tecidos

podem se colorir de forma a dificultar a avaliação do analista, ou o dano se localizar na parte descartada. Por isso utilizar as duas metades da semente pode proporcionar resultados mais precisos no teste de tetrazólio.

Ao utilizar solução na concentração de 1% do sal de tetrazólio para sementes vigorosas (Vig - Classe 1) observou-se que na leitura fresca o lote 10 diferiu apenas do lote 12, comportamento igual foi observado na leitura por imagem digitalizada por escâner, porém na leitura por imagem digitalizada por meio da câmera digital os lotes 10 e 11 diferiram somente do lote 12 que apresentou o menor vigor (Tabela 7).

**Tabela 7.** Valores médios obtidos para sementes vigorosas (Vig) e viabilidade (V) através dos três métodos de leitura de tetrazólio na concentração de 1% de sal 2, 3, 5 trifênil cloreto de tetrazólio em lotes de sementes de *Urochloa brizantha* cv. Marandu, na segunda etapa.

Lotes	LF Vig	LF V	LS Vig	LS V	LC Vig	LC V
Lote 7	13 ab	63 b	3 ab	61 b	5 ab	73 b
Lote 8	8 ab	58 b	6 ab	75 ab	5 ab	73 b
Lote 9	6 ab	51 b	3 ab	61 b	4 ab	64 b
Lote 10	24 a	89 a	13 a	88 a	6 a	93 a
Lote 11	18 ab	71 ab	3 ab	62 b	7 a	68 b
Lote 12	2 b	20 c	0 b	19 c	0,5 b	19 c
<b>Valores F</b>	3,338*	17,252**	3,257*	20,517**	3,994*	31,428**
<b>CV (%)</b>	75,48	18,88	106,90	16,79	49,10	13,53

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste Tukey, ( $p \leq 0,05$ ). \*, \*\* São: Significativo á 5% de probabilidade, á 1% de probabilidade, respectivamente. LF: leitura de sementes frescas; LS: leitura das imagens escaneadas; LC: leitura das imagens fotografadas com câmera digital.

Para a análise da viabilidade de sementes (V - Classe 2), o lote 10 apresentou a maior viabilidade não diferindo apenas do lote 11, já em relação à leitura de imagem digitalizada por escâner o lote 10 também apresentou maior viabilidade, seguido pelo lote 8 e na leitura da imagem digitalizada pela câmera



digital o lote 10 se destaca com melhor resultado em relação à todos os outros lotes (Tabela 7).

Segundo Novembre, Chamma e Gomes (2006), as imagens digitalizadas de sementes de *Urochloa brizantha* constituem um recurso adicional para avaliação da viabilidade das estruturas das sementes, que podem ser visualizadas e identificadas.

Analisando a tabela 8, verificamos a correlação existente entre os métodos de leitura, conforme a classe de sementes vigorosas (Classe 1), e as concentrações de 0,1% e 1% do sal de tetrazólio. Observou-se que a LF 0,1% teve maior correlação quando comparada com a LC 0,1%, devido à imagem da câmera se assemelhar à leitura realizada no laboratório através da lupa de iluminação fluorescente, pois esse método de capturar a imagem não permite elevada ampliação mantendo a alta resolução, como ocorre na imagem obtida pelo escâner.

Em relação à LF 1% obteve-se maior correlação com a LS 1%, isso ocorreu devido à concentração de 1% deixar a coloração muito forte do embrião da semente e quando ampliada as pequenas descolorações que aparecem normalmente, foram mascaradas.

**Tabela 8.** Coeficientes de correlação simples de Pearson (r) em relação à classe vigorosa de sementes, estimados entre a leitura fresca de tetrazólio com os outros métodos de leitura, por imagens digitalizadas por scanner e câmera e em duas concentrações do sal 2, 3, 5 trifenil cloreto de tetrazólio em lotes de sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu, na segunda etapa.

