

GEOVANA BRITO QUEIROZ

**TESTES DE VIGOR E ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO EM
SEMENTES DE MILHO-DOCE (*Zea mays L. saccharata*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Denise Cunha Fernandes dos Santos
Dias

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

Q3t
2022

Queiroz, Geovana Brito, 1997-

Testes de vigor e espectroscopia no infravermelho próximo em sementes de milho-doce (*Zea mays* L. *saccharata*) / Geovana Brito Queiroz. – Viçosa, MG, 2022.

1 dissertação eletrônica (96 f.): il.

Orientador: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Agronomia, 2022.

Referências bibliográficas: f. 82-96.

DOI:<https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.084>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Milho-doce - Semente - Fisiologia - Qualidade.
2. Análise espectral - Simulação por computador. 3. Vigor - Análise. 4. Espectroscopia de infravermelho próximo. I. Dias, Denise Cunha Fernandes dos Santos, 1958-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. III. Título.

CDD 22. ed. 635.67221


GEOVANA BRITO QUEIROZ

**TESTES DE VIGOR E ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO EM
SEMENTES DE MILHO-DOCE (*Zea mays* L. *saccharata*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 23 de dezembro de 2022.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 GEOVANA BRITO QUEIROZ
Data: 07/03/2023 13:52:51-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Geovana Brito Queiroz
Autora



Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias
Orientadora

Ao meu pai Ozorino Alves Queiroz (*In memoriam*)

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me guiado e ter sido base de tudo em minha vida. Sou muito grata ao seu amor por mim.

Aos meus pais, Zó e Neide por todo o amor, carinho e proteção. Por todos ensinamentos e exemplos, que me tornaram a pessoa que sou hoje. Minha mãe que sempre esteve ao meu lado, e ser a pessoa que mais torceu e lutou pelo meu sucesso sempre me incentivando e apoiando.

As minhas irmãs, Joara e Cíntia por todo apoio, carinho, conselhos e exemplo. Aos meus sobrinhos Enzo e Levi por serem minha alegria. Aos meus cunhados, padrasto Jorge, tias(os), avós, primos(as), obrigada por tudo e por sempre torcerem pelo meu sucesso.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, pela grande oportunidade de fazer o mestrado.

À minha professora e orientadora Dra. Denise Cunha F. S. Dias por toda dedicação, ensinamentos, paciência e apoio.

Ao coorientador Dr. Laércio Junio da Silva pelas contribuições e ser um grande suporte durante a realização da pesquisa.

À Embrapa Hortaliças e ao coorientador Dr. Warley Marcos Nascimento pelo fornecimento das sementes e pelas colaborações nesta pesquisa.

Aos amigos e técnicos do laboratório de sementes e do Grupo de Estudos em Sementes (GSem): Joyce, Marcelo, Júlia, Amanda, Soryana, Bruno, Felipe, Gabriel, Wander, José Custódio, Tainara e Daniel, obrigada por toda ajuda, incentivo, companheirismo e pelos ensinamentos.

A todos os meus amigos da Divisa, Conquista e de Viçosa em especial para Nati, Bruna, Marina, Sane, Japa e Doug por fazerem meus dias mais leves. Obrigada por toda força, pela motivação e por serem minha família aqui, gratidão eterna por vocês.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudos

O trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

QUEIROZ, Geovana Brito, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2022. **Testes de vigor e espectroscopia no infravermelho próximo em sementes de milho-doce (*Zea mays L. saccharata*)**. Orientadora: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.

Sementes de milho-doce podem apresentar baixa qualidade fisiológica devido às características próprias como pericarpo fino, alto conteúdo de açúcares no endosperma em detrimento de amido, sendo sensíveis a danos e à deterioração. Torna-se importante, assim, dispor de metodologias adequadas para a avaliação do seu potencial fisiológico e que forneçam resultados seguros e consistentes. Objetivou-se, com este trabalho, adequar metodologias para os testes de envelhecimento acelerado, condutividade elétrica, análise computadorizada de imagens por meio do software SAPL[®] para a avaliação do vigor de sementes de milho-doce, bem como avaliar se a análise de espectroscopia no infravermelho próximo FT-NIR está relacionada ao potencial fisiológico das sementes. Sementes de cinco lotes das cultivares Doce Cristal (BR-402) e Superdoce (BR-400) foram submetidas aos testes para caracterização da qualidade inicial: germinação, porcentagem e índice de velocidade de emergência, precocidade de emissão da raiz primária, primeira contagem e teste de frio. O teste de envelhecimento acelerado foi realizado pelos métodos tradicional (100% UR) e alternativo com solução salina saturada (76% UR), a 41° C, por 48, 72 e 96 h. O teste de condutividade elétrica foi conduzido com 50 sementes imersas em 75 mL de água, a 25° C, por 4, 8, 12, 16, 24 e 48 h. Pelo software SAPL[®], foram determinados o comprimento de parte aérea, comprimento da raiz, comprimento total de plântulas e os índices de uniformidade, crescimento e vigor aos 3, 4, 5 e 6 dias após a semeadura. Foram realizadas ainda análises espectrais no FT-NIR, realizando-se 200 varreduras sucessivas dos espectros médios de cada lote, cada uma delas processadas por 30 segundos pelo espectrômetro. As sementes submetidas à avaliação espectral foram então submetidas ao teste de germinação para validação da técnica. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com quatro ou oito repetições conforme o teste. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%. Para os dados espectrais obtidos pelo FT-NIR, foram empregadas as técnicas de LDA e PCA, separando-os em dois conjuntos, sendo 70% para o treinamento e 30% para o teste e validação. Foram empregadas duas abordagens: uma baseada na formação de

espectros brutos mais o escalonamento e outra por meio da derivada do filtro Savitzky-Golay. Conclui-se que os testes de envelhecimento acelerado, condutividade elétrica foram eficientes para classificar os lotes de milho-doce de ambas as cultivares em níveis de vigor; para o teste de envelhecimento acelerado, recomenda-se a utilização de 41°C e 100% UR por 72 horas; pelo teste de condutividade elétrica já é possível detectar diferenças entre os lotes de maior e menor vigor com 4 horas de embebição. Contudo, o período de 24 horas foi o mais eficiente para classificar os lotes em diferentes níveis de vigor. O comprimento total das plântulas, da raiz primária e os índices de vigor determinados aos 3 e 4 dias após a semeadura pelo SAPL[®] permitiram separar os lotes da cv. Doce Cristal quanto ao vigor. Os dados obtidos pelo NIR combinados com os modelos PLS-DA indicam que esta técnica é sensível para estimar, de maneira rápida e não destrutiva, o potencial fisiológico dos lotes de milho-doce com cerca de 91% de acurácia, principalmente quando submetidos à primeira derivada pelo filtro Savitzky-Golay.

Palavras-chave: Qualidade fisiológica. Análise computadorizada. Avaliação do vigor. FT-NIR

ABSTRACT

QUEIROZ, Geovana Brito, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2022. **Vigor tests and near infrared spectroscopy in sweet corn seeds (*Zea mays* L. *saccharata*)**. Adviser: Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias.

Sweet corn seeds can have low physiological quality due to their own characteristics such as thin pericarp, high content of sugars in the endosperm to the detriment of starch, being sensitive to damage and deterioration. Therefore, it is important to have adequate methodologies for the evaluation of the physiological potential of seeds and that provide safe and consistent results. The objective was to adapt methodologies for the tests of accelerated aging, electrical conductivity, computerized analysis of images using the SAPL® software for evaluating the vigor of sweet corn seeds as well as to evaluate if the FT-NIR near infrared spectroscopy analysis is related to the physiological potential of the seeds. Seeds from five lots of the cultivars Doce Cristal BR-402 and Super Doce BR-400 were submitted to tests for initial quality characterization: germination, percentage and emergence speed index, primary root emission precocity, first count and cold test. The accelerated aging test was carried out by traditional methods (100% RH) and alternate with saturated saline solution (76% RH), at 41° C, for 48, 72 and 96 h. The electrical conductivity test was conducted with 50 seeds immersed in 75 mL of water at 25° C for 4, 8, 12, 16, 24 and 48 h. Using the SAPL® software, shoot length, root length, total length of seedlings and the indexes of uniformity, growth and vigor at 3, 4, 5 and 6 days after sowing. Spectral analyzes were also carried out in FT-NIR, performing 200 successive scans of the average spectra of each batch, each processed for 30 seconds by the spectrometer. The seeds submitted to spectral evaluation were then submitted to the germination test to validate the technique. A completely randomized design with four or eight repetitions was used, depending on the test. Data were subjected to analysis of variance and means were compared using Tukey's test at 5%. For the spectral data obtained by FT-NIR, LDA and PCA techniques were used, separating them into two sets, 70% for training and 30% for testing and validation. Two approaches were employed: one based on the formation of raw spectra plus scaling and another through the derivative of the Savitzky-Golay filter. It was concluded that the accelerated aging and electrical conductivity tests were efficient to classify the sweet corn lots of both cultivars in terms of vigor; For the accelerated aging test, it is recommended

to use 41°C and 100% RH for 72 hours; By the electrical conductivity test it is already possible to detect differences between the batches of greater and lesser vigor with 4 hours of imbibition. However, the 24-hour period was the most efficient to classify the lots in different vigor levels. The total length of the seedlings, the primary root and the vigor indices determined at 3 and 4 days after sowing by SAPL® allowed to separate the lots of cv. Sweet Crystal for vigor. The data obtained by NIR combined with PLS-DA models indicate that this technique is sensitive to quickly and non-destructively estimate the physiological potential of sweet corn lots with about 91% accuracy, especially when transmitted to the first derivative by the Savitzky-Golay filter.

Keywords: Physiological quality. Computerized analysis. Vigor assessment. FT-NIR

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Aquisição das imagens fotográficas e processamento por meio do software SAPL®.36
- Figura 2.** Germinação dos lotes de sementes de milho-doce, cv. Doce Cristal, após o envelhecimento acelerado tradicional (A) e em solução saturada de NaCl (B) por diferentes períodos. Médias seguidas pelas mesmas letras, comparando período dentro de lote e métodos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.....43
- Figura 3.** Análise de componentes principais (PCA) das variáveis germinação (G), emissão de raiz primária (ERP) primeira contagem de germinação (PC), teste de frio (TF), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE) e os diferentes procedimentos do teste de envelhecimento acelerado realizados em sementes de milho-doce cv. Doce Cristal.....45
- Figura 4.** Condutividade elétrica de cinco lotes de sementes de milho-doce, cv. Doce Cristal (A), após embebição por 4, 8, 12, 16 e 24 horas em 75 mL de água destilada.....47
- Figura 5.** Análise de componentes principais (PCA) das variáveis germinação (G), emissão de raiz primária (ERP) primeira contagem de germinação (PC), teste de frio (TF), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE) e os diferentes períodos do teste de condutividade elétrica realizados em sementes de milho-doce cv. Doce Cristal48
- Figura 6.** Plântulas de milho-doce, cv. Doce Cristal, aos três, quatro, cinco e seis dias após semeadura 54
- Figura 7.** Germinação de sementes de diferentes lotes de milho-doce cv. Doce Cristal. Médias seguidas de letras minúsculas distintas diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).....55
- Figura 8.** Espectros FT-NIR de diferentes lotes de sementes de milho-doce cv. Doce Cristal. Espectro pré-processado das classes de sementes (a), espectros médios pré-processados das classes de sementes (b), espectros das sementes transformadas pela derivada de primeira ordem do Savitzky-Golay (c) e a média das classes transformadas pela derivada de primeira ordem do Savitzky-Golay (d)56
- Figura 9.** Análise de componentes principais usando os dados FT-NIR de sementes de diferentes lotes de milho-doce cv. Doce Cristal. Dados dos espectros pré-processados (a) e espectros transformados pela primeira derivada do Savitzky-Golay (b).....57
- Figura 10.** Gráfico de pontuação da análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) com os dois primeiros componentes discriminantes de sementes de milho-doce (BR-402) com

base nos espectros FT-NIR transformados pela primeira derivada Savitzky-Golay, as elipses mostram intervalos de confiança de 95% em cada classe de sementes (a), matriz de confusão das diferentes classes (b), boxplot dos 20 comprimentos de onda que mais contribuíram para o desenvolvimento do modelo (c).60

Figura 11. Germinação dos lotes de sementes de milho-doce cv. Superdoce após o envelhecimento acelerado tradicional (A) e em solução saturada de NaCl (B) por diferentes períodos. Médias seguidas pelas mesmas letras, comparando períodos dentro de lote e métodos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade67

Figura 12. Análise de componentes principais (PCA) das variáveis germinação (G), emissão de raiz primária (ERP) primeira contagem de germinação (PC), teste de frio (TF), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE) e os diferentes procedimentos do teste de envelhecimento acelerado realizados em sementes de milho-doce cv. Superdoce.....68

Figura 13. Condutividade elétrica de diferentes lotes de sementes de milho-doce cv. Super doce (B), após embebição por 4, 8, 12, 16 e 24 horas em de água destilada.....70

Figura 14. Análise de componentes principais (PCA) das variáveis germinação (G), emissão de raiz primária (ERP) primeira contagem de germinação (PC), teste de frio (TF), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE) e os diferentes períodos do teste de condutividade elétrica realizados em sementes de milho-doce cv. Superdoce.....72

Figura 15. Plântulas de milho-doce, cv. Superdoce, aos três, quatro, cinco e seis dias após semeadura 76

Figura 16. Germinação de sementes de diferentes lotes de milho-doce cv. Superdoce. Médias seguidas de letras minúsculas distintas diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).....77

Figura 17. Espectros FT-NIR de diferentes lotes de sementes de milho-doce cv. Superdoce. Espectro pré-processado das classes de sementes (a), espectros médios pré-processados das classes de sementes (b), espectros das sementes transformadas pela derivada de primeira ordem do Savitzky-Golay (c) e a média das classes transformadas pela derivada de primeira ordem do Savitzky-Golay (d)78

Figura 18. Análise de componentes principais usando os dados FT-NIR de sementes de diferentes lotes de milho-doce cv. Superdoce. Dados dos espectros pré-processados (a) e espectros transformados pela primeira derivada do Savitzky-Golay (b).....79

Figura 19. Gráfico de pontuação da análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) com os dois primeiros componentes discriminantes de sementes de milho-doce cv. Superdoce com base nos espectros FT-NIR transformados pela primeira derivada Savitzky-Golay, as elipses

mostram intervalos de confiança de 95% em cada classe de sementes (a), matriz de confusão das diferentes classes (b), boxplot dos 20 comprimentos de onda que mais contribuíram para o desenvolvimento do modelo (c).82

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Grau de umidade (GU), germinação (G), emissão da raiz primaria (ERP), primeira contagem de germinação (PC), teste de frio (TF), emergência (E) e índice de velocidade de emergência (IVE) dos lotes de sementes de milho-doce cv. Doce Cristal.....40
- Tabela 2.** Teor de água (%) obtidos após os períodos de envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl em lotes de sementes de milho-doce cv. Doce Cristal41
- Tabela 3.** Germinação (%) dos lotes de sementes de milho-doce cv. Doce Cristal, após diferentes tempos de envelhecimento acelerado a 41 °C pelo método tradicional (100% UR) e com solução saturada de NaCl (76% UR).42
- Tabela 4.** Condutividade elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) de diferentes lotes de sementes de milho-doce cv. Doce Cristal em diferentes períodos de embebição.....46
- Tabela 5.** Resultados médios de comprimento de parte aérea (CPA), comprimento radicular (CR), comprimento total (CT), índice de uniformidade (IU), índice de crescimento (IC) e índice de vigor (IV), obtidos pelo SAPL® na avaliação de cinco lotes de sementes de milho-doce cv. Doce Cristal, aos três, quatro, cinco e seis dias.....50
- Tabela 6.** Número de acertos individuais por classe, e métricas obtidas com os modelos de classificação PLS-DA, usando os recursos FT-NIR em sementes de diferentes lotes de milho-doce cv. Doce Cristal58
- Tabela 7.** Grau de umidade (GU), germinação (G), emissão da raiz primaria (ERP), primeira contagem de germinação (PC), teste de frio (TF), emergência (E) e índice de velocidade de emergência (IVE) dos lotes de sementes de milho-doce cv. Superdoce.....63
- Tabela 8:** Teor de água (%) obtidos após os períodos de envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl em lotes de sementes de milho-doce cv. Superdoce65
- Tabela 9.** Germinação (%) de lotes de sementes de milho-doce cv. Superdoce, após diferentes tempos de envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl..... 65
- Tabela 10.** Condutividade elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) de diferentes lotes de sementes de milho-doce cv. Superdoce em diferentes períodos de embebição.....69

Tabela 11. Resultados médios de comprimento de parte aérea (CPA), comprimento radicular (CR), comprimento total (CT), índice de uniformidade (IU), índice de crescimento (IC) e índice de vigor (IV), obtidos pelo SAPL® na avaliação de cinco lotes de sementes de milho-doce cv. Superdoce, aos três, quatro, cinco e seis dias.73

Tabela 12. Número de acertos individuais por classe, e métricas obtidas com os modelos de classificação PLS-DA, usando os recursos FT-NIR em sementes de diferentes lotes de milho-doce cv. Superdoce.....80

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 Características das sementes de milho-doce.....	18
2.2 Avaliação do potencial fisiológico de sementes.....	19
2.3 Envelhecimento acelerado.....	22
2.4 Condutividade elétrica.....	24
2.5 Análises computadorizadas de plântulas.....	26
2.6 Espectroscopia no Infravermelho próximo – NIR	29
3. MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1 Caracterização da qualidade inicial dos lotes.....	31
3.1.1 Determinação do grau de umidade.....	31
3.1.2 Teste de germinação.....	31
3.1.3 Primeira contagem de germinação.....	31
3.1.4 Precocidade da emissão da raiz primária	32
3.1.5 Teste de frio.....	32
3.1.6 Emergência de plântulas.....	32
3.1.7 Índice de velocidade de emergência (IVE)	32
3.1.8 Delineamento experimental e análise estatística.....	33
3.2 Ensaio I - Adequação do teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico das sementes de milho-doce.....	33
3.2.1 Envelhecimento acelerado tradicional.....	33
3.2.2 Envelhecimento acelerado com solução salina	33
3.2.3 Delineamento experimental e análise estatística.....	34
3.3 Ensaio II - Adequação do teste condutividade elétrica para avaliação do potencial fisiológico das sementes de milho-doce.....	34
3.3.1 Delineamento experimental e análise estatística.....	35
3.4 Ensaio III – Análise computadorizada de plântulas pelo software SAPL® para avaliação do potencial fisiológico das sementes.....	35
3.4.1 Delineamento experimental e análise estatística.....	35

3.5 Ensaio IV – Espectroscopia no infravermelho próximo – NIR e sua relação com o potencial fisiológico das sementes.....	37
3.5.1 Espectroscopia no infravermelho próximo – NIR	37
3.5.2 Aquisição dos espectros FT-NIR	37
3.5.3 Delineamento experimental e análise estatística.....	38
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1 CULTIVAR DOCE CRISTAL (BR-402).....	39
4.1.1 Caracterização da qualidade inicial dos lotes.....	39
4.1.2 Ensaio I - Adequação do teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico das sementes de milho-doce.....	41
4.1.3 Ensaio II - Adequação do teste condutividade elétrica para avaliação do potencial fisiológico das sementes de milho-doce.....	45
4.1.4 Ensaio III – Análise computadorizada de plântulas pelo software SAPL® para avaliação do potencial fisiológico das sementes.....	49
4.1.5 Ensaio IV – Espectroscopia no infravermelho próximo – NIR e sua relação com o potencial fisiológico das sementes.	54
4.2 CULTIVAR SUPERDOCE (BR-400)	60
4.2.1 Caracterização da qualidade inicial dos lotes.....	60
4.2.2 Ensaio I - Adequação do teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico das sementes de milho-doce.....	64
4.2.3 Ensaio II - Adequação do teste condutividade elétrica para avaliação do potencial fisiológico das sementes de milho-doce.....	68
4.2.4 Ensaio III – Análise computadorizada de plântulas pelo software SAPL® para avaliação do potencial fisiológico das sementes.....	72
4.2.5 Ensaio IV – Espectroscopia no infravermelho próximo – NIR e sua relação com o potencial fisiológico das sementes.	77
5. CONCLUSÕES.....	81
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82

1. INTRODUÇÃO

O milho-doce (*Zea mays*) é uma hortaliça de alto valor agregado, sendo destinada exclusivamente para o consumo humano. A produção desse tipo de milho é voltada principalmente para o processamento industrial, porém ele pode ser consumido *in natura*, apesar de esse uso ser mais restrito. Também pode ser comercializado desidratado, congelado na forma de espigas ou grãos, como *baby corn* ou minimilho se colhido antes da polinização (SOUZA et al., 1990).

