

## ANÁLISE DE IMAGENS NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE SEMENTES DE MILHO LOCALIZADAS EM DIFERENTES POSIÇÕES NA ESPIGA<sup>1</sup>

VITOR HENRIQUE VAZ MONDO<sup>2</sup>, SILVIO MOURE CICERO<sup>3</sup>

RESUMO – A análise de imagens, para avaliar a qualidade de sementes, é um método de precisão que possibilita examinar, com detalhes, a região danificada ou alterada, sua localização e extensão. Por ser um método não destrutivo, as sementes em análise podem ser submetidas a testes fisiológicos e, desta forma, é possível estabelecer as relações de causa e efeito. Assim, a pesquisa teve o objetivo de estudar os efeitos de diferentes posições da semente de milho na espiga, sobre a qualidade, utilizando-se a técnica de análise de imagens. Para tanto, as espigas do cultivar DKB 212 foram debulhadas de maneira que pudessem ser isoladas as sementes das posições proximal, intermediária e distal. As sementes foram caracterizadas fisicamente e avaliadas quanto ao vigor e sanidade. Paralelamente, as sementes foram radiografadas, fotografadas (faces ventral e dorsal) e destinadas ao teste de primeira contagem de germinação; as plântulas normais, anormais e sementes mortas foram, também, fotografadas. Todas as imagens obtidas foram disponibilizadas em computador para serem examinadas simultaneamente e, assim, fazer um diagnóstico completo para cada semente. As sementes das posições proximal e intermediária apresentam qualidade semelhante e superiores às da posição distal; sementes esféricas com eixos embrionários apresentando torções, porém não alterados, não tem sua qualidade diminuída, no entanto as alterações nos eixos embrionários identificados por manchas escuras e sem definição, presentes em maior quantidade na posição distal da espiga, são responsáveis pela redução da qualidade das sementes.

Termos para indexação: *Zea mays*, raios X, germinação, vigor, imagem digital.

### USING IMAGE ANALYSIS TO EVALUATE THE QUALITY OF MAIZE SEEDS LOCATED IN DIFFERENT POSITIONS ON THE EAR

ABSTRACT – The possibility of using the image analysis technique for assessing the quality of seeds is very promising, it is a precision method that enables one to examine in detail the damaged or altered region, its location and extent. As it is a non-destructive method, the seeds being analyzed can be submitted to physiologic tests and thus, allow the relations of cause and effect to be established. Thus, the objective of this research was to study the effects of the positions of maize seeds on ears on quality, using the image analysis technique. For this purpose, ears of the cultivar DKB 212 were shelled so that the seeds from the proximal, intermediate and distal positions could be isolated. The seeds coming from the referred positions were physically characterized and assessed with regard to vigor and sanitary condition. Simultaneously, the seeds were radiographed, photographed (ventral and dorsal faces) and destined for germination first count test; the normal and abnormal seedlings and dead seeds were also photographed. All the images obtained were made available on the computer in such a way that they could be examined simultaneously and thus make a complete diagnosis for each seed. The determinations performed indicated that the seeds in the proximal and intermediate positions presented a similar quality and were superior to

<sup>1</sup> Submetido em 17/03/2004. Aceito para publicação em 20/09/2004.

<sup>2</sup> Graduando em Eng. Agrônoma, ESALQ/USP; bolsista da FAPESP

<sup>3</sup> Professor Titular, Departamento de Produção Vegetal, ESALQ/USP; Cx. Postal 9; 13418-900, Piracicaba, SP; bolsista do CNPq; e-mail: smcicero@esalq.usp.br

those of the distal position; spherical seeds with embryonic axes presenting torsions, but that were not altered, were not of a reduced quality, however, the alterations in the embryonic axes (dark, undefined stains), present in a larger quantity in the distal region of the ear, were responsible for the loss of seed quality.

Index terms: *Zea mays*, X-ray, germination, vigor, digital images.

## INTRODUÇÃO

É altamente desejável nas sementes de milho a uniformidade de forma e tamanho, para facilitar tratamentos químicos e a semeadura; porém, existe grande variação na uniformidade das sementes na própria espiga, quanto à forma e tamanho. As sementes de milho, geralmente, são classificadas quanto a sua forma em esféricas ou achatadas.

Scotti & Krzyzanowski (1977), Shieh & McDonald (1982) e Aguilera et al. (2000) verificaram maiores germinação e vigor, para as sementes achatadas comparativamente às sementes esféricas. No entanto, Andrade et al. (1997) observaram que tanto o tamanho como a forma das sementes não interferem no desenvolvimento das plantas, inclusive na produção de grãos.

Sementes esféricas e achatadas do híbrido B-15 foram comparadas quanto à germinação, depois de armazenagem sobre condições ambientais predominantes no México, tendo sido encontradas diferenças consideráveis entre elas, com melhores resultados para as achatadas (Moreno-Martinez et al., 1998).

A distribuição dos fotossintetizados durante o desenvolvimento da espiga de milho ocorre de acordo com a formação das sementes; aquelas formadas na porção central são as primeiras a receberem, seguidas pelas localizadas na base e, por último, as do ápice (Shieh & McDonald, 1982). Essa distribuição de fotossintetizados é determinada pela seqüência em que os óvulos são fertilizados (Aldrich et al., 1975). Além disso, o fato da espiga se manter a maior parte do período de maturação na posição vertical, torna mais fácil a penetração de patógenos através da abertura no ápice da espiga. Esses fatos explicam porquê as sementes do ápice da espiga podem ser inferiores em germinação, pois elas seriam as últimas a receberem os fotossintetizados da planta e são mais propensas a sofrer a ação de microorganismos patogênicos.

As sementes da base da espiga e do ápice são formadas sob condições diferentes e, assim, a qualidade fisiológica entre elas poderá ser diferente.

A posição onde a semente de milho é formada tem

influência significativa no seu peso, independentemente do genótipo; na região da base formam-se as sementes mais pesadas, seguidas da porção central e da porção apical (Batistella Filho et al., 2002).

Diferentes graus de infecção por fungo são encontrados quando se comparam as sementes da base e as do ápice, podendo ser também uma das razões pelas quais as sementes da base serem superiores as do ápice, em relação ao potencial de germinação (Batistella Filho et al., 2002).