Variáveis	LS 0,1%	LS 1%	LC 0,1%	LC 1%
LF 0,1%	0,49*	-	0,63**	-
LF 1%	-	0,70**	-	0,51*

\*,\*\* e <sup>ns</sup> São: Significativo á 5% de probabilidade, á 1% de probabilidade e não significativo, respectivamente. LF: leitura de sementes frescas; LS: leitura das imagens escaneadas; LC: leitura das imagens fotografadas com câmera digital.

Na tabela 9, verificamos a correlação entre os métodos de leitura e à viabilidade das sementes (Classe 1 + Classe 2). Pode-se observar que em relação à LF 0,1% tanto a LS 0,1% quanto a LC 0,1% alcançaram valores de correlação elevados, podendo desta maneira, sugerir que a leitura do tetrazólio para viabilidade

das sementes, nos dois métodos, foram válidas, ainda demonstrando que a utilização de avaliação de imagens digitalizadas para o teste de tetrazólio em sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu pode proporcionar aos analistas benefícios e facilidades.

**Tabela 9.** Coeficientes de correlação simples de Pearson (r) em relação à viabilidade de sementes, estimados entre a leitura fresca de tetrazólio com os outros métodos de leitura, por imagens obtidas por scanner e câmera e em duas concentrações do sal 2, 3, 5 trifetil cloreto de tetrazólio em lotes de sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu, utilizando, na segunda etapa.

Variáveis	LS 0,1%	LS 1%	LC 0,1%	LC 1%
LF 0,1%	0,98**	-	0,97**	-
LF 1%	-	0,85**	-	0,91**

\*,\*\* e <sup>ns</sup> São: Significativo á 5% de probabilidade, á 1% de probabilidade e não significativo, respectivamente. LF: leitura de sementes frescas; LS: leitura das imagens escaneadas; LC: leitura das imagens fotografadas com câmera digital.

Comparando a LF 1% com os outros métodos, a LC 1% se sobressai, porém a LS 1% não apresentou um valor que pode ser considerado baixo, isso devido ao fato da imagem da câmera se assemelhar mais com a LF, pois na imagem do escâner, muitas vezes, conseguimos encontrar com mais facilidade, manchas em partes essenciais da semente devido à alta qualidade da imagem, tornando a avaliação mais detalhada (Tabela 9).

Na tabela 10, observa-se que para os testes de qualidade de sementes (G e G + Remas) houve maior correlação com os resultados do teste de tetrazólio na concentração de 0,1% do sal, nos três métodos de leituras, onde os valores foram significativos á probabilidade de 1% e todos maiores do que 0,60. Na concentração de 1%, nos três métodos de leitura, os resultados, na maioria, obtiveram significância a 5% e todos  $\leq 0,50$ .

Conforme Dias e Alves (2008) encontra-se maior dificuldade de análise com maior concentração do sal e sugerem que a concentração de 0,1% do sal de tetrazólio, promoveu melhores resultados no teste em sementes de *Urochloa brizantha*.

Soares et al. (2014), relata que em sementes de tamanho diminuto o aumento na concentração do sal pode proporcionar efeito reverso ao teste, ou seja, a invés da solução penetrar nos tecidos a semente pode perder água para a solução resultando em dificuldade na interpretação da viabilidade.

**Tabela 10.** Coeficientes de correlação simples de Pearson (r) estimados entre os testes de qualidade e vigor de sementes e os resultados do teste de tetrazólio nos diferentes métodos de leitura de tetrazólio para sementes vigorosas em duas concentrações do sal 2, 3, 5 trifetil cloreto de tetrazólio em lotes de sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu, na segunda etapa.