É considerado um tipo de milho especial, que se diferencia do milho comum por apresentar um ou mais genes recessivos que elevam a concentração de açúcares no endosperma em detrimento do amido (TEIXEIRA et al., 2017). O que confere o caráter doce ao milho é a existência de um ou mais alelos mutantes que podem desencadear mudanças no teor e no tipo de carboidratos presentes nos grãos, sendo a doçura um caráter recessivo (LUZ et al., 2014, BOYER & SHANNON, 1983).

Segundo Filho e Costa (2021), o milho comum tem em torno de 3% de açúcar e entre 60% e 70% de amido, enquanto o milho-doce (contendo o gene *sugary*) tem de 9% a 14% de açúcar e entre 30% e 35% de amido, enquanto o superdoce (contendo o gene *brittle*) tem em torno de 25% de açúcar e de 15% a 25% de amido.

A reduzida quantidade de amido e maior quantidade de açúcares no endosperma, acarreta a formação de espaços internos entre a camada de aleurona e o pericarpo da semente durante a secagem, deixando-a com aspecto enrugado (FARIA e NASCIMENTO, 2014). Em consequência disto, o pericarpo torna-se mais frágil e suscetível a danos (STYER & CANTLIFFE, 1983). Assim, a textura do endosperma, a susceptibilidade a danos mecânicos e a microrganismos e à baixa concentração de amido, além da desuniformidade das sementes são citadas como características que contribuem para a rápida perda de qualidade (STYER & CANTLIFFE, 1984). Segundo Mondo et al. (2012), devido a todas essas características, as sementes de milho-doce podem apresentar baixo potencial de armazenamento e baixo vigor, o que afeta o estabelecimento das plântulas e a uniformidade do estande em campo.

Neste contexto, a utilização de testes adequados para a avaliação do potencial fisiológico das sementes para complementar as informações fornecidas pelo teste de germinação se torna interessante, possibilitando, assim, obter informações mais seguras sobre o desempenho dos lotes em campo e no armazenamento (ARAÚJO, 2019). Atualmente, existem vários testes disponíveis

para a avaliação do vigor de sementes (BAALBAKI et al., 2009; MARCOS-FILHO, 2020), destacando-se os testes bioquímicos, como o de condutividade elétrica, os de resistência a estresses, como o de envelhecimento acelerado, além daqueles baseados no desempenho de plântulas (BAALBAKI et al., 2009; MARCOS-FILHO, 2020). Estes testes podem ser interessantes para sementes de milho-doce, mas as metodologias ainda não estão bem estabelecidas para a espécie.

Para as avaliações do crescimento de plântulas, tem sido bastante utilizado o processamento computadorizado das imagens, que tem como vantagens a rapidez e objetividade na obtenção de resultados (MARCOS-FILHO, 2015; GOMES-JUNIOR, 2020). Dentre os softwares disponíveis, destaca-se o Sistema de Análise de Plântulas (SAPL[®]) de livre acesso e de baixo custo na aquisição das imagens, que podem ser obtidas utilizando-se uma câmera digital.

Outra técnica promissora de uso mais recente cujos resultados podem ser relacionados ao potencial fisiológico das sementes é a espectroscopia do infravermelho próximo (FT-NIR). Trata-se de um método rápido, não destrutivo, baseado na absorção pelas sementes de radiação eletromagnética nos comprimentos de onda entre 780-2500 nm, permitindo realizar medidas diretas e simultâneas de vários de seus constituintes químicos pela aquisição de grande número de detalhes espectrais (XIA et al., 2019). Portanto, alterações na composição química das sementes podem estar relacionadas com a viabilidade e o vigor (XIA et al., 2019; RIBEIRO et al., 2020; MEDEIROS et al., 2020).

Diante do exposto, com este trabalho objetivou-se: i) adequar metodologias para os testes de envelhecimento acelerado, condutividade elétrica e análise computadorizada de imagens por meio do software SAPL[®] para a avaliação do vigor de sementes de milho-doce; ii) avaliar se a análise de espectroscopia no infravermelho próximo FT-NIR está relacionada ao potencial fisiológico das sementes.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Características das sementes de milho-doce

O milho-doce difere do milho comum não somente por características taxonômicas, mas pelo alto teor de açúcares e pela baixa concentração de amido no endosperma das sementes, resultantes da ação de genes recessivos individuais ou em combinações duplas ou triplas. Assim, o milho-doce possui alelos mutantes em seu genoma que impedem a conversão de açúcares em amido no endosperma, conferindo às sementes sabor adocicado (LUZ et al., 2014). As sementes de milho-doce apresentam qualidade fisiológica inferior à das sementes de milho comum, devido à influência dessas características, sendo até um dos entraves para a expansão da produção no país (ZUCARELI et al., 2014). O milho-doce e o milho comum diferenciam-se, apenas, na semente, que após a maturação fisiológica seca vagarosamente e, uma vez seca é vítrea e enrugada. Vítrea pela cristalização dos açúcares que se encontram em maior concentração e enrugada devido à menor proporção de amido no endosperma (STORCK E LOVATO, 1991).

A doçura do milho-doce é um caráter recessivo e os genes mutantes mais conhecidos são o sugary (su), shrunken (sh) e brittle (bt) (LEMOS et al., 2002; ARAUJO et al., 2006). No momento da colheita o grão de milho possui alto grau de umidade e açúcares (RIVERA, 2011). A conversão de açúcar para amido é bloqueada pelos genes recessivos e assim conferem o caráter doce ao grão (TRACY, 2001).

A ação desses genes mutantes, entre os quais encontram-se o sugary (su1), brittle (bt2) e shrunken (sh2), destacam-se como os principais e acarretam mudanças no metabolismo vegetal, resultando no bloqueio da conversão dos açúcares em amido (GAMA et al., 1992). Segundo He & Burris (1992), menos amido significa que menos tecido de endosperma pode ser reservado como fonte de energia para o metabolismo e o processo de conversão de açúcar em amido durante o desenvolvimento do endosperma depende do genótipo.

Existem dois grupos com base nos seus efeitos na composição de endosperma, o milho-doce e super doce. Os genes da cultivar super doce são capazes de reduzir a quantidade de amido no endosperma deixando-os mais doces. Assim, os genes shrunken (sh1, sh2, sh4) e brittle (bt1, bt2), denominados de super doce, sintetizam apenas pequena quantidade de amido (TOSELLO, 1978). Em particular, a semente de milho super doce (com o alelo shrunken-2) pode ter um teor de açúcar solúvel muito maior (> 20%), mas menor teor de amido do que a semente de milho doce enriquecida com açúcar ou qualquer outra semente de milho doce tradicional (su1 gene).

Além disso, o milho-doce apresenta ainda sementes com pericarpo fino, característica interessante para a indústria de alimentos. As características exigidas pelo mercado consumidor desse tipo de milho diferenciam-se das do milho verde comum, especialmente quanto ao teor de açúcar. A indústria tem preferência por maior teor de açúcar e menor teor de amido, o que também é desejado para consumo in natura. O mercado consumidor de milho-doce encontra-se cada vez mais exigente, tanto em características relacionadas à sanidade, aparência, quanto em características composicionais, que conferem ao milho sabor e aroma característico (SOUZA, 2015).

Os elevados teores de açúcares e baixo teor de amido no endosperma causam a formação de espaços entre a camada de aleurona e o pericarpo da semente durante a maturação, deixando-a enrugada (ZUCARELI, 2014). Além disso, pode-se considerar a textura do pericarpo como um dos fatores primários na determinação da qualidade do milho-doce. O pericarpo tenro é altamente desejável no melhoramento para qualidade do milho-doce, mas a semente fica muito susceptível a danos mecânicos e ao ataque de patógenos.

O aspecto enrugado e a menor espessura do pericarpo das sementes de milho-doce as tornam mais suscetíveis a danos durante os procedimentos de germinação ou teste de vigor. Isso dificulta a avaliação da qualidade das sementes, pois tais danos, principalmente fisiológicos, como os de embebição (ALVARENGA; MARCOS FILHO; TIMÓTEO, 2013), podem subestimar os resultados obtidos em testes de sementes que requerem umedecimento prévio. Algumas características do milho-doce, como alta sensibilidade a danos de imersão, a fragilidade de membranas, e o pericarpo muito fino, impossibilitam o uso das metodologias descritas para sementes de milho comum serem extrapolados para sementes de milho-doce (MARINHO, et al., 2021).

2.2 Avaliação do potencial fisiológico de sementes

O potencial fisiológico das sementes é representado pela germinação e pelo vigor. A germinação é definida como a capacidade da semente dar origem a plântula normal, sob condições ideais em laboratório, possibilitando à semente expressar o seu potencial máximo de germinação (BRASIL, 2009). No entanto, estes resultados nem sempre são confirmados em campo, principalmente quando as condições de ambiente se desviam das mais adequadas. Torna-se importante, portanto, a avaliação do vigor das sementes como componente relevante do potencial

fisiológico, uma vez que está relacionado ao desempenho das sementes seja em campo ou no armazenamento (MARCOS-FILHO, 2015).

O vigor de sementes compreende o conjunto de propriedades que determina o potencial para a rápida e uniforme emergência de plântulas sob ampla diversidade de condições de ambiente (BAALBAKI et al., 2009). Dentre os principais objetivos de se avaliar o vigor, destaca-se detectar diferenças significativas no potencial fisiológico de lotes com germinação semelhante, buscando classificá-los em diferentes níveis de qualidade. Assim, busca-se diferenciar lotes de alto dos de baixo vigor de modo a identificar adequadamente aqueles com maior potencial de estabelecimento em campo e de armazenamento (MARCOS-FILHO, 2020).

Para o controle de qualidade mais eficiente dos lotes durante as etapas de pós-colheita e comercialização, é fundamental buscar informações relacionadas ao vigor das sementes. Vários os testes de vigor podem ser utilizados para a avaliação do potencial fisiológico dos lotes, recomendados pela AOSA (BAALBAKI et al., 2009), ISTA (ISTA, 2020) e Krzyzanowski et al. (2020). Estes testes são baseados em eventos que caracterizam o processo de deterioração das sementes, os quais ocorrem antes do declínio da capacidade de germinação e perda da viabilidade da semente (DELOUCHE; BASKIN, 1973). Tais eventos ocorrem em uma sequência hipotética, iniciando-se com a desestruturação das membranas celulares. A partir daí, ocorre redução das atividades respiratória e de biossíntese, diminuição da velocidade de germinação, redução do potencial de conservação, menor taxa de crescimento das plântulas, maior sensibilidade a condições de estresse, redução da emergência de plântulas em campo, aumento da ocorrência de plântulas anormais e, finalmente, morte da semente (DELOUCHE; BASKIN, 1973).

Na atualidade, há várias metodologias disponíveis para a avaliação do vigor, cujos princípios têm como base os eventos listados acima, destacando-se principalmente os testes classificados como fisiológicos, bioquímicos e de resistência a estresses (MARCOS-FILHO, 2020). Os testes fisiológicos baseiam-se em atividades fisiológicas específicas das sementes cuja manifestação depende do vigor, destacando-se primeira contagem de germinação, velocidade de germinação ou emergência de plântulas, classificação do vigor de plântulas, crescimento de plântulas, dentre outros. Já os testes bioquímicos avaliam as alterações bioquímicas relacionadas ao vigor das sementes, como os testes de tetrazólio, condutividade elétrica, lixiviação de potássio e respiração. Os testes de resistência a estresses, por sua vez, avaliam o comportamento das sementes quando expostas a condições desfavoráveis de ambiente, tais como teste de frio,

envelhecimento acelerado, deterioração controlada e germinação a baixa temperatura (BAALBAKI et al., 2009; MARCOS-FILHO, 2020).

Considerando que o vigor das sementes é produto do conjunto de características que irão determinar o seu desempenho no campo ou no armazenamento, recomenda-se que a avaliação do vigor deva ser feita com base na combinação de resultados de diferentes testes de vigor, considerando a finalidade do uso dos resultados e as limitações de cada teste (MARCOS-FILHO, 2015). Assim, recomenda-se que a avaliação do vigor seja feita com base na combinação múltipla dos resultados obtidos em cada teste de vigor utilizado (MARCOS-FILHO, 2015).

A avaliação do potencial fisiológico de sementes de milho-doce é essencial em um programa de controle de qualidade, sendo que a escolha de testes de vigor adequados é fundamental para a obtenção de resultados confiáveis. Sementes de milho-doce (sh2) apresentam alto teor de sacarose, alto teor de ácidos graxos livres no endosperma e uma camada disfuncional de aleurona. Isso resulta em desequilíbrio de açúcar e ruptura do sistema de membrana, culminando em baixo vigor das sementes (SOUZA et al., 2013, WILSON JUNIOR E MOHAN 1998).

Wann (1980) destaca que o baixo vigor das sementes de milho-doce possivelmente está ligado ao tamanho do endosperma, sugerindo que, embora o vigor seja uma característica fortemente relacionada com o embrião, a menor quantidade de reservas dessas sementes pode afetar o vigor e, o aumento da proporção endosperma/embrião tende a ser vantajosa para a melhoria da qualidade das sementes.

A baixa taxa de germinação e o vigor das plântulas da semente de milho-doce ainda limitam em certa medida o desenvolvimento da indústria do milho-doce (LEE et al., 2004). Assim, a avaliação do estado fisiológico potencial das sementes de milho-doce é essencial em um programa de controle de qualidade para estimar seu potencial para armazenamento, comercialização e uso (MARINHO, et al., 2021).

2.3 Envelhecimento acelerado

O teste de envelhecimento acelerado é um teste de resistência ao estresse que avalia o desempenho das sementes após serem submetidas a condições adversas de temperatura e umidade relativa. Baseia-se no princípio de que a taxa de deterioração das sementes aumenta à medida em que são expostas a condições de alta temperatura e umidade relativa (BAALBAKI et al., 2009; MARCOS-FILHO, 2020). Sob essas condições, sementes de alto potencial fisiológico apresentarão

maior capacidade de produzir plântulas normais após o envelhecimento acelerado em comparação com as de menor vigor (GOMES; LOPES, 2017; ARAÚJO et al., 2021). É um dos mais conhecidos e aplicados testes para a avaliação do vigor de sementes, sendo aplicável a um grande número de espécies (TUNES et al., 2011). É um teste amplamente utilizado em todo o mundo para compor programas de controle de qualidade estabelecido pela indústria de sementes, principalmente para a avaliação do potencial fisiológico de grandes culturas e de hortaliças (MARCOS-FILHO, 2020).

A combinação entre temperatura, umidade relativa e período de exposição às condições do teste são fatores importantes para se definir metodologia adequada para a condução do teste para as diferentes espécies. Em geral, as temperaturas utilizadas no teste de envelhecimento acelerado variam entre 41 e 45 °C (BAALBAKI et al., 2009; MARCOS-FILHO, 2020). Menezes e Nascimento (1988) relataram que a temperatura de 37 °C e o período de envelhecimento de 72 h foram eficientes na avaliação do vigor de sementes de ervilha. Contudo, a temperatura de 41 °C vem sendo recomendada para várias espécies, como milho (MIGUEL e MARCOS-FILHO, 2002), algodão (FREITAS et al., 2000), lentilha (FREITAS e NASCIMENTO, 2006), soja (MARCOS-FILHO et al., 1990), feijão (BERTOLIN et al., 2011), grão-de-bico (ARAÚJO et al., 2021) e milho-doce (ALVARENGA et al., 2013). Durante muitos anos predominou a recomendação de 42 °C, mas as recomendações da ISTA e da AOSA recomendam o uso de 41 °C, pois essa é a temperatura máxima tolerada por proteínas hidratadas, acima disso podem acarretar a inativação metabólica das sementes (MARCOS-FILHO, 2020).