Diante do exposto, seria importante estudar, de maneira mais detalhada, as possíveis relações de causa e efeito entre as sementes achatadas e esféricas, bem como entre as sementes situadas nas regiões proximal e distal da espiga. A técnica de análise de imagens pode ser utilizada para elucidar tais fatos.

A análise de imagens consiste na obtenção de informações a respeito de objetos registrados em uma imagem digital, com base em algumas características como cor, textura, etc. Essa técnica, por se tratar de um método não destrutivo, permite que as sementes submetidas à análise sejam colocadas para germinar, permitindo o estabelecimento de relações entre os danos mecânicos ou alterações observadas internamente nas sementes e os prejuízos causados para a germinação (Cícero et al., 1998).

A utilização do teste de raios-X, padronizado pela Associação Internacional de Análise de Sementes (ISTA, 1996), possibilita a visualização da posição, forma e deformações que ocorrem com o eixo embrionário das sementes. Essa técnica tem sido ultimamente utilizada para caracterizar e detectar danos internos em sementes (Cícero et al., 1998; Carvalho et al., 1999; Obando Flor, 2000).

O desenvolvimento da técnica de raios-X em sementes também tem permitido a previsão de plântulas anormais pela análise de imagens de embriões imaturos ou com aberrações, como, por exemplo, em estudos realizados por Bino et al. (1993), nos quais foi possível separar sementes de *Arabidopsis thaliana* de fenótipo selvagem das sementes de fenótipo mutante. Nas radiografias das sementes mutantes os autores identificaram variabilidade na expressão fenotípica quando as compararam com as radiografias das sementes

selvagens.

Girardin et al. (1993) e Carvalho et al. (1999), trabalhando com sementes de milho com danos de estresse em pré-colheita, reforçaram a afirmação de que a análise de imagens é o melhor método não destrutivo para avaliar as características morfológicas internas da semente.

Aspectos morfológicos das sementes, possivelmente associado à viabilidade, podem ser avaliados pelo teste de raios-X (Copeland & McDonald, 1985). Assim, vários pesquisadores têm procurado relacionar a anatomia das sementes com a germinação ou morfologia das plântulas, cuja correspondência tem variado de acordo com a espécie (Simak, 1991). Dentre as espécies em que se verificou tal correspondência destacam-se as sementes de tomate (Van der Burg et al., 1994), milho (Cícero et al., 1998; Carvalho et al., 1999; Obando Flor, 2000), *Peltophorum dubium* – canafístula (Oliveira, 2000), *Cupressus sempervirens* – cipreste italiano (Battisti et al., 2000) e de aroeira-branca (Machado, 2002).

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi estudar os efeitos das diferentes posições da semente de milho na espiga, sobre a qualidade, utilizando-se a técnica de análise de imagens.

## MATERIALE MÉTODOS

A pesquisa foi realizada nos Laboratórios de Análise de Imagens e de Análise de Sementes, ambos pertencentes ao Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, em Piracicaba, SP.

As espigas de milho, cultivar DKB 212, foram manualmente debulhadas, primeiramente as sementes da posição distal das espigas, retirando-se as três primeiras fileiras. Em seguida, as sementes da posição proximal foram debulhadas de maneira similar, retirando-se as três primeiras fileiras. Por fim, as sementes restantes foram debulhadas para constituir a amostra da posição intermediária das espigas (Figura 1).

As sementes de cada região foram misturadas, homogeneizadas e, após redução da quantidade inicial, constituíram as amostras representativas das posições proximal, distal e intermediária, destinadas às análises subsequentes.

Posteriormente, as sementes seguiram para uma caracterização física quanto à forma, tamanho e peso. Assim,

as sementes das posições proximal e distal, predominantemente de forma esférica, foram caracterizadas quanto ao tamanho em peneiras de crivos oblongos, enquanto as sementes da posição intermediária, predominantemente de forma achatada, em peneiras de crivos circulares. Para tanto, duas subamostras de 100g de sementes puras foram passadas através de peneiras manuais, dispostas em ordem decrescente em relação ao tamanho dos crivos, e agitadas por um minuto. As sementes retidas foram separadas e pesadas e, em seguida, calculado seu percentual. Para a caracterização de peso, foi determinado o peso de mil sementes, seguindo as recomendações das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992).

Em seguida, foram realizados os testes de raios-X, da seguinte forma: seis repetições de 30 sementes de cada tratamento (sementes localizadas nas posições proximal, intermediária e distal da espiga) foram colocadas sobre uma placa de acrílico, especialmente desenvolvida para a condução da análise; as sementes foram numeradas de acordo com a posição ocupada no recipiente, de maneira que pudessem ser identificadas nas determinações posteriores. A placa de acrílico contendo as sementes foi colocada diretamente sobre um filme de raios-X (Kodak MIN-R 2000, tamanho de 18x24 cm), a uma distância de 35 cm da fonte de raios-X. As imagens foram obtidas com intensidade de 15 kV e 5 minutos de exposição, utilizando-se equipamento FAXITRON X-Ray, modelo MX-20. A revelação foi efetuada numa processadora Hope X-Ray, modelo 319 Micromax. Posteriormente, as imagens dos filmes de raios-X foram capturadas por um Scanner Umax, modelo Powerlook 1100, para ampliação e visualização em computador Pentium III.

Paralelamente, foram obtidas imagens fotográficas externas das faces ventral e dorsal das sementes, bem como das plântulas ou das sementes mortas oriundas de cada semente após a condução do teste de primeira contagem de germinação, por meio de uma câmera fotográfica digital Nikon, modelo D1, acoplada ao computador.