Variáveis	LF 0,1%	LF 1%	LS 0,1%	LS 1%	LC 0,1%	LC 1%
<b>G</b>	0,71 **	0,45 *	0,62 **	0,48 *	0,81 **	0,50 *
<b>G+Remas</b>	0,70 **	0,42 *	0,64 **	0,47 *	0,84 **	0,51 **
<b>Emerg.</b>	0,75 **	0,49 *	0,61 **	0,52 **	0,80 **	0,52 **
<b>IVE</b>	0,80 **	0,67 **	0,37 <sup>ns</sup>	0,67 **	0,50 *	0,36 <sup>ns</sup>
<b>CPA</b>	0,16 <sup>ns</sup>	0,38 <sup>ns</sup>	- 0,24 <sup>ns</sup>	0,22 <sup>ns</sup>	- 0,20 <sup>ns</sup>	- 0,07 <sup>ns</sup>
<b>CR</b>	0,50 *	0,45 *	0,33 <sup>ns</sup>	0,41 *	0,38 <sup>ns</sup>	0,25 <sup>ns</sup>
<b>CT</b>	0,36 <sup>ns</sup>	0,47 *	- 0,008 <sup>ns</sup>	0,34 <sup>ns</sup>	0,06 <sup>ns</sup>	0,06 <sup>ns</sup>
<b>MSPA</b>	0,36 <sup>ns</sup>	0,43 *	0,005 <sup>ns</sup>	0,34 <sup>ns</sup>	- 0,08 <sup>ns</sup>	- 0,03 <sup>ns</sup>
<b>MSR</b>	0,36 <sup>ns</sup>	0,45 *	- 0,04 <sup>ns</sup>	0,14 <sup>ns</sup>	0,04 <sup>ns</sup>	- 0,04 <sup>ns</sup>
<b>MST</b>	0,40 *	0,49 *	- 0,02 <sup>ns</sup>	0,26 <sup>ns</sup>	- 0,01 <sup>ns</sup>	- 0,04 <sup>ns</sup>

\*, \*\* e <sup>ns</sup> São: Significativo á 5% de probabilidade, á 1% de probabilidade e <sup>ns</sup> não significativo, respectivamente. LF: leitura de sementes frescas; LS: leitura das imagens escaneadas; LC: leitura das imagens fotografadas com câmara digital.

Para os testes de vigor realizados, podemos observar que a Emergência foi o único que apresentou, na maioria dos resultados, significância a 1% de probabilidade para as leituras de tetrazólio nos três métodos. Seguido do IVE, que apenas não apresentou correlação nas leituras LS 0,1% e LC 1% (Tabela 10).

Os testes de vigor de desempenho de plântulas: comprimento e massa seca não foram promissores em relação aos três métodos de leituras e nas duas concentrações (Tabela 10).

Analisando a tabela 11 podemos observar que existe uma alta correlação entre a LF 0,1% para sementes viáveis com a germinação e a germinação + remanescente, o que também acontece com a LC 0,1%. Pode-se destacar que quando comparados os métodos de LF e LC os valores são semelhantes, porém quando comparamos os valores de correlação entre a LF 0,1% e a LS 0,1% observou-se que os valores do escâner são um pouco inferiores. Com base nos resultados de correlação, é válido dizer que a leitura de tetrazólio quando realizada por imagens digitalizadas através da câmera digital, na concentração de 0,1% do sal de tetrazólio, se assemelhou a leitura fresca realizada nos laboratórios de sementes, sendo assim um recurso que pode ser utilizado á fim de proporcionar benefícios aos analistas, que além de armazenar as imagens, a leitura não precisa ser realizada rapidamente no laboratório no mesmo dia.

**Tabela 11.** Coeficientes de correlação simples de Pearson (r) para viabilidade de sementes, estimados entre os testes de germinação (G) e germinação + viabilidade de sementes remanescentes (G + Remas) e os resultados do teste de tetrazólio nos diferentes métodos de leitura de tetrazólio em duas concentrações do sal 2, 3, 5 trifenil cloreto de tetrazólio em lotes de sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu, na segunda etapa.

Variáveis	LF 0,1%	LF 1%	LS 0,1%	LS 1%	LC 0,1%	LC 1%
<b>G</b>	0,95**	0,85**	0,74**	0,93**	0,95**	0,89**
<b>G + Remas</b>	0,95**	0,85**	0,72**	0,94**	0,96**	0,88**

\*, \*\* e <sup>ns</sup> São: Significativo á 5% de probabilidade, á 1% de probabilidade e <sup>ns</sup> não significativo, respectivamente. LF: leitura de sementes frescas; LS: leitura das imagens escaneadas; LC: leitura das imagens fotografadas com câmera digital.