É importante ressaltar que temperaturas muito elevadas possibilitam a desnaturação de proteínas e, conseqüentemente, drástica redução na viabilidade das sementes (MARCOS-FILHO, 2020; ALVARENGA et al., 2013). Isso geralmente mascara os resultados e prejudica sua associação com a estimativa da emergência de plântulas ou potencial de armazenamento dos lotes avaliados. Para Tomes et al. (1988) a elevação da temperatura promove efeitos mais drásticos sobre o desempenho das sementes do que o prolongamento do período de envelhecimento artificial.

O teste de envelhecimento acelerado pode ser conduzido pelo método tradicional ou alternativo. Ambos os métodos utilizam caixas gerbox adaptadas funcionando como uma minicâmara, sendo este procedimento adotado pela AOSA (1983). A diferença entre os métodos é que no método tradicional utilizam-se 40 mL de água no interior do gerbox com o intuito de se obter 100% de umidade relativa (MARCOS-FILHO, 2020). Já no método alternativo, a água é substituída por solução salina saturada de modo a se obter umidade relativa interna mais baixa,

resultando em embebição mais lenta (JIANHUA e MCDONALD, 1996) e menor desuniformidade nos teores de água após o envelhecimento (RADKE et al., 2018). Jianhua e McDonald (1996) indicam a utilização de soluções saturadas de KCl (cloreto de potássio), NaCl (cloreto de sódio) ou NaBr (brometo de sódio), de modo a obter umidade relativa de 87%, 76% ou 55%, respectivamente.

Esse método tem sido utilizado principalmente para sementes pequenas como as de hortaliças, para as quais a desuniformidade na absorção de água entre as amostras no método tradicional pode resultar em deterioração diferenciada, comprometendo os resultados após o envelhecimento (RAMOS et al., 2004).

Trata-se, portanto, de um método interessante para ser testado em sementes de milho-doce, que mesmo não sendo pequenas, podem se mostrar sensíveis às condições de estresse do teste, pelo pericarpo fino e pela sua composição química rica em açúcares que confere um aspecto rugoso ao endosperma e por serem bastante suscetíveis a danos e à deterioração. Essas características podem contribuir para uma deterioração mais acentuada durante o teste de envelhecimento pelo método tradicional, principalmente devido à alta umidade relativa que pode favorecer o desenvolvimento de microrganismos. Dessa forma, o método alternativo pode proporcionar efeitos menos drásticos e reduzir o desenvolvimento de fungos que podem influenciar os resultados do teste. As informações sobre metodologia mais adequada para o teste de envelhecimento acelerado em sementes de milho-doce não são conclusivas. Santos et al. (2002) utilizando temperaturas de 42° C e 45 °C a 100% UR por diferentes períodos de tempo concluíram que 45 °C por 24 h possibilitou melhor diferenciação entre lotes com diferentes níveis de qualidade; recomendaram ainda para a condução do teste a 42 °C deve ser utilizado o período de 72 h. Santos et al. (2002) realizou o teste pelo método tradicional com sementes de milho da cultivar BR 400 (Super-Doce) com temperatura de 42° C e nos períodos 0, 48, 72 e 96 horas e na temperatura de 45°C nos períodos de 0, 24, 48 e 72 horas. A utilização da temperatura de 42° C no período de 72 horas, foi o que melhor possibilitou a diferenciação entre os lotes de sementes quanto a sua qualidade fisiológica.

Com isso, verifica-se, portanto, que as informações sobre a metodologia mais adequada para a condução do teste de envelhecimento acelerado em sementes de milho-doce ainda não são conclusivas, o que justifica a condução de estudos adicionais para a espécie.

2.4 Condutividade elétrica

O teste de condutividade elétrica destaca-se como um método rápido, prático e eficiente para a estimativa do potencial fisiológico das sementes. É classificado como um teste bioquímico, baseado na capacidade de reorganização do sistema de membranas celulares (DELOUCHE; BASKIN, 1973). O princípio do teste estabelece que sementes menos vigorosas liberam maior quantidade de solutos para o meio externo, uma vez que a velocidade da reestruturação da integridade das membranas durante o processo de embebição é menor (TORRES et al., 2015; MARQUES, 2018).

A organização das membranas celulares é máxima por ocasião da maturidade fisiológica; com a secagem das sementes ao final da maturação ocorre um processo de desorganização estrutural das membranas acarretando perda temporária de sua integridade (BEWLEY; BLACK, 1994). Quando sementes secas são embebidas em água, a capacidade de reorganização do sistema de membranas é readquirida e a velocidade deste processo está relacionada ao vigor da semente. Quanto maior a velocidade de restabelecimento da integridade das membranas, menor lixiviação de eletrólitos irá ocorrer (POWELL, 1986). Em sementes deterioradas ou não viáveis, este reparo ocorre de forma bem mais lenta ou pode até não ocorrer, de modo que a lixiviação de exsudatos celulares será tão mais intensa quanto menos vigorosa for a semente. Portanto, este teste determina a intensidade de liberação de solutos, como aminoácidos e íons inorgânicos, através das membranas celulares. Sementes com potencial fisiológico inferior apresentam membranas menos organizadas, com redução da permeabilidade seletiva, em função do nível de deterioração da semente, permitindo a difusão desordenada de íons e solutos orgânicos para o meio externo, durante a embebição (VIEIRA- MARCOS-FILHO, 2020).

De acordo com Bewley e Black (1995), a liberação de solutos pelas sementes é mais intensa durante o início da embebição, declinando à medida que ocorre a reorganização do sistema de membranas. Este fato é importante porque permite a obtenção de resultados em período de tempo relativamente curto, de modo que a condutividade elétrica avaliada após 24 h de embebição, se mostra eficiente para a avaliação do vigor de sementes de várias espécies. Além disso, dependendo da espécie, os resultados podem ser obtidos em períodos inferiores a 24 h, permitindo tomadas de decisões importantes de maneira mais rápida para o controle de qualidade das sementes (VIEIRA, MARCOS-FILHO, 2020).

Embora o teste de condutividade elétrica seja simples e de fácil execução, há fatores que influenciam os resultados, tais como o genótipo, danos mecânicos ou injúrias provocadas por insetos, teor de água e tratamento químico das sementes (LOEFFLER et al., 1988). Fatores relacionados à própria metodologia como por exemplo volume de água para a embebição das sementes, o tempo de embebição, o número de sementes por repetição e a temperatura também são fatores relevantes (FIGUEIREDO et al., 2021; VIEIRA; MARCOS-FILHO, 2020).

A duração do período de embebição das sementes é extremamente importante na eficiência do teste de condutividade elétrica para distinguir diferenças de vigor entre os lotes. Esse período pode ser alterado em função das características morfológicas do tegumento, temperatura de hidratação e grau de umidade. Para muitas espécies, o teste é realizado com amostras de 50 sementes previamente pesadas, imersas em 75 mL de água destilada ou deionizada e manutenção na temperatura de 25 °C por um período de 24 h até a leitura em condutivímetro (KRZYZANOWSKI et al., 1991; VIEIRA, 1994).

Contudo, há estudos indicando a possibilidade de se obter resultados em menor tempo como em estudo com sementes de milho-doce (sh2). Coimbra et al. (2009) concluíram que, dentre os testes avaliados (primeira contagem, precocidade de emissão de raiz primária, teste de frio, condutividade elétrica e envelhecimento acelerado), o de condutividade elétrica por 6, 8 e 24 horas foi o único eficiente na diferenciação do vigor de lotes. Já Borges (2016) verificou que foi possível diferenciar lotes com 24 e 48 horas de embebição. Em sementes de milho comum, o teste de condutividade foi eficiente para monitorar o vigor ao longo do armazenamento por 12 meses (WERNCK, 2020).

2.5 Análises computadorizadas de plântulas

As tecnologias de análise de imagens têm demonstrado grande potencial para serem utilizadas associadas aos testes tradicionais para avaliar a qualidade de sementes, orientando a observação humana a partir da percepção e precisão das máquinas. Esse tipo de abordagem pode proporcionar avanços significativos não apenas na padronização de metodologias, mas também na obtenção de resultados com alto nível de confiabilidade e reprodutibilidade (TODA et al., 2020).

A avaliação do potencial fisiológico de sementes com base na comparação do crescimento de plântulas ou de suas partes é um procedimento de eficácia atestada, para constatar a heterogeneidade entre lotes de sementes e estabelecer relações com a emergência de plântulas em

campo (NAKAGAWA, 1999). Além disso, de acordo com Marcos-Filho et al. (2009), a automatização do processo reduz o parâmetro subjetividade da análise, baseadas na observação visual do analista, parâmetro esse, que muitas vezes aumenta o erro consideravelmente, tornando a análise menos precisa. Segundo Medeiros et al. (2018), o processamento digital para análise de plântulas é uma ferramenta que pode apresentar resultados confiáveis e com maior precisão quando comparado ao método manual.

Dessa forma, com análise baseada na visão computacional, tornou-se viável a avaliação do crescimento de plântulas e sua relação com o potencial de emergência das plântulas em campo, além de permitir maior precisão e rapidez nas avaliações de comprimento de plântulas, redução da interferência humana, além da possibilidade de armazenamento das imagens que podem ser futuramente acessadas (GOMES-JUNIOR et al., 2020).

Desde modo, com as metodologias tradicionais que são utilizadas nos laboratórios de rotina por mais que sejam realizados por analistas treinados, as avaliações são demoradas e sujeitas a interpretações subjetivas, o que pode levar a erros. Com isso faz-se necessário o desenvolvimento de alternativas que tenham a finalidade de aumentar a eficiência e a confiança dos resultados, tais como o processamento digital de imagens, que permite a análise de um grande número de amostras de forma rápida (BRUNES et al., 2016). Portanto, a avaliação automatizada do crescimento de plântulas pode constituir-se em um avanço significativo para a padronização da metodologia, aumentando a confiabilidade dos resultados obtidos.

Atualmente, a análise de imagens de sementes e plântulas tem-se mostrado eficiente para a avaliação dos componentes fisiológicos e físicos de sementes, que influenciam na qualidade dos lotes (SILVA et al., 2013). A análise de sementes é considerada uma atividade dinâmica constantemente evoluída, caracterizada pelas melhorias contínuas do desenvolvimento de processos e padronização. Para Guedes et al. (2011), a padronização desses métodos deve ser constantemente reavaliada mediante aplicação de testes de referência, de testes alternativos e da determinação de novas metodologias.

Experimentos realizados por Keys et al. (1984) com plântulas de milho e de soja revelaram economia no tempo de 50% em comparação às mensurações de comprimento realizadas manualmente. No entanto, nos últimos anos, talvez o uso da análise computadorizada de imagens em tecnologia de sementes tenha sido para avaliação do vigor de lotes de sementes a partir de

características morfológicas de plântulas, após período preestabelecido para o seu desenvolvimento (GOMES-JUNIOR, 2020).

Mc Cormac et al. (1990) talvez tenham sido os primeiros a utilizar a análise computadorizada de imagens, determinando o comprimento da raiz primária de plântulas de alface e cenoura. Posteriormente, Sako et al. (2001) desenvolveram um sistema automatizado para avaliação do vigor de sementes de alface, denominado *Seed Vigor Imaging System (SVIS®)*, o qual gera valores referentes ao índice de vigor (valores de 0 a 1000, diretamente proporcionais ao vigor), uniformidade de desenvolvimento (também de 0 a 1000) e comprimento de plântulas. Este sistema também tem demonstrado eficiência na avaliação do potencial fisiológico de sementes de outras espécies, como soja (HOFFMASTER et al., 2005; MARCOS-FILHO et al., 2009), milho (HOFFMASTER et al., 2005; OTONI e MCDONALD, 2005), melão (MARCOS-FILHO et al., 2006) e feijão (GOMES JUNIOR e CHAMMA, 2008).

O uso da análise computadorizada de imagens constitui uma das alternativas inovadoras, favorecendo tanto a redução do período necessário para a condução do teste, como a consistência das informações obtidas. A possibilidade de utilização da técnica de análise de imagens, para avaliar a qualidade de sementes é promissora, sendo um método precioso, em que a semente pode ser examinada individualmente em imagens ampliadas e capaz de indicar, com detalhes, a área danificada sua localização e a extensão dos danos (FORTI et al., 2008).

Alguns softwares foram desenvolvidos para auxiliar na análise computadorizada de plântulas, entre eles estão o Seed Vigor System (SVIS®), o Sistema automatizado do vigor de sementes (Vigor-S®), GroundEye® e o Sistema de análise de plântulas (SAPL®). O software SAPL® foi desenvolvido pelo grupo de estudos em Tecnologia de Sementes (GETSem) da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN) e baseia-se no processamento de imagens digitais para a avaliação do vigor das sementes a partir do desempenho de plântulas, para tanto, trabalha-se com imagens obtidas através de câmeras digitais resultando em dados acerca do comprimento total da plântula, comprimento radicular e do hipocótilo, além de fornecer índices baseados na velocidade de crescimento e uniformidade dessas plântulas (MEDEIROS e PEREIRA, 2018).

Assim, na interpretação dos resultados, lotes com menor comprimento médio de plântulas e menores valores de crescimento, uniformidade e índice de vigor são considerados de baixo vigor e lotes com maior comprimento médio de plântulas e maiores valores de crescimento, uniformidade e índice de vigor apresentam vigor mais alto. Entretanto, a interpretação dos resultados na análise

computadorizada deve-se basear em comparações com os resultados de outros testes de vigor (GOMES-JUNIOR et al., 2020).

Medeiros et al. (2018) compararam a determinação do comprimento de plântulas de milho realizada através do (SAPL) e pelo método tradicional na avaliação do vigor de sementes sendo considerado um método eficiente. Castan (2015) também avaliou o potencial fisiológico de sementes de milho utilizando sistemas de análise computadorizada de imagens de plântulas pelo SVIS e Vigor-S, sendo este último promissor para avaliação do vigor de sementes.

Em sementes de milho, Teixeira et al. (2006) verificaram que a técnica digital de análise de plântulas pelo SVIS possibilitou a associação dos dados obtidos no processamento das imagens com aqueles obtidos em outros testes de vigor. A análise de imagens das raízes de plântulas obtidas de sementes submetidas ao envelhecimento acelerado por 48 h também forneceu informações relacionadas a outros testes de vigor (DIAS et al., 2015). Utilizando o software SAPL, Medeiros et al. (2018) obtiveram resultados compatíveis com aqueles obtidos nos testes rotineiramente utilizados na avaliação do vigor, com a vantagem de se ter economia de tempo. Especificamente com sementes de milho superdoce, Alvarenga et al. (2012) observaram que a análise computadorizada de imagens de plântulas pelo SVIS® foi eficiente para a determinação do vigor das sementes, com sensibilidade comparável ao teste de envelhecimento acelerado tradicional a 41 °C por 72 h.

2.6 Espectroscopia do Infravermelho Próximo (NIR)

A espectroscopia do infravermelho próximo (NIR) é uma análise de baixo custo, rápida, não destrutiva e amplamente desenvolvida. Um espectro NIR é uma série de ondas eletromagnéticas cujos comprimentos de onda variam de 780 nm a 2500 nm; O espectro NIR contém informação relativa a grupos hidrogênio, tais como C-H, N-H e O-H. Por conseguinte, o espectro NIR pode revelar a composição da matéria orgânica nas sementes. Os modelos de predição também podem superar a influência do agente de revestimento de sementes e, portanto, pode ser aceitável para aplicações práticas (AN et al., 2016).

Pelo NIR inúmeras determinações de composição podem ser feitas simultaneamente, proporcionando uma caracterização geral de uma amostra e permitindo que a qualidade nutricional seja avaliada rapidamente (ORTEGA et al., 2022). Nos últimos anos, o NIR tem sido amplamente aplicado a alimentos, agricultura e testes industriais e alcançou grande progresso.

Consequentemente, tornou-se uma tecnologia importante para o teste rápido não destrutivo de frutas e vegetais (WANG et al., 2018). Essa técnica baseia-se na absorção em comprimentos de onda e de radiação eletromagnética nas faixas entre 780-2500 nm, absorvidos pela água e por compostos químicos como lipídios, carboidratos e proteínas, possibilitando assim a formação de espectros correspondentes à absorção de energia entre os grupos funcionais (XIA et al., 2019).

A técnica analítica do NIR oferece vantagens como rapidez na obtenção dos dados, apresenta caráter não destrutivo e não invasivo e por isso, frequentemente, não necessita de preparação prévia da amostra, o que gera economia de tempo e reagentes, minimizando erros do analista (por permitir a diminuição do número de medidas padrão) (HUANG et al., 2008; MA et al., 2017; POREP; KAMMERER; CARLE, 2015). Outro aspecto importante da técnica é que esta propicia uma análise multicomponente de uma grande variedade de matrizes, uma vez que as moléculas que compõem a amostra precisam apenas apresentar variação no momento dipolar para serem influenciadas por esta ferramenta e produzir o espectro (REICH, 2005).

O espectro contém informação relacionada aos grupos funcionais, e estas absorções apresentam-se com alto grau de sobreposição, havendo a necessidade da aplicação de métodos quimiométricos para interpretação dos resultados (MA et al., 2017). Na determinação de qualidade de sementes, faz-se necessário a aplicação combinada dos diferentes métodos matemáticos e estatísticos, como por exemplo, análises multivariadas, análise de componentes principais (PCA) e a regressão parcial de mínimos quadrados (PLS), o que permite modelar uma relação entre os dados espectrais e a composição química das sementes (BURNS, DONALD A., 2007).

A utilização de dados multivariados pode reduzir a quantidade de ruídos, dando maior precisão aos métodos e permitindo a determinação simultânea de várias características de uma amostra com um único sinal multivariado (KUMAR et al., 2014). Construindo o modelo, este pode ser aplicado a conjuntos de amostras, determinando alguma propriedade de interesse. A calibração ocorre por meio de operações matemáticas, sendo estabelecidas relações entre medidas instrumentais e valores para uma característica avaliada (MARTEN; GELADI, 1989), compreendendo as etapas de modelagem e validação.