O teste de primeira contagem de germinação foi conduzido com as sementes de cada tratamento, previamente identificadas (numeradas), distribuídas em grupos de 10, sendo duas fileiras de cinco sementes espaçadas, sobre duas folhas de papel-toalha (no terço superior do substrato), cobertas com mais uma folha de papel-toalha e enroladas; as folhas de papel foram umedecidas com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa das mesmas. Os rolos foram colocados em germinador e mantidos à 25°C. Decorridos quatro dias após a instalação do teste, as plântulas normais, anormais e as sementes mortas foram fotografadas com a

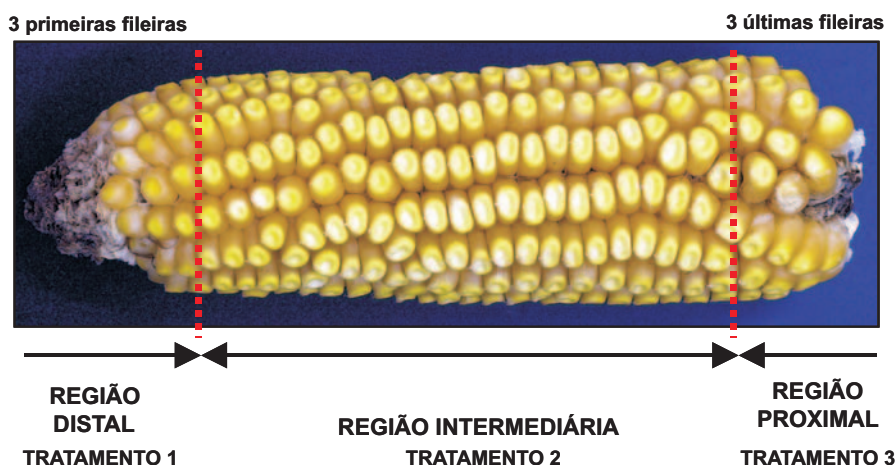


FIGURA 1. Localização dos tratamentos na espiga de milho.

câmera digital acoplada ao computador.

As sementes foram examinadas externa e internamente para verificar a ocorrência de danos mecânicos, utilizando-se a técnica de análise de imagens, de maneira similar à adotada por Cicero et al. (1998) e Cicero & Banzatto Junior (2003). Para tanto, os danos mecânicos observados nas imagens externas e internas das sementes receberam notas, de acordo com os critérios contidos na Tabela 1. Por outro lado, a morfologia dos embriões foi avaliada quanto às possíveis alterações e torções observadas nas imagens de raios-X, segundo critérios contidos na Tabela 2.

As imagens e suas respectivas notas foram disponibilizadas no computador juntamente com a imagem da plântula ou da semente morta relativa àquela semente. Desta

**TABELA 1. Critérios utilizados para caracterizar as notas (x,y) para os danos mecânicos observados no embrião e no endosperma das sementes de milho através das imagens de raios-X e das faces ventral e dorsal das sementes. Piracicaba, 2004.**

Dano	Embrião	Endosperma
Não observado	1	1
Não severo	2	2
Severo	3	3

**TABELA 2. Critérios utilizados para caracterizar as notas para as alterações e torções observadas no eixo embrionário das sementes de milho por meio das imagens de raios-X. Piracicaba, 2004.**

Alteração e torções	Eixo embrionário
Não observada	1
Pequena	2
Grande	3

maneira, todas as imagens (1: face ventral da semente; 2: face dorsal da semente; 3: morfologia interna da semente – raios-X; 4: plântula ou semente morta) puderam ser examinadas simultaneamente na tela do monitor, permitindo fazer um diagnóstico para cada semente. As notas atribuídas às imagens externas das sementes (faces ventral e dorsal) foram baseadas nos danos observados no pericarpo, embora tenham sido considerados, para fins de interpretação, como ocorridos nas regiões do embrião e do endosperma.

Consideraram-se como alterações no eixo embrionário, situações onde a região do embrião estava indefinida ou escurecida, impossibilitando a visualização de alguma ou de todas as partes do eixo embrionário. Quanto às torções, consideraram-se os eixos embrionários que se apresentavam não retilíneos ou deformados. Todas as comparações foram baseadas em uma imagem de raios-X padrão, com o eixo embrionário intacto.

Após o teste de germinação, as sementes mortas e plântulas anormais foram submetidas à análise de sanidade; assim, foram colocadas individualmente em placas de petri, contendo duas folhas de papel de filtro umedecido com água destilada, fazendo-se a incubação por sete dias, a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , em regime intermitente de 12h luz por 12h escuro. A avaliação foi feita sob microscópio estereoscópico, observando-se as estruturas dos patógenos, sendo, muitas vezes, necessário também o microscópio composto para identificação mais segura dos patógenos associados.

Paralelamente à realização da análise de imagens foram conduzidos testes de vigor, descritos a seguir, com a finalidade de avaliar as possíveis diferenças de qualidade fisiológica entre os tratamentos.

**Teste de frio:** foi realizado em rolo de papel com terra,

conforme descrição de Cícero & Vieira (1994). Seis repetições de 50 de cada tratamento foram distribuídas sobre duas folhas de papel-toalha, cobertas com uma fina camada de terra proveniente de área recentemente cultivada com milho e com mais uma folha de papel-toalha; as folhas de papel foram previamente umedecidas com quantidade de água equivalente a 3,0 vezes o peso das mesmas. Em seguida, foram formados os rolos, colocados em caixas plásticas, vedadas e mantidos em câmara fria (10°C) por período de sete dias. Após esse período, os rolos foram retirados das caixas e transferidos para germinador a 25°C, onde permaneceram por mais quatro dias, quando as plântulas normais, anormais e as sementes mortas foram avaliadas.

**Teste de condutividade elétrica:** foram utilizadas seis repetições de 50 sementes, previamente pesadas e, em seguida, colocadas para embeber em um recipiente contendo 75 mL de água deionizada e mantidas em um germinador à 25°C, por 24 horas. Após esse período, foi determinada a condutividade elétrica das soluções em aparelho Digimed CD-20 e os resultados foram expressos em  $\text{mS.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ .

**Teste de envelhecimento acelerado:** foram utilizadas seis repetições de 50 sementes e colocadas sobre tela de alumínio, distribuídas em uma única camada, em caixas plásticas contendo no fundo 40 mL de água destilada. As caixas plásticas foram tampadas e mantidas em uma incubadora regulada a 42°C durante 96 horas. Após esse período de envelhecimento, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, conforme as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 1992), com uma única avaliação aos quatro dias, computando-se a porcentagem média de plântulas normais.