Os resultados de correlação de germinação e germinação + remanescentes na concentração de 1% do sal de tetrazólio se mostraram inferiores, leitura fresca e imagens por câmera digital, á concentração de 0,1% (Tabela 11).

De forma geral, os resultados de correlação de germinação e germinação + remanescentes em relação à viabilidade das sementes, dentre todos os métodos de leituras e suas concentrações, proporcionaram resultados satisfatórios de alta correlação. Podemos sugerir que as imagens digitalizadas tanto

pelo escâner quanto pela câmara digital podem ser utilizadas como um recurso válido para o teste de tetrazólio (Tabela 11).

Vários autores utilizam as imagens digitalizadas/computadorizadas como recursos para avaliar viabilidade, vigor por meio de diferentes técnicas.

Teixeira et al. (2006), utilizou a análise computadorizada de imagens para avaliar o vigor de sementes de milho. A técnica digital possibilita a associação dos dados obtidos no processamento das imagens a eventuais diferenças de vigor existentes em lotes de sementes de milho, de maneira similar a outros métodos destinados à avaliação do vigor de sementes da referida espécie.

Moreira et al. (2002), utilizaram um software, que por meio das análises de imagens identificarem áreas com diferentes níveis de atividade metabólica em sementes de feijão, no teste de tetrazólio, por meio lasers.

## 6 CONCLUSÕES

A avaliação do teste de tetrazólio por meio de leitura fresca ou por imagens obtidas com câmera fotográfica, com utilização da solução do sal 2-3-5 trifênil tetrazólio na concentração de 0,1% foi eficiente para avaliar a viabilidade de sementes de *Urochloa brizantha* cv Marandu.

Não foram obtidas correlações promissoras para leitura do teste de tetrazólio considerando classes de vigor, não sendo possível estabelecer um protocolo para obtenção de informações de vigor via teste de tetrazólio por qualquer método estudado.

## REFERÊNCIAS

- ABBADE, L.C.; MASSANORI, T. Teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia roseoalba* (Ridl.) Sandwith - bignoniaceae, submetidas ao armazenamento. **Revista Árvore**, Viçosa-MG, v.38, n.2, p.233-240, 2014.
- ABDUL-BAKI, A.A.; ANDERSON, J.D. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. **Crop Science**, v.13, n.6, p.630-633, 1973.
- ALVARENGA, R.O.; MARCOS FILHO, J.; GOMES JUNIOR, F.G. Avaliação do vigor de sementes de milho super doce por meio de análise computadorizada de imagens de plântulas. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.34, n.3, p. 488-449, 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**, v.24, n.2, p.1-5, 2002.
- AÑEZ, L.M.M. et al. Padronização da metodologia do teste de tetrazólio para sementes de *Jatropha elliptica* M. Arg. (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.9, n.3, p.82-88, 2007.
- AOSA - ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. 1983. 88p. (Contrib. no 32 to the Handbook on Seed Testing).
- AZERÊDO, G.A.; PAULA, R.C.; VALERI, S.V. Viabilidade de sementes de *Piptadenia moniliformis* Benth. pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 33, nº 1 p. 061 - 068, 2011.
- BAALBAKI, R. et al. **Seed vigor testing handbook**. Ithaca, New York: Association of Official Seed Analysts, 2009. 346p. (Contribution 32 to the Handbook on Seed Testing).
- BITTENCOURT, S.R.M. et al. Metodologia alternativa para condução do teste de envelhecimento acelerado em sementes de milho. **Ciência Rural**, v.42, n.8, p.1360-1365, ago. 2012.
- BODDEY, R. M. et al. Nitrogen cycling in Brachiaria pastures: the key to understanding the process of pasture decline. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 103, p. 389-403, 2004.
- BOTREL, M.A.; NOVAES, L.P.N.; ALVIM, M.J. Características forrageiras de algumas gramíneas tropicais. Juiz de Fora: EMBRAPA–CNPGL, 1998. 35p.
- BRAGA JÚNIOR, R.A. et al. Potencial do bio-speckle laser para avaliação da viabilidade de sementes. **Ciência e Agrotecnologia**, v.25, n.3, p.645-649, 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF: MAPA/ ACS, 2009. 395p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 30, de 21 de maio de 2008. Estabelecer normas e padrões para produção e comercialização de sementes de espécies forrageiras de clima tropical, na forma dos Anexos I a VII desta Instrução, que terão validade em todo o Território Nacional.

**Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 20 de dez. 2011. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/sementes-e-mudas/legislacao>>. Acesso em: 14 de nov. de 2017.

CARDOSO, E.D. et al. Desempenho fisiológico e superação de dormência em sementes de *Brachiaria brizantha* submetidas a tratamento químico e envelhecimento artificial. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 1, p. 21-38, jan./fev. 2014.

CARVALHO, N.M. O conceito de vigor em sementes. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. ED. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal, FUNEP, 1994. p.1-30.

CARVALHO, L.F. et al. Influência da temperatura de embebição da semente de soja no teste de condutividade elétrica para avaliação da qualidade fisiológica. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, p.9-17, 2009.

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

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, 2012.

CLEMENTE, A.C.S. et al. Preparo das sementes de café para avaliação da viabilidade pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, p.38-44, 2011.

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, 2009.

COPELAND, L.O.; MCDONALD, M.B. **Principle of seed science and technology**. New York: Chapman & Hall, 1995. 409p.

COSTA, N.L. et al. Manejo de pastagens de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu em Rondônia. **EMBRAPA**, n. 33, p.1-2, ago. 2001.

COSTA, K.A.P. et al. Efeito da estacionalidade na produção de matéria seca e composição bromatológica de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Ciência Animal Brasileira**, v.6, n.3, p.187-193, 2005.

COSTA, C.J.; SANTOS, C.P. dos. Teste de tetrazólio em sementes de leucena. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, p.66-72, 2010.



CRUSCIOL, C.A.C. et al. Integração lavoura-pecuária: benefícios das gramíneas perenes nos sistemas de produção. **Informações Agrônômicas**, n.125, p.2-15, 2009.

CUSTÓDIO, C.C.; DAMASCENO, R.L.; MACHADO NETO, N.B. Imagens digitalizadas na interpretação do teste de tetrazólio em sementes de *Brachiaria brizantha*. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 2 p. 334-341, 2012.

DAN, E.L. et al. Transferência de matéria seca como método de avaliação do vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 9, 1987.

DELL'AQUILA, A. Application of a computer-aided image analysis system to evaluate seed germination under different environmental conditions. **Italian Journal of Agronomy**, v.8, n.1, p.51-62, 2004.

DELL'AQUILA, A. Towards new computer imaging techniques applied to seed quality testing and sorting. **Seed Science and Technology**, v.35, n.3, p.519-538, 2007.

DELOUCHE, J.C; CALDWELL, W.P. Seed vigor and vigor tests. **Proceedings of Association of Official Seed Analysts**, v. 50, p. 124-129, 1976.

DESWAL, D.P.; CHAND, U. Standardization of the tetrazolium test for viability estimation in ricebean (*Vigna umbellata* (Thunb.) Ohwi & ohashi) seeds. **Seed Science and Technology**, v.25, p.409-417, 1997.

DIAS, M.C.L.L.; ALVES, S.J. Avaliação da viabilidade de sementes de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich) Stapf pelo teste de tetrazólio. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n.3, p.145-151, 2008.

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

ELLIS, R.H. Seed and seedling vigour in relation to crop growth and yield. **Plant Growth Regulation**, v.11, n.2, p.249-255, 1992.

EMBRAPA GADO DE CORTE. **Gramíneas forrageiras do gênero *Brachiaria***. Campo Grande, 1980.