As pesquisas na área de sementes vem trazendo resultados satisfatórios em avaliação da qualidade, como em soja, algodão, café (BAZONI et al., 2017; GAITÁN et al., 2008; GUIMARÃES, 2016), da viabilidade em milho (AMBROSE et al., 2016), de composição, com predição de ácido fítico em sementes de *Vigna radiata* (PANDE; MISHRA, 2015), teor de

nitrogênio em *Vigna unguiculata* (ISHIKAWA et al., 2017), composição de óleo em girassol e canola (GRUNVALD et al., 2014; ROSSATO et al., 2013), bem como a classificação de genótipos em algodão, cevada, mamona e milho (CUI et al., 2012; JIA et al., 2015; RINGSTED et al., 2016; SOARES et al., 2016;).

De acordo com Peng et al. (2017) a técnica do NIR pode ser usada para analisar o conteúdo dos principais componentes das sementes de milho, como proteínas, amidos e gorduras. Em sementes de milho, a técnica do NIR foi utilizada na determinação do conteúdo de óleo, proteína e amido (HILLIARD; DAYNARD, 1976) e estudos relacionados à dureza, densidade e contaminações por microrganismos (SISKA; HURBURGH, 1996). Também foi utilizado na seleção de genótipos de interesse comercial, como em aveia (SILVA et al., 2008), em ensaios de competição de cultivares visando a selecionar genótipos com maior conteúdo de óleo em girassol (GRUNVALD et al., 2009), e na seleção de populações de milho com maior teor de óleo (MITTELMANN et al., 2006).

3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Pesquisa de Sementes do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais. Foram utilizados sementes de milho-doce, cinco lotes da cultivar Doce Cristal (BR-402) e cinco lotes da cultivar Superdoce (BR-400), fornecidas pela Empresa Embrapa Hortaliças.

As sementes de cada lote foram acondicionadas em sacos de papel kraft e mantidas em câmaras fria a 10 ± 2 °C e a 50% UR durante todo o período experimental.

Inicialmente, as sementes de cada lote foram submetidas aos testes para caracterização da sua qualidade inicial.

3.1 Caracterização da qualidade inicial dos lotes

3.1.1 Determinação do grau de umidade

Foi realizado pelo método de estufa a 105 ± 3 °C, por um período de 24 horas, segundo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes para cada lote e os resultados foram expressos em porcentagem média com base no peso úmido.

3.1.2 Teste de germinação

Realizado conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009) com quatro repetições de 50 sementes dispostas sobre três folhas de papel toalha germitest umedecido com a quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. Após a sementeira, confeccionou-se rolos que foram mantidos em germinador à temperatura de 25°C. As avaliações foram realizadas aos 4 e 7 dias após a sementeira e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais obtidas no sétimo dia.

3.1.3 Primeira contagem de germinação

Foi realizada juntamente com o teste de germinação, calculando-se a porcentagem de plântulas normais obtidas no quarto dia após a sementeira (BRASIL, 2009).

3.1.4 Precocidade da emissão da raiz primária

Para a condução desse teste foi utilizado quatro repetições de 50 sementes, distribuídas em folha de papel toalha germitest umedecido com a quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco. E mantidos em germinador a temperatura de 25°C. Após 66 horas, seguido as regras da *International Seed Testing Association* (ISTA, 2020) indicada para milho foram contabilizadas o número de plântulas que emitiram raiz primária considerando 2 mm, e calculou-se a porcentagem média.

3.1.5 Teste de frio

O teste foi realizado com quatro repetições de 50 sementes e utilizou-se como substrato papel germitest umedecido conforme descrito para o teste de germinação, no entanto, o substrato foi mantido à temperatura de 10°C durante 24 horas, antes da sementeira. Em seguida, adicionou-se 40 mL de solo sobre as sementes que foram cobertas com mais uma folha de papel para confecção dos rolos. Os rolos confeccionados foram colocados em sacos plásticos e mantidos em câmara tipo BOD a 10 °C por um período de 7 dias. Após esse período, removeu-se os sacos plásticos e os rolos foram transferidos para germinador a 25 °C por 4 dias e então procedeu-se a avaliação da porcentagem de plântulas normais.

3.1.6 Emergência de plântulas

Foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes e semeadas a 2,0 cm de profundidade em bandejas plásticas contendo mistura de solo e areia na proporção de 1:2, umedecido até atingir 60% da capacidade de retenção (BRASIL, 2009). O teste foi conduzido em câmara de crescimento vegetal e foram consideradas emergidas, as plântulas que se apresentaram com 2 mm acima da superfície do substrato. A porcentagem de emergência foi calculada computando-se o total de plântulas emergidas após a completa estabilização do estande.

3.1.7 Índice de velocidade de emergência (IVE)

Calculado a partir dos valores diários obtidos do número de plantas emergidas, do primeiro ao último dia de duração do teste de emergência, conforme Maguire (1962).

3.1.8 Delineamento experimental e análise estatística

Os testes foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com cinco lotes para cada cultivar e quatro repetições. Os dados foram testados quanto à distribuição normal dos erros pelo teste de Shapiro-Wilk e à homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett. Em seguida, os dados obtidos para cada cultivar foram submetidos à análise de variância para significância do teste F, e as médias obtidas para cada lote foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para todas as análises, foi utilizado o software estatístico R 4.1.1. (R CORE TEAM, 2020).

3.2 Ensaio I - Adequação do teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico das sementes de milho-doce

Para o teste de envelhecimento acelerado, foram adotados dois procedimentos: o método tradicional e o método alternativo conforme descrito a seguir. Ambos os procedimentos foram conduzidos pelo método do gerbox de acordo com a metodologia descrita por Baalbaki et al. (2009) e Marcos-Filho (2020).

3.2.1 Envelhecimento acelerado tradicional

Foi conduzido utilizando caixa plástica tipo gerbox, na qual 250 sementes foram distribuídas, em camada uniforme, sobre a tela metálica acoplada, contendo 40 mL de água destilada ao interior

da caixa. As caixas foram tampadas de modo a obter 100% UR em seu interior, e mantidas em câmara tipo BOD à temperatura de 41 °C por períodos de 48, 72 e 96 horas. Após esses períodos, foi conduzido o teste de germinação com quatro repetições de 50 sementes, conforme descrito anteriormente, obtendo-se a porcentagem de plântulas normais no quarto dia após a semeadura.

3.2.2 Envelhecimento acelerado com solução salina

Foi conduzido de forma similar ao envelhecimento acelerado tradicional, porém adicionando-se, ao fundo da caixa gerbox, 40 mL de solução saturada de NaCl (40 g de NaCl/100 mL de água), de forma a se obter, aproximadamente, 76% de UR no interior de cada caixa (JIANHUA; MCDONALD, 1996). As caixas foram mantidas em BOD na temperatura de 41 °C por 48, 72 e 96 horas. Após cada período, foram submetidas ao teste de germinação, calculando-se a porcentagem de plântulas normais no quarto dia após a semeadura. Após cada período de envelhecimento acelerado, duas repetições de 25 sementes foram utilizadas para a determinação do grau de umidade conforme metodologia descrita para a caracterização inicial da qualidade dos lotes.

3.2.3 Delineamento experimental e análise estatística

O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), analisado em esquema fatorial 5 (lotes) x 3 (períodos de envelhecimento – 48, 72 e 96 h). Os dados foram testados quanto à distribuição normal dos erros pelo teste de Shapiro-Wilk e à homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett.

Os dados foram submetidos à análise de variância para significância do teste F. As médias dos fatores qualitativos foram comparadas para cada lote pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para todas as análises, foi utilizado o software estatístico R 4.1.1. (R CORE TEAM, 2020).

3.3 Ensaio II - Adequação do teste condutividade elétrica para avaliação do potencial fisiológico das sementes de milho-doce

Foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Baalbaki et al. (2009) e Vieira e Marcos-Filho (2020).

Quatro repetições de 50 sementes foram pesadas em balança de precisão 0,001 g, e em seguida, as sementes de cada repetição foram colocadas em copos plásticos contendo volume de 75 ml de água destilada. Os copos foram mantidos em incubadora BOD regulada a 25 °C por períodos de 4, 8, 12, 16 e 24 e 48 horas. Após cada período, os copos foram retirados da incubadora, e os exsudatos agitados com um bastão de vidro e a condutividade elétrica das soluções de embebição foi determinada em condutivímetro (Digimed modelo CD 21) devidamente calibrado. Os resultados obtidos foram divididos pelo peso das sementes das respectivas repetições e o resultado final expresso em $\mu\text{S}/\text{cm}/\text{g}$ de sementes de acordo com a metodologia descrita por Vieira e Krzyzanowski (1999) e pela AOSA (1983).

3.3.1 Delineamento experimental e análise estatística

O teste foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), analisado em esquema fatorial 5 (lotes) x 5 (períodos de embebição – 4, 8, 12, 24 e 48 h). Os dados serão testados quanto à distribuição normal dos erros pelo teste de Shapiro-Wilk e à homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett. Em seguida, serão submetidos a análise de variância. As médias dos fatores qualitativos foram comparadas para cada lote pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, e o fator quantitativo (períodos) serão submetidos à análise de regressão.

3.4 Ensaio III – Análise computadorizada de plântulas pelo software SAPL® para avaliação do potencial fisiológico das sementes

Foi realizado o teste de comprimento de plântulas com oito repetições de 10 sementes por lote, das cultivares Milho Doce Cristal e Super Doce. As sementes foram distribuídas em uma linha traçada no terço superior do papel de germinação, no sentido longitudinal e posicionadas de forma que o hilo estivesse direcionado para a parte inferior do papel. Foram confeccionados rolos de papel germitest e colocados verticalmente no germinador por períodos de três, quatro, cinco e seis dias a 25 °C. Ao final de cada período, as plântulas foram transferidas do papel de germinação para uma base fotográfica, feita de folha de espuma vinílica acetinada (E.V.A) de coloração azul, contendo onze células de cinco centímetros de largura, divididas por faixas brancas e, colocadas numa caixa preta a fim de padronização e melhorar a qualidade das imagens para serem fotografadas.

A aquisição de imagens foi feita por meio de fotografias, utilizando-se uma câmera digital Nikon, modelo Coolpix P510, configurada em 16 Megapixels, com 1/15 segundos de velocidade de disparo do obturador e $f/3.3$ de abertura do diafragma. A câmera foi mantida a uma altura de 40 cm e angulação de 90° em relação à base fotográfica, para isso foi utilizado um suporte do tipo copy stand. A intensidade luminosa incidente sobre a base fotográfica foi de 260 lux.

As imagens foram armazenadas e, posteriormente, inseridas no arquivo default selecionado do software SAPL® instalado em notebook Samsung, Windows 10 Professional. Ao iniciar o programa, após a tela inicial, selecionou-se a espécie que seria analisada. Em seguida, preencheram-se os valores mínimos, determinados para a espécie, do comprimento da parte aérea e da raiz primária para uma plântula da espécie. Na sequência, foi realizado o preenchimento da contribuição do valor de crescimento e uniformidade para o cálculo do índice de vigor (70 e 30%, respectivamente). Após registro dos valores iniciais, ocorreu-se o carregamento e processamento das imagens das plântulas por repetição e lote. Os resultados foram automaticamente salvos em um arquivo do tipo Excel e arquivados na pasta correspondente ao lote analisado. O software forneceu medições do comprimento da parte aérea (CPA), radicular (CR) e plântula inteira (CT).

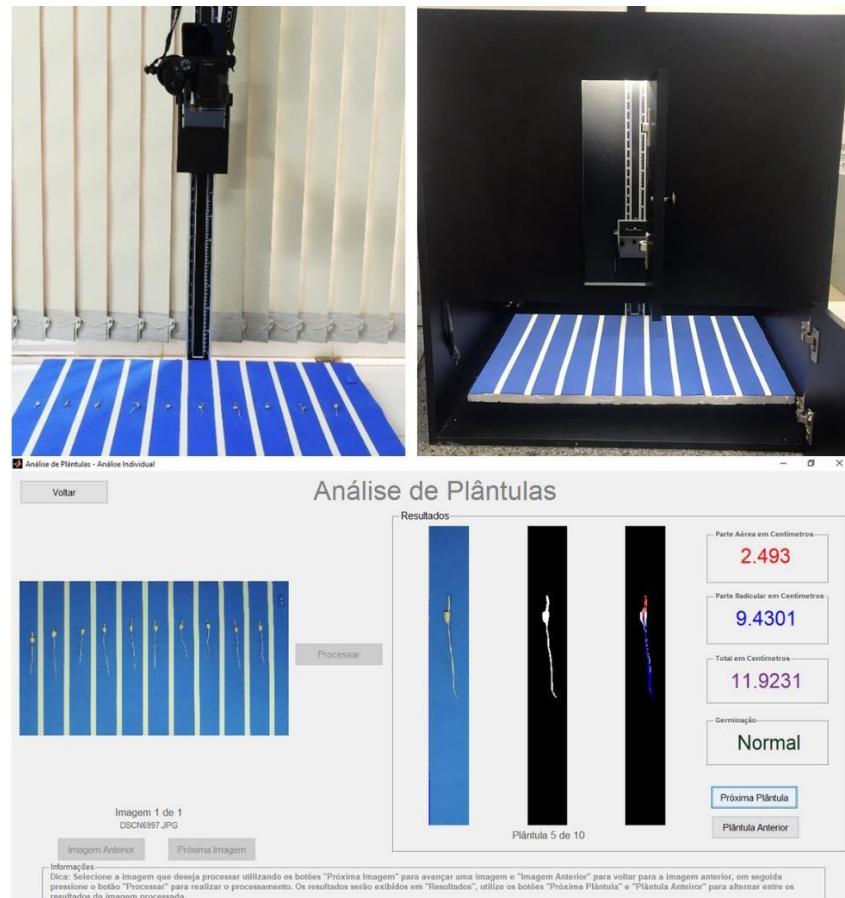


Figura 1. Aquisição das imagens fotográficas e processamento por meio do software SAPL®.

Posteriormente os valores de comprimento de plântulas obtidos pelo SAPL® foram inseridos no pacote SeedCalc do software R (SILVA et al., 2019) gerando índices mais recentes de uniformidade (CASTAN et al., 2018), crescimento (MEDEIROS et al., 2019) e vigor (MEDEIROS; PEREIRA, 2018), conforme as fórmulas abaixo:

$$IC = \left(\frac{\text{média}CT}{X_{\text{máx}}} \right) \times 1000$$

Em que: IC, o índice de crescimento; média CT, a média do comprimento total de plântulas da repetição; X máx, a média do comprimento total de 5% das maiores plântulas do experimento.

$$IU = \left[1 - \frac{\sum_{i=1}^n |Xi - \bar{X}|}{n \times X} \right] \times 1000 - \left[n_{\text{dead}} \times \left(\frac{50}{n_{\text{total}}} \right) \right]$$

Em que: IU é o índice de uniformidade; Xi, o comprimento da plântula analisada; X, o comprimento médio de plântulas do lote de sementes analisado; n, a variável número de plântulas

totais avaliadas; n_{dead} , o número de sementes não germinadas ou mortas presentes no lote avaliado; e n_{total} , o número total de plântulas.

$$IV = (0,70 * C + 0,30 * U)$$

Em que: IV é o índice de vigor; C é o índice de crescimento e U é o índice de uniformidade escolhido pelo usuário; 70 e 30 são pesos ajustáveis na fórmula para o crescimento e uniformidade, como valores referência.

3.5 Ensaio IV – Espectroscopia no infravermelho próximo – NIR e sua relação com o potencial fisiológico das sementes

3.5.1 Espectroscopia no infravermelho próximo – NIR

3.5.2 Aquisição dos espectros FT-NIR.

Neste ensaio, as sementes que foram submetidas à análise do infravermelho próximo, foram selecionadas aleatoriamente 100 sementes por lote, totalizando 600 sementes (6 lotes) por cultivar. As sementes foram analisadas individualmente, com embrião para cima e posteriormente para baixo, sendo duas repetições técnicas. Foram depositadas em suporte com tamanho e formato adequado para as sementes de milho doce. O suporte com a semente foi sobreposto com um cilindro de ouro para que os feixes de luz não interferissem nos resultados espectrais. Os dados espectrais de cada semente foram obtidos por meio de um espectrômetro de transformada de Fourier – FT-NIR (Thermo Scientific Antaris II). Os espectros de refletância NIR foram expressos como $\log(1/R)$, sendo o R a refletância. Para cada semente foram coletados 3.112 pontos por espectro, dentro de uma faixa de comprimento de onda que varia de 1000 a 2500 nm resolução de 12500 nm. Foram realizadas 200 varreduras sucessivas dos espectros médios de cada lote, sendo as varreduras realizadas em 30 segundos para cada semente.

Após essas avaliações, as sementes foram submetidas ao teste padrão de germinação com quatro repetições de 50 sementes cada, distribuídos em rolos de papel toalha (Germitest®) umedecidos com água destilada, na quantidade de 2,5 vezes o peso do papel seco. Após a semeadura, os rolos foram mantidos em germinador a temperatura de 25 °C. As avaliações foram realizadas no quarto e no sétimo dia após a semeadura e os resultados foram expressos em percentagem de plântulas normais, anormais e mortas (BRASIL, 2009).

3.5.3 Delineamento experimental e análise estatística

Para o teste de germinação, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC) com quatro repetições. Os dados foram testados quanto à distribuição normal dos erros pelo teste de Shapiro-Wilk e à homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett. Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias obtidas para cada lote foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados espectrais foram submetidos à análise de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) para extração dos componentes principais dos dados espectrais e classificação de acordo com a variância mais explicada. Após o treinamento do modelo PLS-DA, foi avaliada a influência dos preditores medindo a importância das variáveis a partir de pontuações derivadas dos coeficientes gerados pela PLS-DA para o modelo ideal de predição. O algoritmo extrai valores de covariância entre as diferentes classes e os preditores são classificados a partir dessas pontuações (KOSMOWSKI; WORKU, 2018). Assim, as classes de treinamento foram: sementes de alto vigor (n=400), médio vigor (n=600) e baixo vigor (n=200), para ambas as cultivares conforme os resultados do teste de germinação.

Para a remoção dos ruídos existentes nos espectros obtidos no FT-NIR, foi utilizado o pacote “nira” (MEDEIROS, 2020) e funções cooptadas do software R (R Core Team, 2020). Para a validação do algoritmo, os espectros foram divididos de forma aleatória para o treinamento (70%) e teste/validação (30%) (KOSMOWSKI; WORKU, 2018). Foram testadas duas abordagens para tratar os dados decorrentes dos espectros do treinamento e validação dos algoritmos, resultando na formação de dois bancos de dados.