Foi utilizado no experimento um delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos e seis repetições de 30 sementes para a análise de imagens e seis repetições de 50 sementes para os testes de vigor. Utilizaram-se o teste F para a análise de variância e o teste de Tukey em nível de probabilidade de 5%, para a comparação das médias.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da caracterização física das sementes por meio do teste de retenção em peneiras, verificou-se que as sementes da região distal apresentaram mais do que 76% de retenção em peneiras menores que 5,16mm x 19,05mm (13/64" x 3/4"), enquanto que nas sementes da posição proximal, a retenção foi de 81,2% em peneiras maiores do que 4,76mm x 19,05mm (12/64" x 3/4"), confirmando a diferença de tamanho das sementes esféricas das posições proximal e distal da espiga.

As sementes da região intermediária apresentaram-se com 83,7% de retenção nas peneiras 7,14mm (18"), 7,54mm (19") e 7,94mm (20"), caracterizando grande uniformidade entre as sementes achatadas.

Quanto ao peso de 1000 sementes (Tabela 3), verificou-se que na posição proximal são formadas as sementes mais pesadas, seguidas da posição intermediária e da posição distal, confirmando os resultados obtidos por Battistela Filho et al. (2002).

Por outro lado, analisando-se a Tabela 4, verifica-se que as sementes esféricas da posição proximal e as sementes achatadas da região intermediária, em geral, apresentaram vigor semelhante e superiores às sementes esféricas da posição distal, resultados igualmente encontrados por Battistela Filho et al. (2002). Tais resultados se contrapõem aos obtidos por Scotti & Krzyzanowski (1977) e Shieh & McDonald (1982) ao constatarem que sementes achatadas são mais vigorosas do que as esféricas.

O exame da Tabela 5, onde estão apresentados os dados relativos às sementes que apresentaram danos mecânicos severos e não severos e resultaram em plântulas anormais ou em sementes mortas, permite verificar que apenas houve diferença de comportamento entre os tratamentos para os danos mecânicos observados na face ventral, na região do endosperma, com valores maiores para as sementes da posição distal em relação à posição intermediária. Assim, considerou-se que os danos mecânicos não foram responsáveis pela diferença de qualidade entre as sementes dos tratamentos.

O exame simultâneo de todas as imagens, externas (faces ventral e dorsal das sementes) e internas (raios-X das sementes), bem como das respectivas plântulas ou sementes

**TABELA 3. Peso de mil sementes das posições proximal, intermediária e distal. Piracicaba, 2004.**

Posição	Peso de mil Sementes (g)
Proximal	267,1
Intermediária	222,5
Distal	155,2

**TABELA 4. Valores médios dos testes de primeira contagem de germinação (PCG), de frio (TF), de envelhecimento acelerado (EA), e de condutividade elétrica (CE) em função da posição das sementes na espiga. Piracicaba, 2004.**

Posição	PCG (%)	TF (%)	EA (%)	CE ( $\mu\text{S.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ )
Proximal	80 a	87 b	87 b	14,6 a
Intermediária	84 a	97 a	96 a	13,8 a
Distal	57 b	62 c	51 c	40,5 b

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

mortas observadas no teste de primeira contagem de germinação, permitiu proceder um diagnóstico para cada caso estudado. A técnica de análise de imagens, por se tratar de um método não destrutivo, permite que as sementes submetidas à análise sejam colocadas para germinar, permitindo o estabelecimento de relações entre os danos mecânicos ou alterações observadas internamente nas sementes e os prejuízos causados na germinação (Cícero et al., 1998).

Na Tabela 6 estão apresentados os valores médios de plântulas normais e anormais e de sementes mortas observadas no teste de primeira contagem de germinação e as notas

atribuídas às imagens de raios-X para incidência de alterações ou torções no eixo embrionário das sementes nos tratamentos. Como se pode observar as sementes da posição distal seguida da proximal, apresentaram as maiores percentagens de plântulas anormais e de sementes mortas provenientes de sementes com alterações ou torções severas no eixo embrionário.

Por outro lado, na Figura 2 pode-se observar as imagens de uma semente da posição intermediária (semente 15), com eixo embrionário retilíneo (sem torção) e não alterado (bem definido e sem manchas escuras) (Figura 2C), resultando numa plântula normal (Figura 2D).

**TABELA 5. Valores médios (%) referentes às sementes que apresentaram danos mecânicos severos e não severos e que resultaram em plântulas anormais ou em sementes mortas. Piracicaba, 2004.**

Posição	Imagens Externas			Imagens Internas	
	Face Ventral		Face Dorsal	Raios-X	
	Embrião	Endosperma	Endosperma	Embrião	Endosperma
Proximal	1,3 a	7,0 ab	2,8 a	0,5 a	1,4 a
Intermediária	0,5 a	2,5 b	2,1 a	0,1 a	0,1 a
Distal	4,4 a	19,1 a	8,0 a	0,8 a	0,4 a

\* Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

**TABELA 6. Valores médios (%) de plântulas normais (N) e anormais (A) e de sementes mortas (M) observadas no teste de primeira contagem de germinação e as notas das imagens de raios-X, para alterações ou torções no eixo embrionário. Piracicaba, 2004.**

Notas	Posição Proximal			Posição Intermediária			Posição Distal		
	N	A	M	N	A	M	N	A	M
1	42,8	2,7	0,5	71,7	7,7	1,7	27,3	8,3	5,0
2	27,2	6,1	1,5	12,3	2,2	1,1	27,7	9,5	7,1
3	10,0	2,2	7,0	0,0	1,1	2,2	1,7	1,7	11,6
Total	80,0	11,0	9,0	84,0	11,0	5,0	56,7	19,5	23,7