EUCLIDES, V. P. B. et al. Brazilian scientific progress in pasture research during the first decade of XXI century. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p.151-168, 2010.

FERRAZ, F. M. **Pastagens garantem o futuro da agropecuária brasileira. Anuário da pecuária brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria e Agroinformativos, 2003. 56p.

FERREIRA, D. F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001>

FRANÇA NETO, J.B. Qualidade fisiológica da semente. In: FRANÇA NETO, J.B.; HENNING, A.A. **Qualidades fisiológica e sanitária de semente de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1984. p. 5-24. (Circular Técnica, 9).

FRANÇA-NETO, J.B. Testes de tetrazólio para determinação do vigor de sementes. In: KRZYŻANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.1-7.

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**, v.36, n.6, p.1117-1120, 2001.

GERDES, L. et al. Avaliação de características agronômicas e morfológicas das gramíneas forrageiras Marandu, Setária e Tanzânia aos 35 dias de crescimento nas estações do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, p.947-954. 2000.

GONZÁLEZ, A. M. T.; MORTON, C. M. Molecular and morphological phylogenetic analysis of *Brachiaria* and *Urochloa* (Poaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, Amsterdam, v.37, p.36-44, 2005.

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

GRABE, D.F. Significance of seedling vigor in corn. **Proceedings of the Annual Hybrid Corn Industry Research Conference**, v.21, p.39-44, 1966.

GUNASEKARAN, S.; COOPER, T.M.; BERLAGE, A.G. Evaluating quality factors of corn and soybeans using a computer vision system. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v.31, n.4, p.1264- 1271, 1988.

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

HAMPTON, J.G. What is seed quality. **Seed Science and Technology**, v.30, p.1-10, 2002.

HOSOMI, S.T. et al. Preconditioning *Cattleya* seeds to improve the efficacy of the tetrazolium test for viability. **Seed Science and Technology**, v.39, n.1, p.178-189, 2011.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION – ISTA. Biochemical test for viability: topographical tetrazolium test. In: **INTERNATIONAL rules for seed testing**. Bassersdorf: ISTA, 2008. cap. 6, p.1-30.

ISELY, D. Vigor tests. **Proceedings of Association of Official Seed Analysts**, v.47, p. 176-182, 1957.

ISTA - INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **Handbook of Vigour Test Methods**. Zurich, Switzerland: ISTA, 1981. p. 72.

JANN, R. C.; AMEN, R. D. What is germination?. KHAN, A. A. (Ed.). **The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination**. 2. ed. New York: Elsevier/North-Holland, 1980. p. 7-28.

KAK, A.; PANDEY, C.; GUPTA, V. Assessment of viability of *Jatropha curcas* L. seeds using the tetrazolium test. **Seed Science and Technology**, v.37, p.512-515, 2009.

KIKUTI, A.L.P; MARCOS FILHO, J. Testes de vigor em sementes de alface. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n.1, 2012.

KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J.B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 218p., 1999.

LIBERAL, O. Controle de qualidade a nível de laboratório. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EDUCAÇÃO AGRÍCOLA SUPERIOR. **Curso de aperfeiçoamento por tutoria à distância – Sementes**. Brasília, 1987.

SÃO PAULO (GOVERNO). Secretaria de Agricultura e Abastecimento. **LUPA – Levantamento censitário das unidades de produção agropecuária do estado de São Paulo**. Secretaria de Agricultura e Abastecimento, CATI/ IEA 2007/08. Disponível em: <<http://www.cati.sp.gov.br/projetolupa/dadosestado.php>>. Acesso em: 02 jul. 2016.

MACEDO, M. C. M. et al. Degradação de pastagens, alternativas de recuperação e renovação, e formas de mitigação. Encontro de adubação de pastagens da scot consultoria-tec-fértil. **Anais...** Ribeirão Preto: EMBRAPA, 2013. p. 158-181.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p.176-77, 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, 2011.

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

MARCOS FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Sci. Agric.**, v.72, n.4, p.363-374, 2015.