A composição do primeiro banco de dados baseou-se na formação de espectros após a aplicação do escalonamento automático pela técnica de pré-processamento, onde foi empregada a função de escala embutida do software R. A composição do segundo banco de dados resultou na formação de espectros após a primeira derivada de Savitzky – Golay (polinômio de terceiro grau, tamanho da janela = 5) (RIBEIRO et al., 2020).

Foi realizada ainda a Análise de Componentes Principais (PCA) com o objetivo de detectar padrões resultantes dos dados obtidos da análise do FT-NIR. Logo, foram montadas duas matrizes com os dados obtidos de cada semente, sendo a primeira relacionada aos espectros escalonados (3112 x 1200) e a segunda aos espectros suavizados a partir da primeira derivada do Savitzky – Golay (3108 x 1200).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CULTIVAR DOCE CRISTAL (BR-402)

4.1.1 Caracterização da qualidade inicial dos lotes

O grau de umidade dos lotes de sementes de milho-doce variou de 11,2 a 13,0% (Tabela 1). A variação do grau de umidade das sementes dos diferentes lotes não deve ultrapassar 2 pontos percentuais para que os resultados dos testes não sejam afetados por diferenças na atividade metabólica, velocidade de umedecimento e de deterioração das sementes. Segundo Basso (2014), sementes de milho-doce com graus de umidade semelhantes aos verificados tem sua qualidade preservada, pois a atividade metabólica é diminuída, evitando o desenvolvimento de microrganismos e a deterioração. Portanto, essas variações estão dentro dos limites toleráveis (2 a 3 pontos percentuais), não afetando o comportamento das sementes durante a condução dos testes e contribuindo para o alcance de resultados consistentes (MARCOS-FILHO, 2015).

Houve diferença significativa entre os lotes com relação à germinação. O lote 2 apresentou melhor resultado, mas não diferindo do lote 4 e 5. O lote 3 teve menor germinação não diferindo do lote 1 (Tabela 1). Todos os lotes atingiram valores de germinação superiores a 70% que é o padrão mínimo estabelecido pela legislação para a comercialização de sementes de milho-doce (BRASIL, 2013).

Ao avaliar a emissão de raiz primária, os lotes 2, 4 e 5 foram superiores aos lotes 1 e 3. Já pela primeira contagem de germinação, observou-se que o lote 4 foi superior ao lote 1 (Tabela 1). Segundo Marcos-Filho (2015), o surgimento da raiz primária não é suficiente para avaliar se as plântulas continuam a crescer normalmente e, por isso, a percentagem de germinação é geralmente menor do que a porcentagem de sementes que desenvolvem raiz primária. As plântulas normais e anormais podem apresentar raiz primária; no entanto, apenas as normais são contadas na avaliação da germinação. A emissão da radícula com 2 mm após 84 horas a 20 °C ou 150 horas a 13 °C pode ser utilizada como um método de avaliação do vigor para sementes de milho-doce. Trata-se de um teste que precisa de menos tempo para ser concluído em comparação com outros testes de vigor e pode ser padronizado no futuro (LUO et al., 2015).

Ao se avaliar a primeira contagem de germinação que permite inferir sobre a velocidade de germinação das sementes (KRZIZANOWSKI et al. 2020), verificou-se que as sementes do lote 4 germinaram mais rápido que as do lote 1, enquanto os demais lotes não diferiram

significativamente destes dois lotes. O teste de frio tem sido um dos testes mais utilizados para avaliar o vigor de sementes de milho. Neste teste, os lotes 2 e 4 tiveram, em geral, melhor desempenho, sobretudo os lotes 1 e 3 (Tabela 1).

Tabela 1. Grau de umidade (GU), germinação (G), emissão da raiz primária (ERP), primeira contagem de germinação (PC), teste de frio (TF), emergência (E) e índice de velocidade de emergência (IVE) dos lotes de sementes milho-doce cv. Doce Cristal.

Lote	GU (%)	G (%)	ERP (%)	PC (%)	TF (%)	E (%)	IVE (índice)
Doce Cristal							
1	11,9	86 bc	91 b	77 b	83 bc	88 b	5,36 b
2	11,2	93 a	98 a	80 ab	89 a	98 a	5,90 a
3	13,0	84 c	88 b	78 ab	82 c	87 b	5,14 b
4	12,8	92 ab	97 a	87 a	89 a	90 ab	5,42 ab
5	12,1	91 ab	97 a	85 ab	88 ab	91 ab	5,35 b
F	-	7,15*	19,72*	4,55*	8,01*	4,52*	6,54*
CV (%)	-	3,55	2,10	5,11	2,86	4,48	4,06

*, ^{ns} = significativo e não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; F = valor de F calculado; CV = coeficiente de variação. Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Os resultados de emergência de plântulas foram similares aos do teste de germinação, com maiores valores para o lote 2 e menores para os lotes 1 e 3 (Tabela 1). Resultados semelhantes quanto à classificação dos lotes foi observado para o IVE, apenas acrescentando o lote 5 junto aos lotes de desempenho inferior (1 e 3).

Em síntese, pelos testes utilizados para a caracterização da qualidade inicial das sementes, verifica-se que o lote 2 esteve entre os de melhor potencial fisiológico na maioria dos testes aplicados, sendo que o lote 4 também esteve nesta categoria pelos testes de frio, primeira contagem e emissão de raiz primária. Por outro lado, o lote 3, de modo geral, foi o menos vigoroso e, dependendo do teste igualou-se ao lote 1 (Tabela 1).

4.1.2 Ensaio I - Adequação do teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico das sementes de milho-doce

O teor de água das sementes submetidas ao envelhecimento pelo método tradicional (100% UR) aumentou progressivamente com o aumento do período de envelhecimento, apresentando valores entre 13,2% e 19,1 % após 48 h e entre 23,3 % e 24,9 % após 96 h. Já com solução salina

de NaCl (76% UR), o teor de água das sementes foi menor variando entre 9,0% e 11,6% no período de 48 h, entre 9,4% e 17,7% com 72 h e entre 11,4% e 16,5% com 96 h (Tabela 2). Assim, com uso de solução saturada de NaCl (76% UR) houve menor absorção de água pelas sementes, resultando em menor deterioração, o que pode ser comprovado pelos valores mais altos de germinação após o envelhecimento acelerado obtidos com a solução saturada em relação aos valores quando se utilizou água (100% UR) (Tabela 3).

Tabela 2. Teor de água (%) obtidos após os períodos de envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl em lotes de sementes de milho-doce cv. Doce Cristal.

Lote	Umidade inicial (%)	Tradicional (100% UR)			Solução de NaCl (76% UR)		
		48 h	72 h	96 h	48 h	72 h	96 h
Doce Cristal							
1	11,9	13,2	21,7	23,3	11,6	17,7	15,1
2	11,2	19,1	24,8	24,2	11,5	11,5	11,8
3	13,0	15,5	22,3	23,7	9,0	11,5	16,6
4	12,8	17,4	20,2	24,9	10,3	11,4	11,8
5	12,1	17,5	20,6	23,7	11,5	9,4	11,4

O envelhecimento acelerado pelo método tradicional (100% UR) por 48 h permitiu a separação dos lotes em dois níveis de vigor, com maior vigor para os lotes 1, 2, 4 e 5 e menor vigor para o lote 3. Resultados semelhantes foram obtidos com 96 h, diferindo apenas com relação ao lote 1 que neste tempo se igualou ao lote de pior desempenho (lote 3). No entanto, após 72 h, foi possível maior diferenciação entre os lotes, com maior vigor para o lote 4, mas não diferindo do lote 5, e menor vigor para os lotes 1 e 3 com o lote 2 classificado como de médio vigor. Estes resultados estão coerentes com aqueles obtidos nos testes de frio e de emergência de plântulas (Tabela 1).

Observa-se ainda valores mais baixos de germinação após o envelhecimento no período de 96 h em relação aos demais, demonstrando deterioração mais acentuada das sementes (Tabela 3). Coimbra et al. (2009) avaliaram a eficiência do teste de envelhecimento acelerado em lotes de milho-doce por períodos de 24, 48, 72 e 96 h à 42 °C, e não obtiveram resultados eficientes.

Os resultados obtidos pelo método com solução de NaCl (76% UR) por 48 e 72 h foram semelhantes aos obtidos com o método tradicional por 96 h. Ou seja, foi possível separar os lotes em apenas dois níveis de vigor, sendo o lote 2, 4 e 5 superiores aos lotes 1 e 3 (Tabela 3). Com 96 h, houve maior estratificação dos lotes quanto ao vigor, à semelhança do obtido pelo método tradicional após 72 h, com maior vigor para o lote 4 em relação aos lotes 1 e 3, sendo o lote 3

classificado como de menor vigor, inferior ao lote 1. Nota-se ainda que as sementes do lote 4 não diferiram estatisticamente daquelas dos lotes 2 e 5. Resultados semelhantes quanto à classificação dos lotes quanto ao vigor foram observados no teste de frio e no teste de emergência de plântulas (Tabela 1).

Segundo Santos et al. (2002), o teste de envelhecimento acelerado passou a ser incluído em programas de controle de qualidade conduzidos por empresas produtoras de sementes, pois, em poucos dias, pode-se obter informações sobre o potencial de armazenamento dos lotes.

Tabela 3. Germinação (%) dos lotes de sementes de milho-doce cv. Doce Cristal, após diferentes tempos de envelhecimento acelerado a 41 °C pelo método tradicional (100% UR) e com solução saturada de NaCl (76% UR).

Lote	Tradicional (100% UR)			Solução de NaCl (76% UR)		
	48 h	72 h	96 h	48 h	72 h	96 h
Doce Cristal						
1	81 aA	54 cB	43 bB	69 bB	58 bA	62 bA
2	81 aB	61 bB	53 aB	83 aA	71 aA	65 abA
3	73 bA	51 cB	46 bB	72 bA	57 bA	56 cA
4	82 aB	66 aB	55 aB	84 aA	72 aA	68 aA
5	85 aA	63 abB	51 aB	82 aB	68 aA	66 abA
CV (%)	5,93					

Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas na coluna, e letras maiúsculas na linha, comparando os métodos em cada tempo não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Observa-se que houve redução da germinação após o envelhecimento com o aumento do tempo de exposição para todos os lotes em ambos os métodos estudados. No entanto, a redução se deu de forma mais acentuada quando se utilizou o envelhecimento acelerado tradicional (100% UR) (Figura 2A), onde maiores valores foram obtidos com 48 h e menores valores com 96 h para todos os lotes. Isto é devido ao maior estresse e deterioração deste método em relação à condução do teste com solução saturada (76% UR) (Figura 2B).

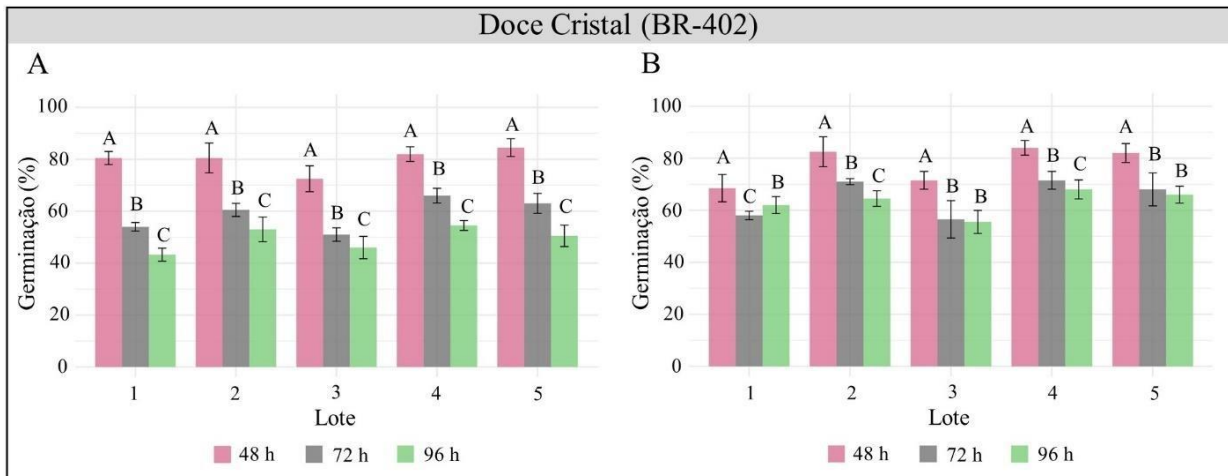


Figura 2. Germinação dos lotes de sementes de milho-doce cv. Doce Cristal, após o envelhecimento acelerado tradicional (A) e em solução saturada de NaCl (B) por diferentes períodos. Médias seguidas pelas mesmas letras, comparando período dentro de lote e métodos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O uso de solução salina saturada no teste de envelhecimento acelerado tornou a hidratação das sementes de milho-doce mais lenta quando comparado ao método tradicional (100% UR) devido à menor umidade relativa no interior das caixas plásticas (76% UR). Para o teste de envelhecimento acelerado em sementes de milho, é recomendada a temperatura de 45 °C por 72 h, pelo método tradicional (MARCOS-FILHO, 1999; AOSA, 2009). Contudo, para sementes de milho-doce, pode ser interessante a redução da UR para 76%, como estratégia para reduzir a incidência de microrganismos durante o teste e também por se tratar de semente que é sensível à deterioração, em função da constituição do seu endosperma, rico em sacarose. Este método alternativo com menor UR, foi proposto por JIANHUA & McDONALD (1996) para sementes pequenas, especialmente de hortaliças devido a absorção de umidade ser mais acelerada, resultando em rápida deterioração das sementes para algumas espécies. Essa alteração de metodologia proporciona menor velocidade de hidratação das sementes, menor teor de água ao final do teste, minimiza as variações de hidratação das sementes e dos resultados, de forma a proporcionar maior eficiência na avaliação do vigor (PANOBIANCO & MARCOS FILHO, 2001). No entanto, nossos resultados indicam que a classificação de lotes mais coerente com os demais testes de vigor empregados foi possível quando se utilizou o método tradicional.

Pela análise de componentes principais (PCA), foi possível observar que os componentes 1 (PC1) e 2 (PC2) explicaram 92,8% da variabilidade total dos dados (Figura 3). Observa-se que os

lotes 2, 5 e 4 se concentraram nos escores positivos do PC1 associados aos melhores desempenhos. No entanto, os lotes 1 e 3 se localizaram nos escores negativos do PC1, distantes dos vetores relacionados à qualidade fisiológica, sendo lotes que apresentaram baixo potencial fisiológico conforme observado pelas variáveis de vigor.

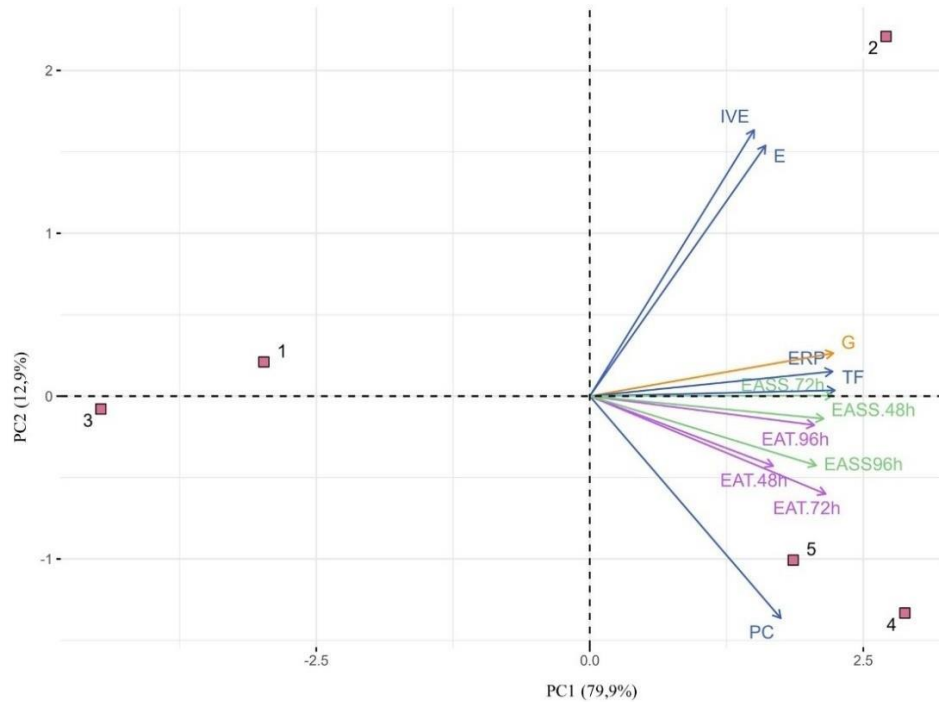


Figura 3. Análise de componentes principais (PCA) das variáveis germinação (G), emissão de raiz primária (ERP) primeira contagem de germinação (PC), teste de frio (TF), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE) e os diferentes procedimentos do teste de envelhecimento acelerado realizados em sementes de milho-doce cv. Doce Cristal.

4.1.3 Ensaio II - Adequação do teste condutividade elétrica para avaliação do potencial fisiológico das sementes de milho-doce

O teste de condutividade elétrica avalia o grau de estruturação das membranas celulares em decorrência da deterioração das sementes, por meio da determinação da quantidade de íons lixiviados em solução de embebição (NEMOTO, 2021).

Nos períodos de 8, 12 e 16 horas foi possível separar os lotes 2, 4 e 5 como superiores aos lotes 1 e 3, resultados estes semelhantes aos obtidos com 4 h de embebição, onde o lote 3 não diferiu dos demais (Tabela 4). De acordo com Loeffler et al. (1988), quanto menos acentuadas forem as diferenças de vigor entre os lotes, períodos de embebição mais longos serão necessários

para a sua diferenciação. Borges (2016) observou que o teste de CE foi eficiente ao discriminar o vigor de lotes de milho-doce. Foi possível verificar a mesma diferenciação de lotes tanto com 24 quanto em 48 horas, o que indica não haver necessidade de esperar pelo dobro do tempo para obter resultados consistentes (Tabela 4). Segundo Coimbra (2009), dentre os testes de vigor aplicados, somente o de condutividade elétrica nos tempos de 6, 8 e 24 horas foi capaz de identificar diferença entre os lotes de sementes de milho-doce (sh2).