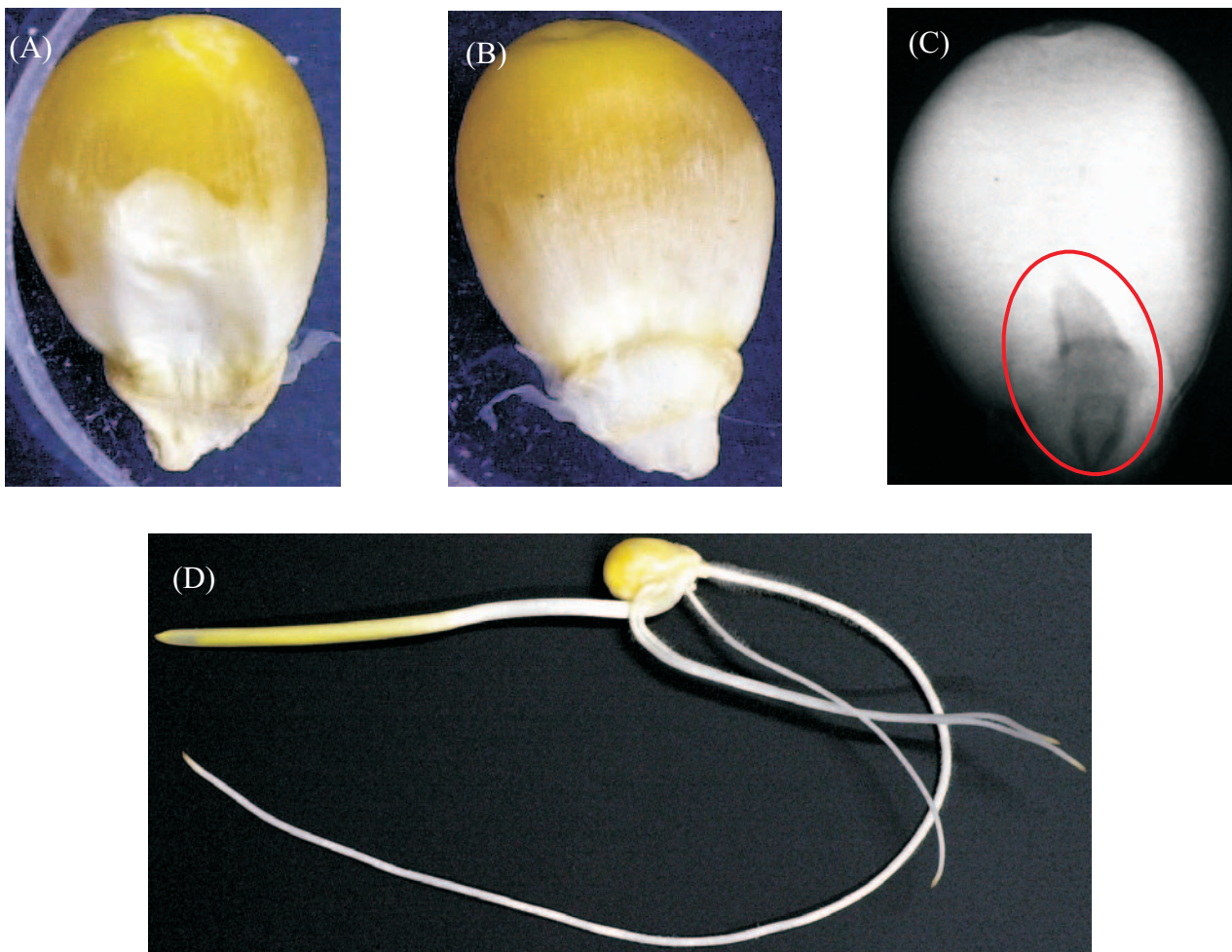
Na Tabela 7, observa-se que as sementes esféricas das posições distal e proximal apresentaram valores semelhantes quanto à existência de torções no eixo embrionário, com incidência maior do que as sementes achatadas, comprovando que a forma é a causa dessas torções no eixo embrionário das sementes. Porém, essas sementes que apresentaram apenas torções no eixo embrionário resultaram, na maioria das vezes, em plântulas normais, como se pode observar nas imagens das sementes 20 (Figura 3) da posição proximal, onde o eixo embrionário está torcido (a plúmula para uma direção e a radícula para outra) (Figura 3C). A semente 21 (Figura 4) da posição distal, da mesma forma, apresenta o eixo embrionário torcido e também resultou numa plântula normal; as

comparações entre os eixos embrionários que apresentavam torções ou alterações (Figuras 3C, 4C, 5C e 6C) podem ser

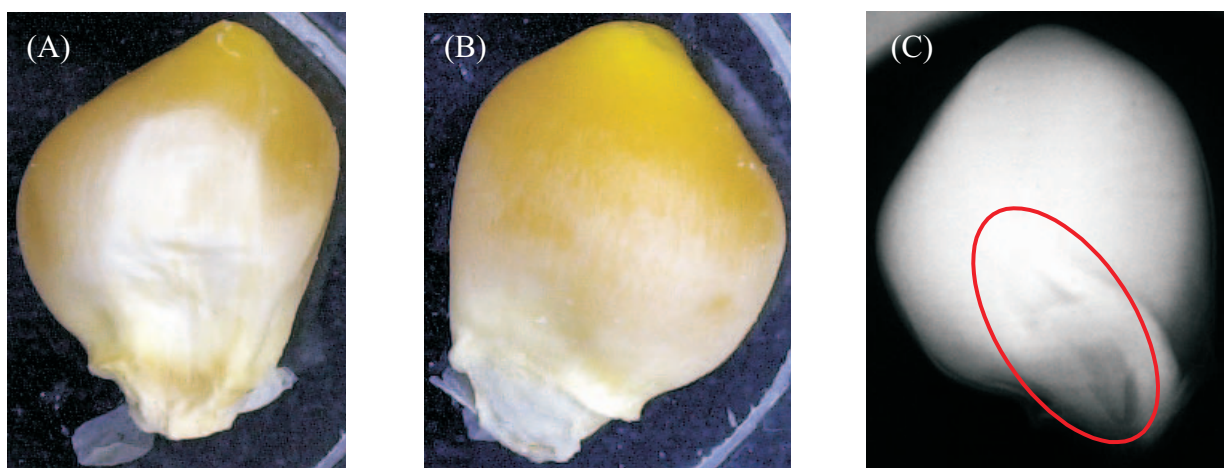
**TABELA 7. Valores médios (%) referentes às sementes que apresentaram torções ou alterações no eixo embrionário e que resultaram em plântulas anormais ou em sementes mortas. Piracicaba, 2004.**

Posição	Eixo Embrionário	
	Torção	Alteração
Proximal	8,5 a	7,6 b
Intermediária	1,5 b	4,1 b
Distal	12,4 a	19,1 a

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.