MARCOS FILHO, J; CÍCERO, S.M; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: FEALQ, 1987. p 230.

MARCOS FILHO, J; KIKIUTI, 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**, Lavras, v. 31, n.1, p. 102-112,2009.

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

MCDONALD, M.B. Seed quality assessment. **Seed Science Research**, v.8, n.2, p.265-276, 1998.

MCDONALD, M.B.; EVANS, A.F.; BENNETT, M.A. Using Scanners to improve seed and seedling evaluations. **Seed Science and Technology**, v.29, n.3, p.683-689, 2001.

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, 2005.

MENEZES, N. L. **A semente e sua germinação**. Santa Maria: UFSM, 2012.

MOORE, R.P. Tetrazolium staining for accessing seed quality. In: HEYDECKER, W. **Seed ecology**. London: Butterworth, p. 347-266, 1973.

NAKAGAWA, J. et al. Estudo de testes para avaliar a qualidade fisiológica das sementes de amendoim. **Revista Brasileira de Sementes**, v5, p. 63-76, 1983.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D; FRANÇA NETO, J.B. **Vigor de Sementes: conceitos e testes**. Londrina, ABRATES, 1999.

NASCIMENTO, A.L. et al. Desenvolvimento de um modelo para biospeckle na análise de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, p.456-461, 2007.

NOVEMBRE, A.D.L.C.; CHAMMA, H.M.C.P; GOMES, R.B.R. Teste de tetrazólio para sementes de *Braquiária*. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 2, p.147-151, 2006.

NUNES, S.F; PENTEADO, M.S.O; GOMES, D.T. *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. Campo Grande: **Embrapa-CNPGC**, 1984. p.31. (Documento, 21).

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

OLIVEIRA, A.C.S. et al. Testes de vigor em sementes baseados no desempenho de plântulas. **Revista Científica Internacional Idexada**, nº 04, 2009.

OLIVEIRA, L.M.; CARVALHO, M.L.M.; DAVIDE, A.C. Teste de tetrazólio para avaliação das sementes de *Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert – Leguminosae Caesalpinioideae. **Cerne**, v.11, p.159-166, 2005.

OTONI, R.R; MCDONALD, M.B. Moisture and temperature effects on maize and soybeans seedlings using the seed vigor imaging system. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 27, n.2, p.234-247, 2005.

PEREIRA, A.V. et al. **Melhoramento de forrageiras tropicais**. Recursos genéticos e melhoramento – plantas. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 549-602.

PERRY, D.A. Seed vigour and field establishment. **Horticulture Abstracts**, v.42, p. 334-342, 1972.

PERRY, D.A. Report of the vigour test committee 1974-1977. **Seed Science and Technology**, v.6, n.1, p.159-181, 1978.

PINTO, C. A. G. et al. Image analysis in the evaluation of the physiological potential of maize seeds. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 2, p. 319-328, abr.-jun., 2015.

PINTO, T.L.F. et al. Avaliação da viabilidade das sementes de pinhão manso pelos testes de tetrazólio e de raios X. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, p.195-201, 2009.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, p.289, 1977.

PIRES, W. **Manual de pastagem**: formação, manejo e recuperação: o que plantar. Viçosa: Aprenda Fácil, 2006. p.59-119.

PORTO, E.M.V. et al. Rendimento forrageiro da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu submetida a doses crescentes de fósforo. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 11, n. 3, p.25-34, 2012.

RENVOIZE, S. A, CLAYTON, W. D; KABUYE, C. H. S. Morphology, taxonomy, and natural distribution of *Brachiaria*: **biology, agronomy and improvement**. Cali-Colombia: CIAT, Campo Grande- Brasil: Embrapa, 1996. v. 1, p.1-15.

ROVERSI, T.; THEISEN, G. Teste de tetrazólio. **Informativo Fundacep**, v.12, n.1, p.1-2, 2005.

SANTOS, M.A.O.; NOVENBRE, A.D.L.C.; MARCOS FILHO, J. Tetrazolium test to assess viability and vigour of tomato seeds. **Seed Science and Technology**, v.35, p.213-223, 2007.