Tabela 4. Condutividade elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) de diferentes lotes de sementes de milho-doce cv. Doce Cristal em diferentes períodos de embebição.

Lote	Período de embebição (h)					
	4	8	12	16	24	48
Doce Cristal						
1	8,78 a	13,19 a	15,78 a	19,23 a	26,81 a	37,88 a
2	5,27 b	7,20 b	8,82 b	10,28 b	12,71 c	18,82 c
3	7,80 ab	12,01 a	16,01 a	19,77 a	23,74 b	34,85 b
4	5,24 b	6,94 b	8,51 b	9,95 b	12,16 c	17,04 c
5	5,53 b	7,45 b	9,11 b	11,14 b	13,09 c	18,52 c
CV (%)	10,30					

Médias seguidas pelas mesmas letras, dentro de cada período de embebição na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

As sementes de menor potencial fisiológico liberam maior quantidade de lixiviados, como consequência da menor estruturação e seletividade das membranas (VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 2020). Quando a semente está sadia e vigorosa, o sistema de membranas celulares está organizado e estruturado, ou seja, há maior integridade do sistema de membranas, o que resulta na menor liberação de lixiviados para a solução de embebição. Isso proporciona menor valor de condutividade elétrica o que está diretamente relacionado à maior qualidade fisiológica (AZERÊDO et al., 2016; VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999).

Ao avaliar o desempenho dos cinco lotes de milho-doce nos diferentes períodos de embebição, observa-se que houve aumento da condutividade elétrica com o aumento do período de embebição (Figura 4). Os maiores valores foram obtidos para as sementes do lote 1 e 3, enquanto os menores valores foram observados para as sementes dos lotes 2, 4 e 5.

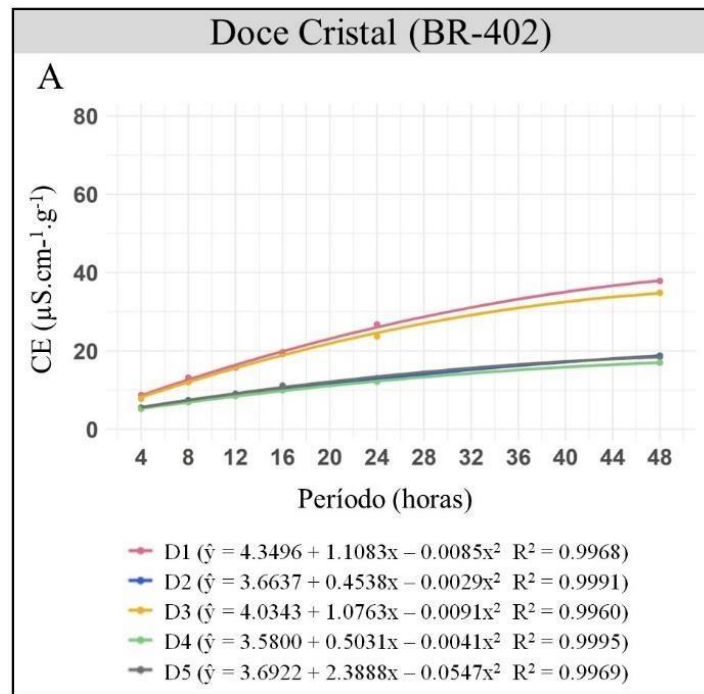


Figura 4. Condutividade elétrica de cinco lotes de sementes de milho-doce, cv. Doce Cristal (A), após embebição por 4, 8, 12, 16 e 24 horas em 75 mL de água destilada.

O teste de condutividade elétrica com sementes de milho-doce embebidas em 50 mL de água a 20 °C por 24 h foi eficiente para avaliar o vigor das sementes (CHAUHAN et al., 2022). Em sementes de milho pipoca, observou-se que o teste conduzido à temperatura de 35 °C por um período de embebição de 48 h permitiu maior diferenciação dos lotes (RIBEIRO et al., 2009).

Conforme já citado, quanto maior os valores de condutividade menor o vigor das sementes. Esses resultados confirmam com os obtidos dos testes de caracterização inicial (Tabela 1), na qual as sementes da cv. Doce Cristal dos lotes 1 e 3 tiveram pior desempenho. No período de 24 h de embebição, houve separação eficiente dos lotes quanto ao vigor, podendo ser observado pelo maior valor de condutividade do lote 1, seguido do lote 3. Observando os resultados do teste de envelhecimento acelerado em ambos os métodos, os lotes 2, 4 e 5 também estiveram entre os de melhor potencial fisiológico, como ocorreu no teste de condutividade em todos os períodos de embebição testados.

O desenvolvimento de estudos visando identificar valores de referência é muito importante, pois permite estabelecer parâmetros associados ao nível de vigor dos lotes de sementes, comparação com resultados obtidos em outros testes e, conseqüentemente, estabelecimento de padrões a serem seguidos no controle interno de qualidade para programas em empresas produtoras de sementes (PRADO et al., 2019).

A partir da análise de componentes principais (PCA) foi possível explicar 98,2% da variabilidade total dos dados (Figura 5). No quadrante 1, referente aos scores positivos do componente 1 (PC1), se encontram os vetores relacionados à condutividade elétrica, apresentando basicamente o mesmo tamanho e estão relacionados com os lotes 1 e 3, que foram considerados lotes de baixa qualidade fisiológica. Isso pode ser explicado pelo fato de que lotes de menor qualidade apresentam maiores valores de condutividade elétrica. Por outro lado, o lote 2 e os vetores de IVE e emergência se encontram no quadrante negativo do PC1, que são vetores importantes na classificação dos lotes juntamente com germinação, emissão da raiz primária e teste de frio. No quadrante 3, o vetor principal é referente à primeira contagem e está relacionado com os lotes 4 e 5 que também são lotes que apresentaram alto potencial fisiológico.

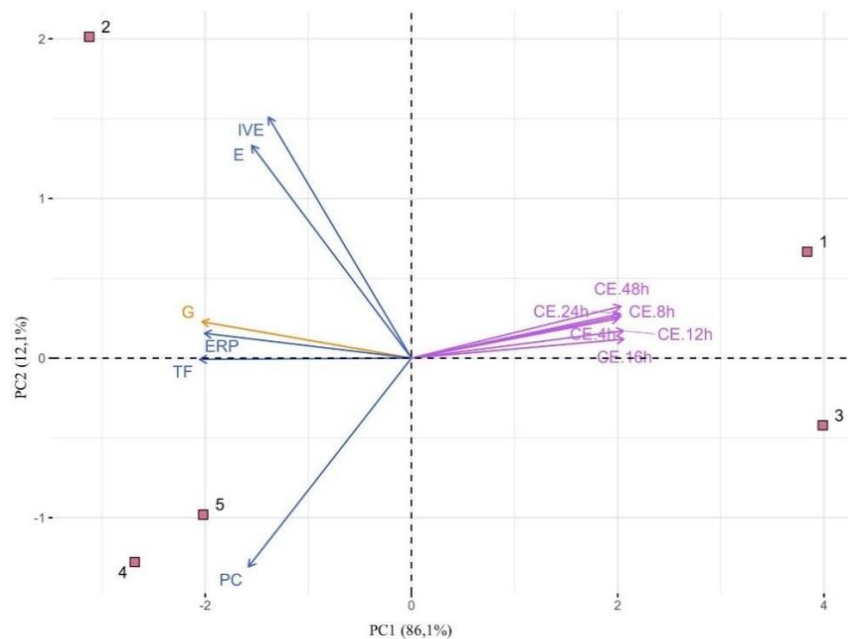


Figura 5. Análise de componentes principais (PCA) das variáveis germinação (G), emissão de raiz primária (ERP) primeira contagem de germinação (PC), teste de frio (TF), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE) e os diferentes períodos do teste de condutividade elétrica realizados em sementes de milho-doce cv. Doce Cristal.

4.1.4 Ensaio III – Análise computadorizada de plântulas pelo software SAPL® para avaliação do potencial fisiológico das sementes

Os dados obtidos na análise computadorizada de plântulas pelo processamento de imagens pelo software SAPL® se encontram na Tabela 5. Apenas no quinto dia de avaliação não houve diferença significativa entre o comprimento da parte aérea (CPA) dos lotes. Com 3 dias, foi possível destacar o lote 1 com maior CPA, não diferindo dos lotes 2 e 5, e o lote 4 com o menor CPA, não diferindo do lote 3. Já no 4º dia o lote 4 que tinha menor comprimento de parte aérea no terceiro dia, já apresentou melhor desempenho juntamente com o lote 2 quando comparados aos lotes 3 e 5, com menor CPA. Aos 6 dias, os resultados foram semelhantes aos obtidos com 4 dias, quanto aos lotes com maior CPA (lotes 2 e 4) acrescentando-se o lote 5, com menores valores para os lotes 1 e 3. Comparando estes resultados com os da Tabela 1, constata-se que houve similaridade dos resultados para CPA obtidos aos quatro dias com os obtidos no teste de frio quando à classificação dos lotes em níveis de vigor. Sena et al., (2015) avaliaram a qualidade fisiológica de sementes de milho e observaram diferenças significativas no comprimento da parte aérea entre as variedades estudadas, o que admitiu uma classificação em nível de vigor adequada.

Os resultados obtidos aos 5 e 6 dias para o comprimento radicular (CR) e comprimento do total de plântula (CT) foram semelhantes, obtendo-se apenas dois níveis de vigor, ou seja, os lotes 1 e 3 identificados como inferiores aos demais lotes. Estes resultados também foram observados para o CR aos 3 dias. Já o CT neste período permitiu uma separação mais nítida dos lotes, com maiores valores para os lotes 2 e 5, que foram superiores aos lotes 1 e 3. Aos quatro dias apenas o lote 3 foi inferior aos demais lotes para CR e CT (Tabela 5). Esta classificação foi similar à obtida pelo teste de frio (Tabela 1), indicado como mais sensível para detectar diferença no vigor dos lotes.

De modo geral, pelo CR, independente da época de avaliação e pelos índices gerados aos quatro, cinco e seis dias só foi possível identificar dois níveis de vigor para os lotes testados. Já pelo CPA e CT, aos três e quatro dias e pelo IV aos três dias, houve uma separação mais detalhada dos lotes quanto ao vigor, possibilitando identificar lotes de maior e menor vigor além de lotes de médio vigor (Tabela 5).

De acordo com Nakagawa et al. (1999), a relação entre comprimento de plântulas e o vigor das sementes permite uma avaliação mais coerente da qualidade fisiológica do lote. Já que sementes vigorosas originam plântulas mais desenvolvidas, refletindo a ação de mecanismos de reparo, mobilização de reservas e sínteses de novos tecidos durante a germinação (KRZYŻANOWSKI et al., 2020).

A avaliação do vigor de lotes de sementes baseada na mensuração do comprimento de plântulas é um procedimento simples que pode fornecer informações valiosas sobre o potencial de desempenho das plântulas em campo. Embora o teste de crescimento de plântulas seja comprovadamente eficiente na identificação de diferenças de vigor entre lotes de sementes, sua utilização nos programas internos de controle de qualidade das empresas produtoras de sementes não era uma realidade até o surgimento de métodos computadorizados de análise de imagem de plântulas (GOMES-JUNIOR, 2020).

Dias et al. (2015) também obtiveram resultados confiáveis e comparáveis aos obtidos em testes tradicionais, quando utilizaram medidas de comprimento de raízes de plântulas de milho por análise de imagem. Pela análise de imagens das plântulas de milho com três dias de germinação, observou-se que o comprimento total permitiu estratificar os lotes em oito níveis de vigor (SILVA, 2020).

Em suma, nas avaliações de comprimento de plântulas pelo SAPL, observa-se que com três e cinco dias de germinação foi possível classificar os lotes em níveis de vigor ao se avaliar o CR e CT. Já com quatro e seis dias tanto o CPA como o CR e o CT classificaram os lotes quanto ao vigor. No entanto, com seis dias já é um tempo maior para fazer análise e tomar decisões para o controle de qualidade, além das raízes seminais já estarem grandes o que dificulta a leitura do software, tendo que fazer a retirada delas.

Tabela 5. Resultados médios de comprimento de parte aérea (CPA), comprimento radicular (CR), comprimento total (CT), índice de uniformidade (IU), índice de crescimento (IC) e índice de vigor (IV), obtidos pelo SAPL® na avaliação de cinco lotes de sementes de milho-doce, cv. Doce Cristal, aos três, quatro, cinco e seis dias.

Lote	CPA	CR (mm. plântula ⁻¹)	CT	IU	IC Índices	IV
3 DIAS						
1	6,07 a	33,14 b	43,09 c	678,24 b	3175,56 b	2411,52 bc
2	5,88 ab	42,42 a	48,42 a	775,75 ab	3866,49 a	2832,52 ab
3	5,59 bc	36,19 b	44,43 bc	677,1 b	3556,29 a	2258,99 c
4	5,44 c	43,40 a	46,67 ab	816,17 a	3785,95 a	2911,42 ab
5	5,82 ab	44,10 a	47,77 a	825,37 a	3671,66 a	3036,41 a
F	8,80*	23,96*	8,73*	10,31*	14,4*	7,97*
CV (%)	2,89	5,02	3,31	5,99	3,94	8,85
4 DIAS						
1	14,34 ab	73,69 a	89,54 a	692,34 b	7046,11 a	5139,99 a
2	15,55 a	82,34 a	96,30 a	761,66 ab	7457,47 a	5382,01 a
3	11,59 c	58,96 b	66,67 b	683,54 b	6007,71 b	4226,98 b

4	15,39 a	83,63 a	96,96 a	821,00 a	7674,91 a	5619,99 a
5	12,63 bc	80,37 a	98,28 a	824,08 a	7420,30 a	5487,49 a
F	13,18*	12,27*	36,34*	7,59*	8,17*	7,79*
CV (%)	6,89	7,65	4,9	6,47	6,5	7,71
5 DIAS						
1	24,80 a	102,45 b	125,50 b	624,11 b	10289,8 b	6563,82 b
2	25,41 a	125,50 a	152,04 a	776,38 b	11545,4 a	8422,75 a
3	22,72 a	100,17b	116,15 b	663,51 b	9158,6 c	6611,88 b
4	27,09 a	125,95a	156,84 a	827,14 a	11622,6 a	8382,85 a
5	24,88 a	131,48 a	159,98 a	829,59 a	12096,3 a	8589,91 a
F	1,49 ^{ns}	18,72*	12,94*	14,46*	22,65*	16,54*
CV (%)	10,25	5,78	7,79	6,72	4,61	6,57
6 DIAS						
1	35,76 b	123,88 b	160,78 b	587,29 b	12145,2 b	8373,87 b
2	43,86 a	161,93 a	205,89 a	812,3 a	14990,8 a	10735,9 a
3	37,47 ab	128,42 b	167,06 b	580,40 b	11945,4 b	8535,92 b
4	43,37 a	128,42 a	209,52 a	841,12 a	15097,8 a	10820,8 a
5	43,76 a	169,32 a	209,94 a	856,45 a	15645,9 a	11006,9 a
F	6,87*	28,18*	18,57*	20,72*	13,50*	17,13*
CV (%)	7,3	5,43	5,97	8,33	6,9	6,44

* = significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; F = corresponde ao valor de F calculado; CV = coeficiente de variação. Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Em geral, os resultados gerados para o índice de uniformidade (IU) permitiram separar os lotes em dois níveis de vigor aos três, quatro e cinco dias, sendo que aos cinco dias, o lote 2, identificado pelos demais testes de avaliação da qualidade como de maior vigor, juntamente com os lotes 4 e 5, foi agrupado juntamente com os lotes de pior desempenho 1 e 3. Alguns autores apontam que o índice de uniformidade de desenvolvimento de plântulas deve ser levado em consideração na avaliação dos lotes de sementes, pois pode fornecer informações úteis sobre o grau de deterioração, potencial de crescimento inicial e uniformidade de emergência de plântulas (LEÃO-ARAÚJO et al., 2019).

Com relação ao índice de crescimento (IC) (Tabela 5), apenas com cinco e seis dias foi possível separar os lotes quanto ao vigor, sendo os lotes 2, 4 e 5 os de maiores índice e os lotes 1 e 3 com os menores valores, classificação esta coerente com o CT e com os resultados dos demais testes de avaliação do potencial fisiológico (Tabela 1). Segundo SAKO et al. (2001), os índices de crescimento e uniformidade são calculados resultando em valores pelo 0 a 1000 que são diretamente proporcionais ao vigor das sementes. A uniformidade de desenvolvimento é um parâmetro avaliado pelo software, como base na comparação do crescimento das plântulas com o

máximo crescimento esperado para cada espécie durante o período de duração do teste. O parâmetro uniformidade de desenvolvimento de plântulas foi eficiente para avaliar o vigor de sementes de crambe (ARAÚJO et al., 2017).

De modo geral, pelo índice de vigor (IV) aos três dias observa-se maior valor para o lote 5, que embora não tenha diferido dos lotes 2 e 4, foi superior aos lotes 1 e 3. Já aos quatro dias, foi possível constatar apenas a inferioridade do lote 3 em relação aos demais (Tabela 5). Os resultados obtidos aos cinco e seis dias após a semeadura foram similares desatacando-se os lotes 2, 4 e 5 como superiores aos lotes 1 e 3, à semelhança do que foi observado nos testes de avaliação da qualidade inicial das sementes (Tabela 1). O índice de vigor está relacionado à rapidez e uniformidade de desenvolvimento das plântulas em relação ao máximo valor estimado para plântulas com a idade pré-estabelecida na programação do software (PEREIRA et al., 2020).