**FIGURA 2.** Região intermediária - Semente 15 - (A): vista ventral - nota: 1/1; (B): vista dorsal - nota: 1; (C): raios-X - nota: 1/1 (dano mecânico) e nota: 1 (morfologia do embrião); (D): plântula normal.



**FIGURA 3.** Região Proximal - Semente 20 - (A): vista ventral – nota: 1/1; (B): vista dorsal – nota: 1; (C): raios-X – nota: 1/1 (dano mecânico) e nota: 2 (eixo embrionário torcido).

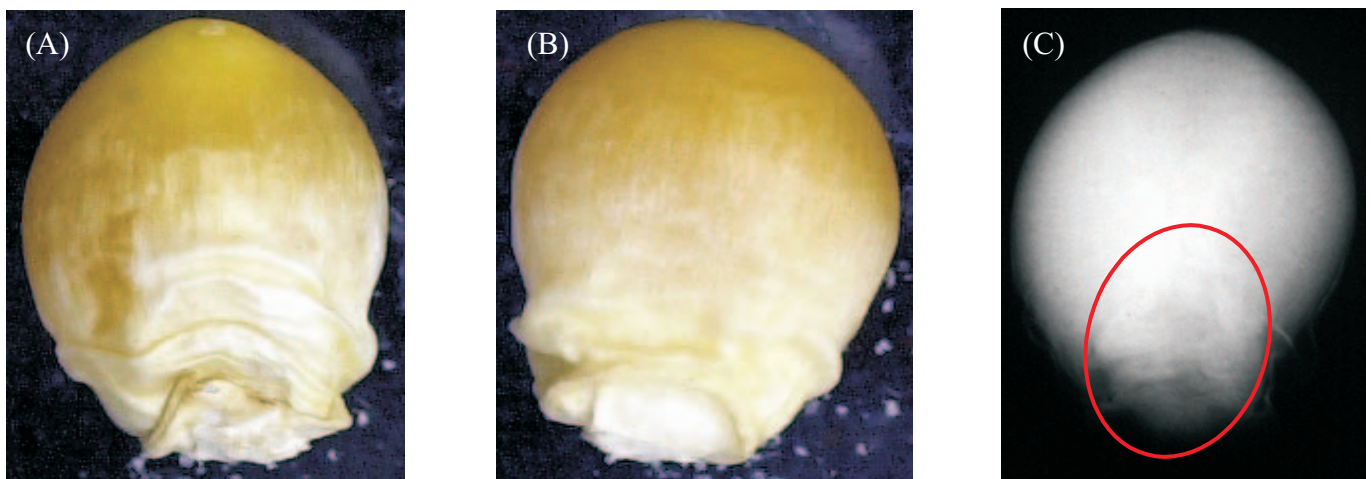


FIGURA 4. Região distal – Semente 21 - (A): vista ventral – nota: 1/1; (B): vista dorsal – nota: 1; (C): raios-X – nota: 1/1 (dano mecânico) e nota: 3 (eixo embrionário torcido).