SENRA, A. F. **Efeito do espaçamento entre linhas e de corte na produção de sementes de *Brachiaria brizantha* cvs. Marandu e Xaraés**. 2006. 72 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2006.

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, 2012.

SILVA FILHO, J.P. Qualidade de sementes de forrageiras. **Informativo ABRATES**, v.19, n.2, p.81-82, 2009.

SILVA, T. L.; GAMEIRO, A. H. O comércio exterior brasileiro de sementes forrageiras. GAMEIRO, A. H. (Org.). **Competitividade do agronegócio brasileiro: textos selecionados**. 1. ed. 2006, v. 1, p. 155-168. Disponível em: <[http://lae.fmvz.usp.br/pdf/2005\\_Silva\\_Gameiro.pdf](http://lae.fmvz.usp.br/pdf/2005_Silva_Gameiro.pdf) >.

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

SOARES FILHO, C. V. Recomendações de espécies e variedades de *Brachiaria* para diferentes condições. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 11. 1994, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1994. p. 2548.

SOARES, J. S. et al. Identificação da viabilidade de sementes de orquídeas pelo teste de tetrazólio. **Ciências agrárias**, Londrina, v. 35, n. 5, p. 2275-2284, set./out. 2014

SOUZA, F. H. D. **Produção de sementes de gramíneas forrageiras tropicais**. São Carlos: Embrapa Sudeste, 2003. documento 30, 43 p.

SOUZA, C.R.; OHLSON, O.C.; GAVAZZA, M.I.A.; PANOBIANCO, M. Tetrazolium test for evaluating triticale seed viability. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, p.163-169, 2010.

SPINA, I.A.T.; CARVALHO, N.M. Testes de vigor para selecionar lotes de amendoim antes do beneficiamento. **Ciência Agrônomic**, Jaboticabal, v.1, n.1, p.10, 1986.

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

TEKRONY, D.M; EGLI, D.B. Relationship of seed vigor to crop yield. **Crop Science**, v.31, n.3, p. 816-822, 1991.

TEKRONY, D.M. Precision is an essential component in seed vigour testing. **Seed Science and Technology**, v.31, p.435-447, 2003.

TOMAZ, C. A. et al. Duração do teste de germinação do capim-tanzânia. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 80-87, 2010.

TOMAZ, C. A. et al. Time reduction for surinam grass seed germination test. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 39, n. 5, p. 488-497, 2015.

TOMAZ, C. A. et al. Period of time taken by *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick seed to complete germination. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 37, n. 2, p. 693-700, 2016.

VERZIGNASSI, J. R. A pesquisa em sementes de espécies forrageiras de clima tropical no Brasil. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 23, n. 2, p. 36-37, 2013.

VIEIRA, M. G. G. C.; VON- PINHO, E. V. R. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de algodão. KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.1.1-1.13.

VILELA, H. **Séries gramíneas tropicais: gênero *Brachiaria* (*Brachiaria brizantha* cv. MG5, Vitória)**. Belo Horizonte: Portal Agronomia, 2009.

VOOREN, J.G.; HEIJDEN, G.W.A.M. Measuring the size of French beans with image analysis. **Plant Varieties and Seeds**, Cambridge, v.6, n.47, p.47-53, 1993.

WALTON, P.D. **Production & management of cultivated forages**. Reston: Reston Publishing, 1983. 336p.

WITT, F.A.P. et al. Qualidade sanitária de sementes de *Urochloa* e *Panicum* comercializada no norte mato-grossense. **Enciclopédia Biosfera**, v.11, n. 21, p.16-36, 2015.

WOODSTOCK, L.W. Physiological and biochemical tests for seed vigor. **Seed Science & Technology**, v.1, n.1, p. 127-57, 1973.

ZAYAS, I.; CONVERSE, H.; STEELE, J. Discrimination of whole from broken corn kernels with image analysis. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v.33, n.5, p.1642-1646, 1990.