Em síntese, pode-se constatar que as sementes dos lotes 1 e 3 tiveram os menores valores para a maioria das variáveis obtidas pelo SAPL (Tabela 5). Estes resultados são coerentes com os obtidos na maioria dos testes utilizados para a caracterização da qualidade inicial dos lotes (Tabela 1). Em sementes de milho-doce submetidas ao condicionamento fisiológico, Gomes-Junior et al. (2009) obtiveram resultados semelhantes entre o índice de vigor e a emergência de plântulas. O baixo vigor dos lotes, segundo Schuch et al. (1999), condiciona o retardo dos processos metabólicos, refletindo em menor nível de desenvolvimento das plântulas. Assim, pode-se afirmar que a aplicação de tecnologias baseadas em análises de imagens de plântulas por meio do software SAPL® é eficiente na predição do vigor de sementes de milho-doce, resultando em respostas rápidas e confiáveis a partir do terceiro dia após a semeadura. A avaliação de imagens de plântulas digitalizadas permite diferenciar lotes em níveis de vigor, sendo um processo de análise relativamente rápido e preciso (HOFFMASTER *et al.*, 2003; MARCOS FILHO *et al.*, 2009).

O SAPL® foi eficiente na classificação de lotes de lentilha (LIMÃO, 2022), soja (MEDEIROS; PEREIRA, 2018), moringa (PEREIRA et al., 2020), grão-de-bico (ARAÚJO et al., 2021) quanto ao seu potencial fisiológico no quarto dia após a semeadura. Em sementes de milho, Medeiros et al. (2019) observaram alta correlação entre as variáveis geradas pelo SAPL, aos três e cinco dias de germinação, e os valores nos testes tradicionais utilizados. Não houve diferença entre a medição de plântulas realizada de maneira manual e a automatizada, por meio de análise de imagens em sementes de milho. Deve-se considerar, contudo, que a análise de imagem em plântulas além de fornecer dados confiáveis, comparados aos testes tradicionais de vigor, tem como

grande vantagem a economia de tempo para a obtenção dos resultados (MEDEIROS et al., 2018). Gomes-Junior (2009), avaliando o potencial fisiológico de sementes de milho-doce expostas às injúrias mecânicas utilizando análise computadorizada de plântulas com o software (SVIS®), obteve resultados eficientes pois identificou diferenças entre tratamentos não observadas na primeira contagem de germinação e nos testes de condutividade elétrica, de envelhecimento acelerado e de frio.

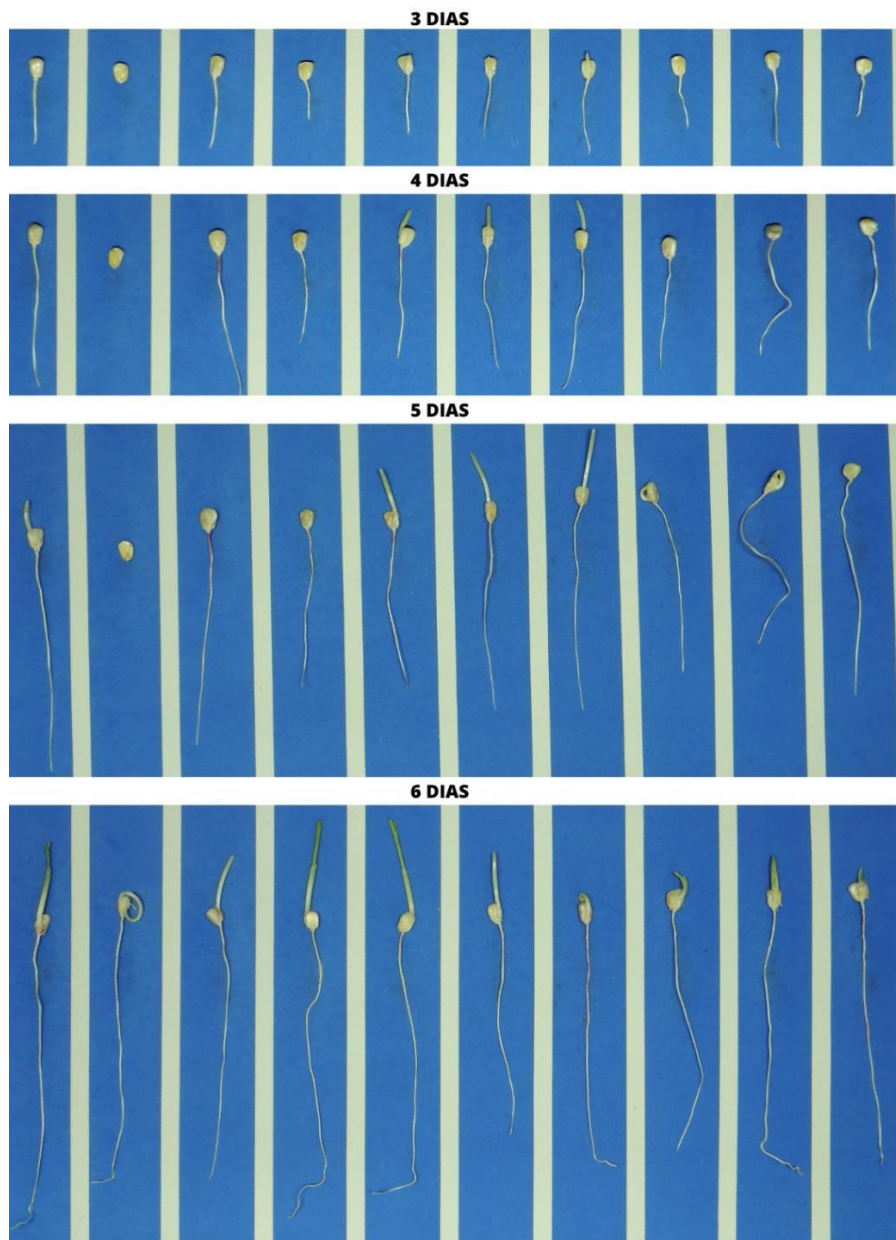


Figura 6. Plântulas de milho-doce, cv. Doce Cristal, aos três, quatro, cinco e seis dias após semeadura.

4.1.5 Ensaio IV –Espectroscopia no infravermelho próximo – NIR e sua relação com o potencial fisiológico das sementes

Espectroscopia no infravermelho próximo – NIR

Os valores de germinação obtidos com as sementes submetidas à espectroscopia do FT-NIR para validação da técnica mostram que houve diferença significativa entre os lotes de sementes de milho-doce. Os lotes 2 e 5 tiveram maior germinação que o lote 6, e ambos os lotes não diferiram significativamente dos lotes 1, 3 e 4. Foram observadas, portanto, três classes de lotes quanto ao potencial fisiológico (Figura 7). Nesse estudo, foi realizado a caracterização dos lotes em relação ao potencial fisiológico pelo teste de germinação, buscando associar estes resultados aos obtidos por meio da espectroscopia no infravermelho próximo FT-NIR.

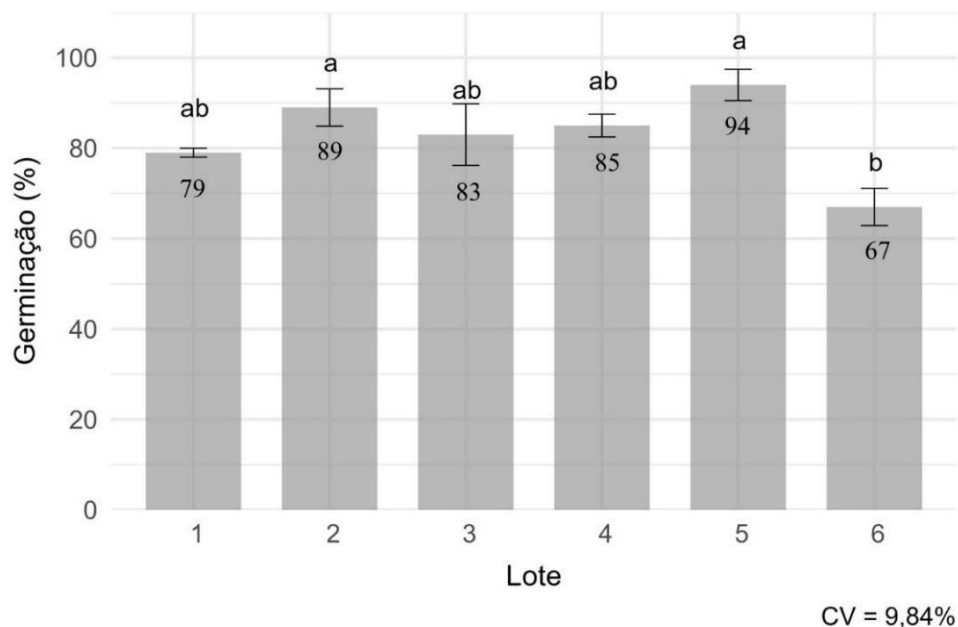


Figura 7. Germinação de sementes de diferentes lotes de milho-doce cv. Doce Cristal. Médias seguidas de letras minúsculas distintas diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A Figura 8a ilustra os 1200 dados resultantes dos espectros brutos de absorção obtidos pelo FT NIR para os diferentes lotes de sementes de milho-doce, classificados quanto à porcentagem de germinação. Após o pré-processamento dos dados foram obtidos os espectros brutos e médios dos seis lotes, respectivamente ilustrados nas Figuras 8a e 8b. Pode-se observar também o comportamento dos espectros com a primeira derivada pelo filtro Savitzky-Golay (Figura 8c) bem como a média dos espectros após a aplicação da primeira derivada do Savitzky-Golay (Figura 8d).

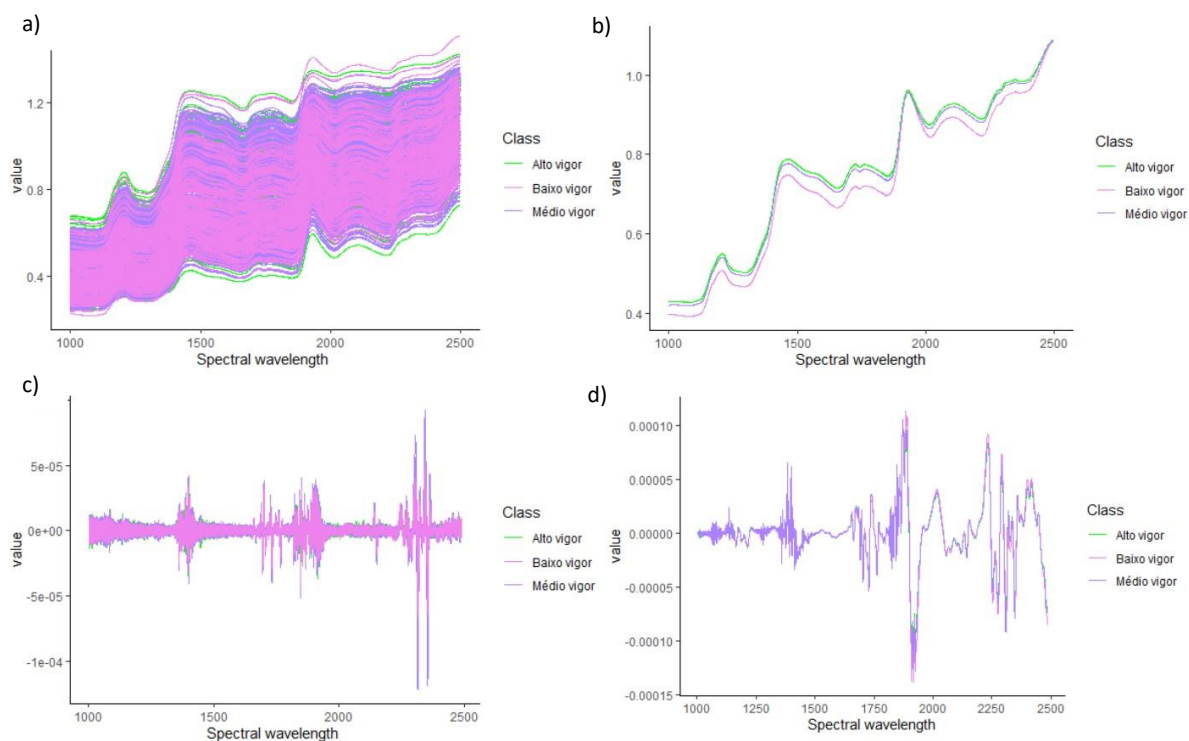


Figura 8. Espectros FT-NIR de diferentes lotes de sementes de milho-doce cv. Doce Cristal. Espectro pré-processado das classes de sementes (a), espectros médios pré-processados das classes de sementes (b), espectros das sementes transformadas pela derivada de primeira ordem do Savitzky-Golay (c) e a média das classes transformadas pela derivada de primeira ordem do Savitzky-Golay (d).

Através da análise de componentes principais (PCA) dos espectros pré-processados, foi possível explicar 96,7% das variações espectrais (Figura 9a), não sendo possível observar diferença entre os lotes conforme as pontuações que compreendem a análise de componentes principais, pois ficaram sobrepostas e agrupados em um mesmo ponto. A PCA a partir da primeira derivada do Savitzky-Golay (Figura 9b) explicou 49,7% das variações espectrais, também não sendo possível observar muito bem a diferença entre os lotes estudados. Com isso, os resultados demonstraram que a PCA dos espectros NIR não foram eficientes ao ponto de identificar qualquer influência nas diferentes classes de sementes quanto ao potencial fisiológico. Mesmo assim, é importante saber que outras transformações podem ser utilizadas para tentar obter informações que permitam identificar diferenças entre os lotes nesta etapa de análise exploratória. Resultados semelhantes

foram encontrados por (LIMÃO, 2022) com sementes de lentilha e Ribeiro et al. (2020) em sementes de grão-de-bico.

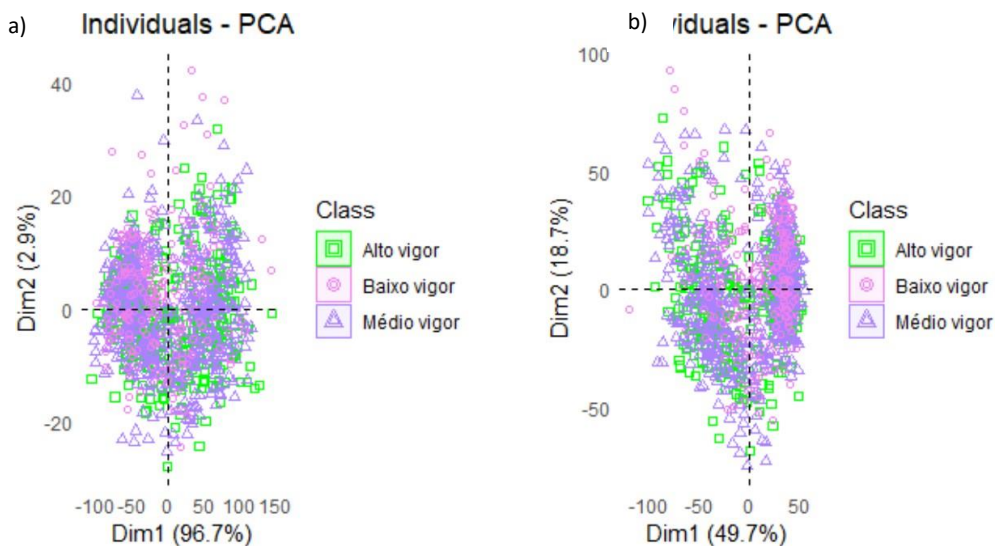


Figura 9. Análise de componentes principais usando os dados FT-NIR de sementes de diferentes lotes de milho-doce cv. Doce Cristal. Dados dos espectros pré-processados (a) e espectros transformados pela primeira derivada do Savitzky-Golay (b).

As absorções moleculares que ocorrem na espectroscopia NIR não são muito intensas, podendo haver sobreposições, tornando as bandas largas com baixa sensibilidade. Assim, pode haver certa dificuldade de interpretação dos espectros NIR, sendo necessária a aplicação complementar de métodos de estatística multivariada para extrair as informações analíticas (MAYRINCK, 2018). Para fazer a diferenciação das classes de sementes de milho doce dos diferentes lotes de acordo com o potencial fisiológico, foram desenvolvidos e comparados dois modelos baseados em PLS-DA. A análise discriminante de mínimos quadrados parciais (PLS-DA) é um método de classificação amplamente utilizado em ciências de alimentos (RODIONOVA E POMER, 2020). É um método de classificação linear que combina a discriminação de uma técnica de classificação com as propriedades da regressão de mínimos quadrados parciais (PLS), usando a categoria de classificação como valor químico para construir um modelo PLS (XIA et al., 2019). Para fins de classificação de amostras, o método PLS-DA tem sido utilizado com sucesso a partir de um modelo capaz de separar conjuntos em classes (MARQUETTI et al., 2015; MONFERRERE et al., 2012).

O primeiro modelo baseado nos dados espectrais, após a aplicação da técnica de pré-processamento de auto escalonamento, resultou em 3112 preditores de bandas padronizadas dos espectros do infravermelho próximo, alcançando acurácia de 0,679 para o treinamento e 0,689 para validação independente. Os espectros pré-processados mais o escalonamento resultaram em taxa de acerto para as classes de sementes com alto, médio e baixo potencial fisiológico de quase 100%, tanto no treinamento como na validação (Tabela 6).

Tabela 6. Número de acertos individuais por classe, e métricas obtidas com os modelos de classificação PLS-DA, usando os recursos FT-NIR em sementes de diferentes lotes de milho-cv. Doce Cristal.

Classes	Escalonamento automático		Escalonamento automático + Derivada de primeira ordem	
	Conjunto de treinamento (n= 280, 420, 140)	Conjunto de validação (n= 120, 180, 60)	Conjunto de Treinamento (n= 280, 420, 140)	Conjunto de validação (n= 120, 180, 60)
	Acertos (Total)		Acertos (total)	
Alto vigor	279 (280)	119 (120)	279 (280)	119 (120)
Médio vigor	420 (420)	179 (180)	420 (420)	179 (180)
Baixo vigor	140 (140)	60 (60)	140 (140)	60 (60)
Acurácia	0.6794	0.6899	0.9166	0.824
Kappa	0.445	0.4598	0.8632	0.7066
Sensibilidade	0.6982	0.7022	0.9280	0.8414
Especificidade	0.7965	0.800	0.9509	0.8915

Observando o segundo, modelo que suavizou os espectros a partir da derivada de primeira ordem pelo filtro Savitzky-Golay, na qual fez-se a correção de espalhamento multiplicativo nestes dados para tentar melhorar a performance do modelo, houve possibilidade de se obter melhores resultados de acurácia para o treinamento (0,916) e validação independente (0,824), quando comparados aos obtidos com o modelo de escalonamento automático. A porcentagem de acertos para as três classes de potencial fisiológico também foi alta (quase 100%), tanto para o conjunto de treinamento como validação. Nesse modelo, outras métricas de avaliação que também são importantes tiveram adequados valores de Kappa, superiores a 85% para o conjunto de treinamento e de 70% para validação. Além disto, obteve-se, sensibilidade de 92% e 84%, e especificidade de

95% e 89% para treinamento e validação, respectivamente (Tabela 6). Então, é possível confirmar que o segundo modelo de classificação baseado em PLS-DA a partir da primeira derivada, se mostrou mais eficiente para prever as classes de potencial fisiológico dos lotes de sementes de milho-doce. Na avaliação de desempenho dos modelos otimizados, temos os valores de sensibilidade e especificidade, em que quando se obtém 1,00 em ambos os valores para um modelo, esse é considerado como modelo perfeito (FORINA et al., 1991).