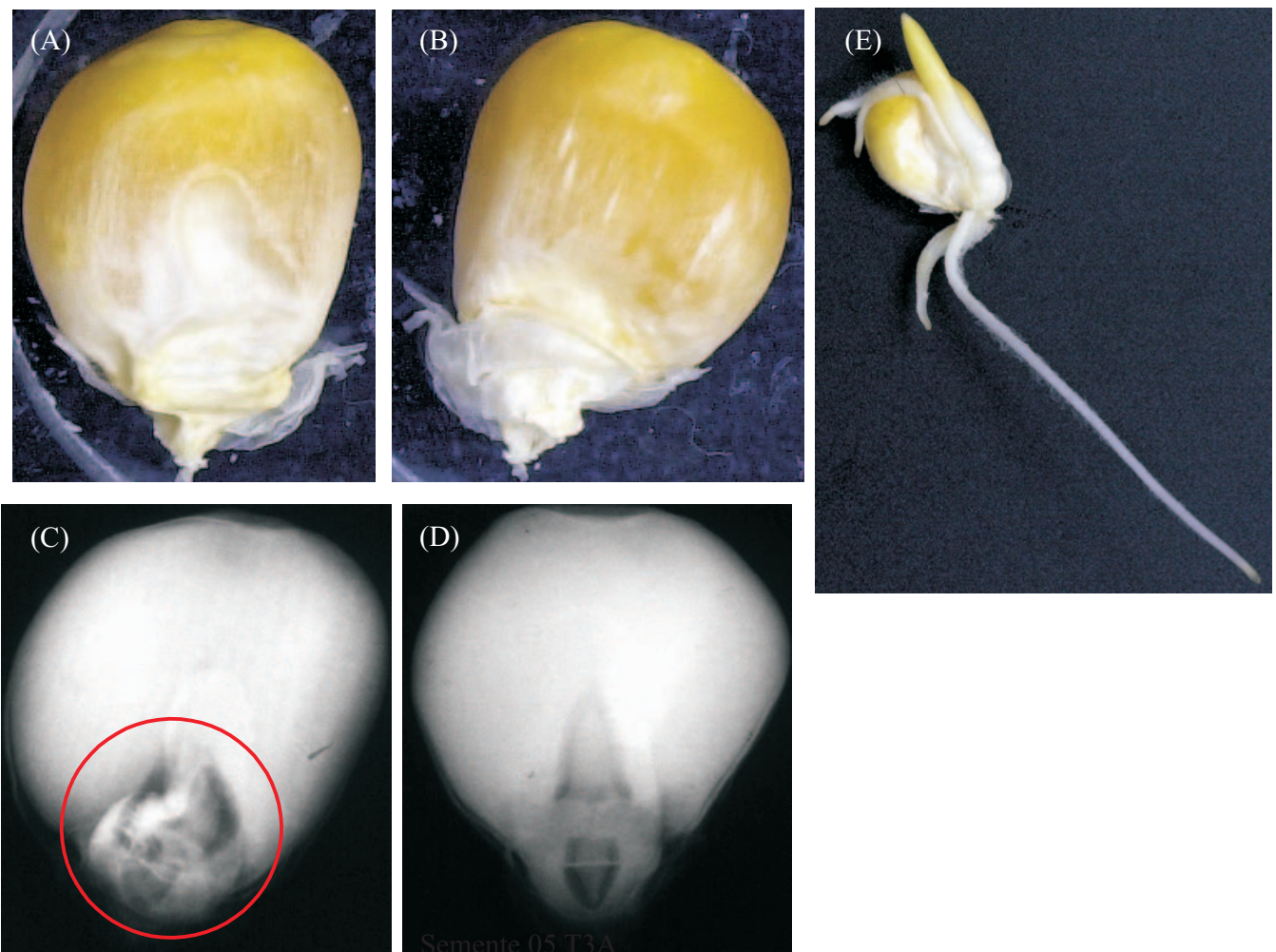
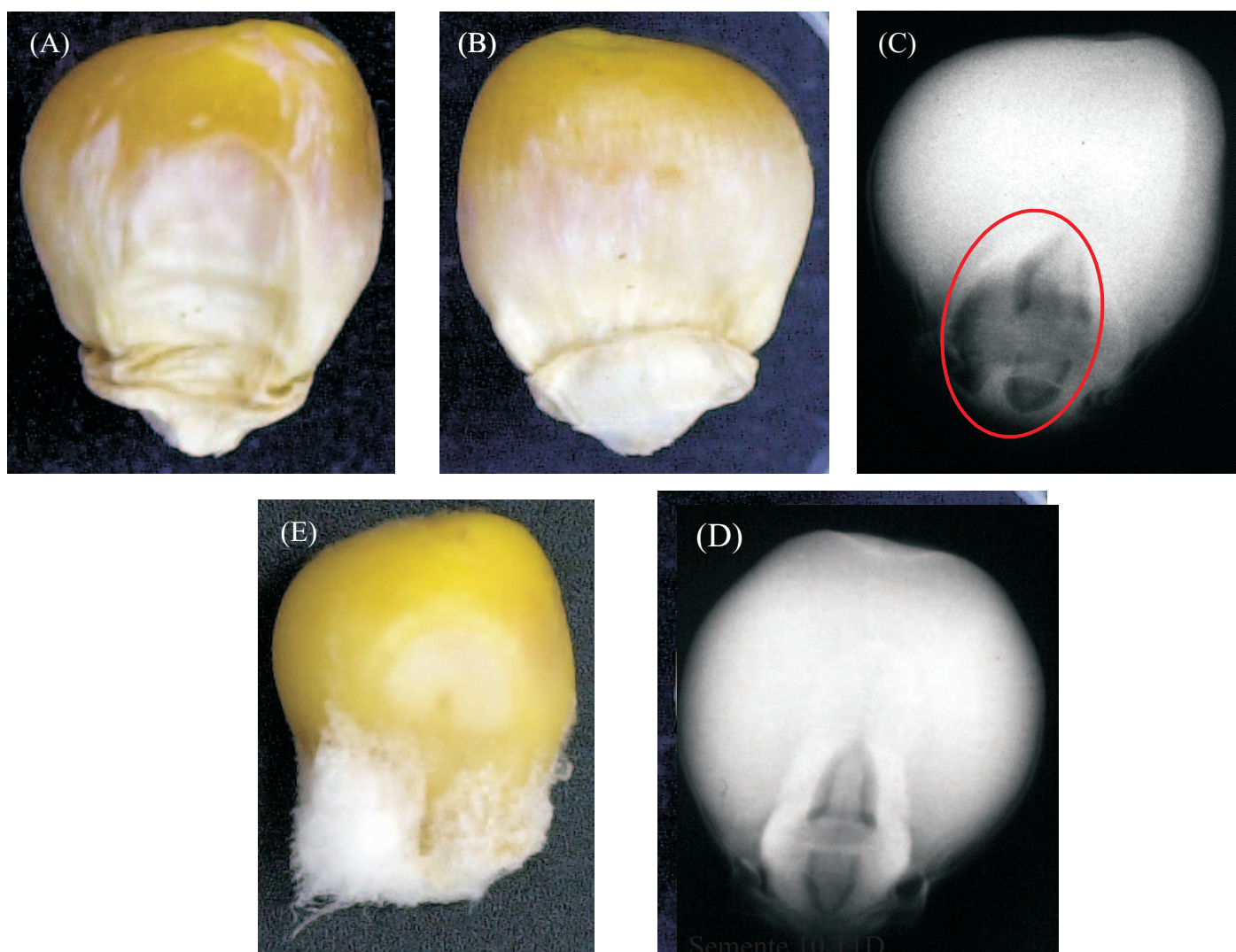


FIGURA 5. Região proximal – Semente 06 - (A): vista ventral – nota: 1/1; (B): vista dorsal – nota: 1; (C): raios-X – nota: 1/1 (dano mecânico) e nota: 3 (eixo embrionário alterado); (D): raios-X padrão (semente 5 da região proximal); (E) plântula anormal.





**FIGURA 6.** Região distal – Semente 23 - (A): vista ventral – nota: 1/1; (B): vista dorsal – nota: 1; (C): raios-X – nota: 1/1 (dano mecânico) e nota: 3 (eixo embrionário alterado); (D): raios-X padrão (semente 10 da região distal); (E) semente morta.

feitas com os eixos embrionários das sementes 05 e 10, provenientes, respectivamente, das posições proximal e distal da espiga (Figuras 5D e 6D). Assim, a forma das sementes ou a torção proporcionada por ela não é a causa da perda de qualidade dessas sementes. As imagens das plântulas normais dessas sementes não foram registradas, pois optou-se em fotografar apenas uma por tratamento para caracterização destas.

As sementes das posições intermediária e proximal diferiram das sementes da posição distal quanto à presença de alterações no eixo embrionário (Tabela 7). As alterações (manchas escuras na região do embrião ou eixo embrionário não definido) podem ser observadas nas imagens das sementes 6 (Figura 5C) da posição proximal e 23 (Figura 6C) da posição

distal; sementes com alterações semelhantes às das sementes 6 e 23 resultaram sempre em plântulas anormais (Figura 5E) ou sementes mortas (Figura 6E). Por meio da análise sanitária das plântulas anormais e das sementes mortas, observou-se a associação com os fungos *Fusarium moliniiforme* e *Penicillium* sp., como se pode observar o desenvolvimento de micélio na semente 23 (Figura 6E). Portanto, pode-se afirmar que essas alterações são a causa da redução de qualidade das sementes e que a localização (posição distal) dessas sementes na espiga influencia diretamente na sua qualidade.

A explicação para tal comportamento pode ser atribuída ao fato das sementes da posição distal da espiga estarem mais sujeitas a condições adversas de clima e, também, a maior

incidência de pragas e doenças. Assim, essas alterações podem ser devidas à associação com fungos, que foram constatados na análise sanitária realizada com as plântulas anormais e sementes mortas, baseando-se, também, em diferentes graus de infecção por fungos encontrados quando se comparam as sementes das posições proximal e distal da espiga (Batistella Filho et al., 2002).

## CONCLUSÕES

As sementes das posições intermediária e proximal da espiga apresentam-se com qualidade semelhante e superiores às da posição distal.

As sementes esféricas com eixos embrionário apresentando torções, porém não alterados, não tem a sua qualidade diminuída.

As alterações nos eixos embrionários, identificadas por manchas escuras e sem definição, presentes em maior quantidade na posição distal da espiga, são responsáveis pela redução da qualidade das sementes.

## REFERÊNCIAS

- CARON, B.O.; CELLA, W.L.; LERSCH JUNIOR, I. Qualidade fisiológica de sementes de milho em função da forma e do tratamento químico das sementes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.2, p.211-215, 2000.
- ALDRICH, S.R.; SCOTT, W.O.; LENG, E.R. How corn plants grow. In: ALDRICH, S.R.; SCOTT, W.O.; LENG, E.R. (Ed.). **Modern corn production**. Champaign: A and L Publ., 1975. p.1-18.
- ANDRADE, R.V.; ANDREOLI, C.; BORBA, C.S. Efeito da forma e do tamanho da semente no desempenho no campo de dois genótipos de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.19, n.1, p.62-65, 1997.
- BATISTELLA FILHO, F.; MÔRO, F.V.; CARVALHO, N.M. Relationships between physical, morphological, and physiological characteristics of seeds developed at different positions of the ear of two maize (*Zea mays* L.) hybrids. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.30, n.1, p.97-106, 2002.
- BINO, R.J.; AARTSE, J.W.; VAN DER BURG, W.J. Non-destructive X-ray analysis of *Arabidopsis* embryo mutants. **Seed Science Research**, Wallingford, v.3, n.3, p.167-170, 1993.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e da Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNTA/DNDV/CLAV, 1992. 365p.
- CARVALHO, M.L.M.; VAN AELST, A.C.; VAN ECK, J.W.; HOEKSTRA, F.A. Pre-harvest stress cracks in maize (*Zea mays* L.) kernels as characterized by visual, X-ray and low temperature scanning electron microscopical analysis: effect on kernel quality. **Seed Science Research**, Wallingford, v.9, n.3, p.227-236, 1999.
- CICERO, S.M.; BANZATTO JUNIOR, H. Avaliação do relacionamento entre danos mecânicos e vigor, em sementes de milho, por meio da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.25, n.1, p. 29-36, 2003.
- CÍCERO, S.M.; VAN DER HEIJDEN, G.W.A.M.; VAN DER BURG, W.J.; BINO, R.J. Evaluation of mechanical damage in seeds of maize (*Zea mays* L.) by X-ray and digital imaging. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.26, n.3, p.603-612, 1998.
- CICERO, S.M.; VIEIRA, R.D. Teste de frio. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. (Ed.). **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 151-164.
- COPELAND, L.O.; McDONALD, M.B. **Principles of seed science and technology**. 2.ed. New York: Macmillan, 1985. 321p.
- GIRARDIN, P.; CHAVAGNAT, A.; BOCKSTALLER, C. Determination des caractéristiques des sementes de maïs grace a la radio graphie rayons X. (Determination of characteristic of corn seed by X-ray). **Seed Science and Technology**, Zürich, v.21, n.3, p.545-551, 1993.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **Rules for seed testing**. Switzerland: ISTA, 1996. 323p.
- MORENO-MARTINEZ, E.; VAZQUEZ-BADILLO, M.E.; RIVERA, A.; NAVARRETE, R.; ESQUIVEL-VILLAGRANA, F. Effect of seed shape and size on germinatin of corn (*Zea mays* L.) stored under adverse conditions. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.26, n.2, p.439-448, 1998.
- OBANDO FLOR, E.P. **Danos internos de secagem avaliados pelo teste de raios-X e seus efeitos na qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.) armazenadas**. 2000. 62f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.
- OLIVEIRA, L.M. **Avaliação da qualidade de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium*) (Sprengel) Taubert) pelos testes de germinação, tetrazólio e raios-X**. 2000. 111f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.
- SCOTTI, C.A.; KRZYZANOWSKI, F.C. Influência do tamanho da semente sobre a germinação e vigor em milho. **Boletim Técnico Agrônomico do Paraná**, Londrina, n.5, p.1-10, 1977.
- SHIEH, W.J.; McDONALD, M.B. The influence of seed size, shape and treatment on inbred seed corn quality. **Seed Science and Technology**, Zürich, v.10, n.2, p.307-313, 1982.
- SIMAK, M. Testing of forest tree and shrub seeds by X-radiography. In: GORDON, A.G.; GOSLING, P.; WANG, B.S.P. (Ed.) **Tree and shrub seed handbook**. Zürich: ISTA, 1991. p.14.1-14.28.
- VAN DER BURG, W.J.; AARTSE, J.W.; VAN ZWOL, R.A.; BINO, R.J. Predicting tomato seedling morphology by X-ray analysis of seeds. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Geneva, v.119, n.2, p.258-263, 1994.