Apesar da ampla aplicabilidade da espectroscopia NIR, ela apresenta uma certa complexidade dos dados gerados. Tornando-se necessário a construção de modelos de calibração, que utilizam os espectros gerados e técnicas de referência. Essas técnicas podem ser baseadas em métodos multivariados, provenientes da quimiometria. Integrando-se a espectroscopia e a quimiometria, a estatística pode ser associada aos dados químicos, gerando dados importantes para análises diversas (MAYRINCK, 2018). Para a avaliação dos resultados obtidos, é mais viável utilizar métodos multivariados de análise, mais conhecidos como métodos quimiométricos. Estes, são provenientes de métodos matemáticos e estatísticos aplicados com o intuito de se extrair informações não triviais a partir de um conjunto de dados complexos (MARÇO, 2009; VALDERRAMA, 2009). Os dados espectrais geralmente contêm ruídos causados por desvio do instrumento e alterações do ambiente que não contribuem para análise da propriedade específica. Corrigindo os dados dos espectros brutos através de métodos de pré-processamento pode melhorar efetivamente a precisão do modelo.

O espectro contém informação relacionada aos grupos funcionais, e estas absorções apresentam-se com alto grau de sobreposição, havendo a necessidade da aplicação de métodos quimiométricos para interpretação dos resultados (MA et al., 2017). Depois de se construir o modelo de calibração, este deve ser validado. A validação de um método analítico é realizada a fim de se garantir uma metodologia exata, que possa ser reproduzida, comprovando que o método proposto contempla as normas estabelecidas por agências reguladoras e órgãos de fiscalização nacionais e internacionais (SANTOS, 2017).

Os primeiros dois componentes da segunda função discriminante linear para os espectros FT-NIR desenvolvidos após a suavização da segunda derivada pelo filtro Savitzky-Golay explicaram 68,4% da variabilidade dos respectivos dados (Figura 10a). Os espectros suavizados pela primeira derivada do filtro Savitzky-Golay, trazem mais confiabilidade aos resultados ao resolver problemas de ruídos indesejados e sobreposição de sinais. Além disso, permitem melhorar as propriedades do

sinal e suprimir recursos espectrais indesejados que surgem devido a variações indesejadas e intrínsecas do instrumento e das amostras (RIBEIRO, 2020). Portanto, as análises multivariadas e a aplicação de técnicas de pré-processamento ajudam na redução dos ruídos e eficiência na escolha do modelo, extraindo assim resultados de classificação eficientes e precisos. Soares (2016), utilizando a espectroscopia no infravermelho próximo aliado à quimiometria, avaliou a eficiência de dois métodos de classificação, o SPA-LDA (Algoritmos das Projeções Sucessivas associado com o modelo de análise discriminante linear) e o PLS-DA, para classificação de sementes de algodão de quatro cultivares de alta qualidade genética. O autor obteve 96,91% de sementes classificadas corretamente na primeira validação. Para o método PLS-DA, pode-se notar resultados melhores para os ajustes determinados no presente trabalho.

A Figura 10b mostra a matriz de confusão em relação à eficiência e viabilidade dos modelos de classificação a partir de validação cruzada dos espectros FT-NIR por meio da primeira derivada Savitzky-Golay. A matriz de confusão mostra o quanto o modelo está acertando ou errando e cada linha da matriz representa as instâncias em classe real, e a coluna representa as instancias em classe prevista. A porcentagem de acertos para alto vigor foi de 80%, médio vigor 90% e baixo vigor 100%.

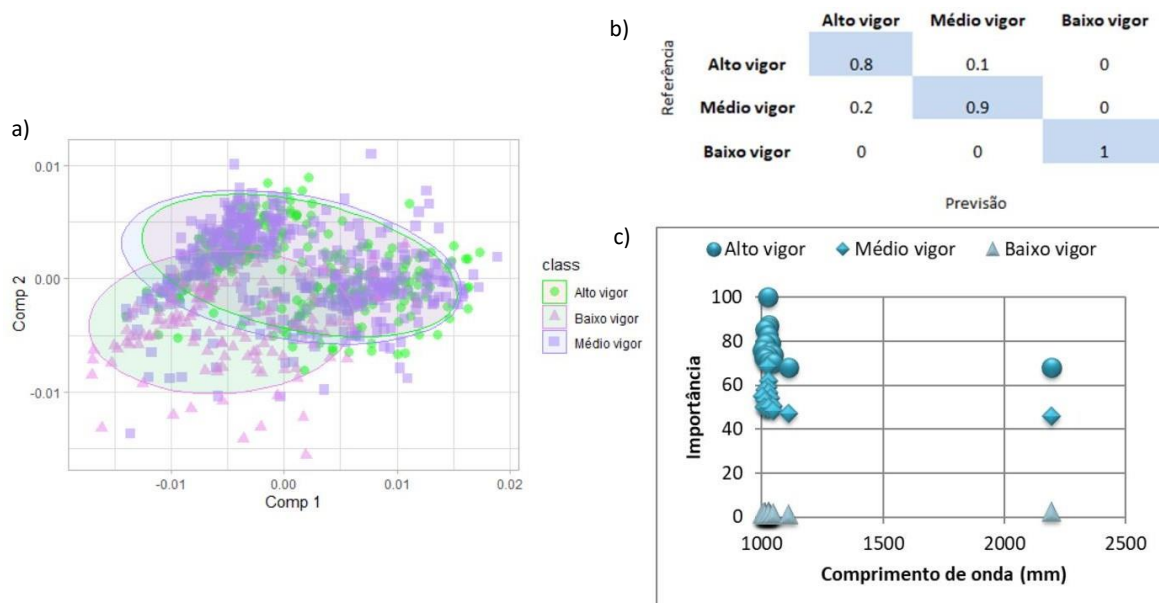


Figura 10. Gráfico de pontuação da análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) com os dois primeiros componentes discriminantes de sementes de milho-doce cv. Doce Cristal, com base nos espectros FT-NIR transformados pela primeira derivada Savitzky-Golay, as elipses mostram intervalos de confiança de 95% em cada classe de sementes (a), matriz de confusão

das diferentes classes (b), boxplot dos 20 comprimentos de onda que mais contribuíram para o desenvolvimento do modelo (c).

Na figura 10c, observa-se os comprimentos de onda que mais contribuíram para o desenvolvimento do modelo de PLS-DA e o grau de importância que cada comprimento tem para classificação do vigor das sementes, destacando-se a faixa de 1000 nm e 2275 nm (Fig. 8c).

A partir da penetração da radiação infravermelha na amostra, ocorre interação com as ligações dos constituintes, essa interação possui características de oscilação e frequência específicas, assim pode ser medida nos modos de transmitância/refletância e posteriormente associadas com grupos funcionais presentes nas moléculas, tais como ligações (C-H), (O-H), (S-H) (N-H), que podem ser identificadas a partir de absorção molecular (PASQUINI, 2003; GUIMARÃES, 2016). As informações contidas na região entre 900 e 1.700 nm pode ser atribuída à região de primeiros sobretons das ligações C-H, N-H e O-H características das moléculas de açúcares que compõem o amido e a fibra bruta, ácidos graxos e proteínas presentes nas sementes de milho (OSBORNE; DOUGLAS, 1981).

Na faixa espectral, o maior pico de absorção em torno de 1000 nm é devido ao segundo sobreton de estiramento C-H e ao terceiro sobreton de estiramento N-H, representando os picos de absorção de água e lipídio. O pico em torno de 1200 nm corresponde ao segundo sobreton do alongamento C-H, que representa os picos de absorção característicos de carboidratos e lipídios. Isso indica que os dados espectrais coletados nas faixas espectrais contêm ricas informações relacionadas à composição nutricional das sementes de milho (WANG, et al., 2022). Os picos de 1000 nm representam as ligações harmônicas dos grupos funcionais do terceiro sobreton N-H e segundo sobreton C-H e possuem relação com o teor de proteínas existentes nas sementes (MUKASA et al., 2019; AMBROSE et al., 2016).

Na região de absorção de 2275 e 2500 nm é a combinação de absorção de bandas vibracionais O-H, C-H, N-H na qual são relacionadas com carboidratos e proteínas nas sementes. Diferenças das bandas de combinação C-H também foram encontradas em comprimentos de onda de 2310 nm, 2330 nm e 2350 nm, em sementes de milho super doce, o FT-NIR mostrou-se eficiente para avaliar a relação de carboidratos e proteínas na distinção de sementes viáveis e não viáveis de milho super doce (QIU et al., 2018). A técnica NIR pode ser usada para analisar o conteúdo dos principais componentes das sementes de milho, como proteínas, amidos e lipídios (PENG et al., 2017). O milho doce possui um alto teor de açúcar solúvel, vários aminoácidos, vitaminas, minerais e fibras

alimentares e menor teor de amido (AZIZ et al., 2019; YANG et al., 2018) podendo esses compostos serem associados com grupos funcionais presentes nas moléculas.

Com isso, evidencia que os espectros FT-NIR foram eficientes para detectar diferenças em compostos químicos presentes nas sementes de milho-doce, podendo ser uma alternativa para classificar lotes quanto ao potencial fisiológico. Assim, verifica-se que a predição e classificação de sementes quanto ao potencial fisiológico por meio da espectroscopia no infravermelho próximo possibilita um avanço tecnológico importante para o setor sementeiro, pois permite obter resultados de forma rápida, não-destrutiva e precisa sobre o desempenho dos lotes de sementes.

Pang et al., (2020) empregaram técnicas de aprendizado e imagens hiperespectrais para estimar a vitalidade das sementes de milho. No entanto, Morais (2018) não obteve êxito usando a técnica NIR para a identificação de lotes de sementes de milho com diferentes níveis de qualidade fisiológica. Entretanto, a técnica de espectroscopia de infravermelho próximo foi rápida e promissora para distinção de lotes de sementes de tabaco (BARBARA, 2016), permitiu prever a qualidade fisiológica de sementes de algodão (MAYRINCK, 2018), e juntamente com PLS-DA, agrupou os lotes de sementes de braquiária com modelos super ajustados, com valores acima de 75% de acertos (SILVA, 2019). Cui et al., (2020) adotaram imagem hiperespectral e método de regressão de dados multivariados para avaliar o vigor de sementes de milho-doce e Qiu et al., (2019) aplicaram a tecnologia NIR e quatro algoritmos de classificação em duas cultivares de milho doce com objetivo de definir o modelo de classificação adequado para ser incorporado em máquinas de classificação com intuito de selecionar sementes com alta pureza, os autores obtiveram resultados satisfatórios utilizando um método rápido, econômico e não destrutivo para garantir a pureza das sementes.

4.2 CULTIVAR SUPERDOCE (BR-400)

4.2.1 Caracterização da qualidade inicial dos lotes

Os resultados referentes à caracterização inicial da qualidade fisiológica dos lotes se encontram na Tabela 7. O grau de umidade inicial das sementes variou de 11,6 a 12,9%. Variações de 3 a 4 pontos percentuais entre as amostras são consideradas toleráveis e garantem a uniformidade necessária para a realização dos testes de avaliação da qualidade fisiológica das sementes (MARCOS-FILHO, 2015).

A germinação das sementes dos lotes 1 e 3 foi superior ao do lote 4. Já os valores obtidos para os lotes 2 e 5 não diferiram dos demais lotes (Tabela 7). O teste padrão de germinação é conduzido em condições ideais, maximizando o potencial fisiológico das sementes. Porém, este resultado nem sempre corresponde aos de emergência de plântulas em campo, onde as condições ambientais nem sempre são favoráveis (BHERING et al., 2000), indicando assim, a necessidade de complementação das informações sobre o potencial fisiológico das sementes com a utilização de testes de vigor (BARBIERI et al., 2012).

Pelo teste de precocidade de emissão da raiz primária, apenas o lote 4 foi inferior ao demais, enquanto pela primeira contagem de germinação não foi possível detectar diferenças significativas entre os lotes, ou seja, não houve diferença entre os lotes quanto à velocidade de germinação. Conforme comenta Krzyzanowski et al. (2020) esse teste baseia-se no princípio de que as amostras que apresentam maior porcentagem de plântulas normais na primeira contagem são originadas de sementes mais vigorosas, porque a germinação é mais rápida. Ao se utilizar um teste de estresse como o de frio, os lotes 1, 3 tiveram os melhores desempenhos em relação ao lote 4, que foi identificado como o lote de menor vigor. O lote 5 ficou numa posição intermediária e o lote 2 não diferiu nem do lote 5 e nem do pior lote (Tabela 7).

Tabela 7. Grau de umidade (GU), germinação (G), emissão da raiz primária (ERP), primeira contagem de germinação (PC), teste de frio (TF), emergência (E) e índice de velocidade de emergência (IVE) dos lotes de sementes de milho-doce cv. Superdoce.

Lote	GU (%)	G (%)	ERP (%)	PC (%)	TF (%)	E (%)	IVE (índice)
Superdoce							
1	11,6	97 a	98 a	84 a	90 a	98 a	6,04 a
2	12,0	92 ab	97 a	85 a	82 bc	92 ab	5,57 ab
3	12,8	96 a	98 a	86 a	89 a	97 ab	5,96 a
4	12,5	88 b	93 b	83 a	78 c	91 b	5,37 b
5	12,9	92 ab	99 a	82 a	83 b	95 ab	5,76 ab
F	-	5,07*	8,45*	4,32 ^{ns}	17,77*	3,93*	5,89*
CV (%)	-	3,22	1,53	4,90	2,92	3,30	3,92

*, ^{ns} = significativo e não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; F = valor de F calculado; CV = coeficiente de variação. Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Com relação à porcentagem de emergência de plântulas (E), apenas o lote 1 foi superior ao lote 4, e ambos os lotes não diferiram dos demais (lotes 2, 3 e 5) que foram significativamente

semelhantes entre si. Para o índice de velocidade de emergência (IVE) os lotes 1 e 3 foram superiores ao lote 4 e não diferiram entre os lotes 2 e 5 (Tabela 7).

Assim, de modo geral, foi possível identificar os lotes 1 e 3 como superiores ao lote 4, ficando os lotes 2 e 5 em posição intermediária, principalmente pelos resultados do teste de germinação, de frio e IVE (Tabela 7).

As sementes de milho superdoce naturalmente possuem baixo potencial fisiológico como consequência de uma série de características físico-químicas e fisiológicas intrínsecas desta espécie, destacadas na literatura (DOUGLAS et al., 1993; SILVA, 1994). Verifica-se que a germinação das sementes de todos os lotes foi alta, variando de 88 a 97%, valores estes acima do padrão mínimo estabelecido para comercialização de sementes de milho superdoce no Brasil que é de 60% conforme Instrução Normativa nº. 45 - 17/09 (Brasil, 2013).

De modo geral, em todos os testes, verificou-se menor potencial fisiológico para as sementes do lote 4, exceto para o teste de primeira contagem em que não houve diferença significativa entre os lotes. Verifica-se que o lote 1 esteve entre os de melhor desempenho fisiológico em todos os testes, seguido pelo lote 3. Houve algumas variações quando aos lotes de médio vigor, dependendo do princípio do teste (Tabela 7). Conforme comentado acima, cada teste tem como base um ou mais aspectos relacionados ao desempenho das sementes, que pode ser, velocidade de germinação, crescimento de plântulas, tolerância a estresses, dentre outros. Desta forma, para uma avaliação segura do vigor deve-se considerar a análise conjunta dos resultados de mais de um teste, ou seja, pelo menos dois ou três testes, segundo Marcos-Filho (2020).

4.2.2 Ensaio I - Adequação do teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico das sementes de milho superdoce

Na tabela 8 pode-se observar o teor de água das sementes de cada lote após diferentes períodos de envelhecimento acelerado pelo método tradicional e com solução salina. Pelo método tradicional (100% UR) ocorreu aumento do grau de umidade das sementes com o aumento do período de envelhecimento, com maiores valores no período de 96 h (Tabela 8). Quando se compara com o teor de água das sementes após o envelhecimento pelo método com solução salina saturada, é possível notar que os valores obtidos nos diferentes períodos foram inferiores ao método tradicional, o que pode ser explicado pela menor umidade relativa de 76%. Este método foi desenvolvido para sementes pequenas como hortaliças e ornamentais (JIANHUA E MCDONALD,

1996), para que o processo de absorção de água pelas sementes durante o teste fosse mais lento, resultando em deterioração menos acentuada com efeitos menos drásticos aos verificados pelo método tradicional. É importante ressaltar que a umidade relativa e a temperatura são os dois principais fatores ambientais que afetam diretamente a deterioração das sementes (RAJJOU et al., 2008).

Tabela 8: Teor de água (%) obtidos após os períodos de envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl em lotes de sementes de milho-doce cv. Superdoce.

Lote	Umidade inicial (%)	Tradicional (100% UR)			Solução de NaCl (76% UR)		
		48 h	72 h	96 h	48 h	72 h	96 h
Superdoce							
1	11,6	16,3	18,0	21,8	11,4	12,0	10,4
2	12,0	16,2	21,9	20,8	15,0	11,2	11,4
3	12,8	16,8	20,3	21,0	12,4	11,0	11,9
4	12,5	17,5	19,1	19,2	12,5	11,9	11,2
5	12,9	18,7	20,0	23,6	12,4	12,1	11,4

De modo geral, o envelhecimento acelerado pelo método tradicional (100% UR) por 48 e 72 h permitiu identificar os lotes 1 e 3 como superiores ao lote 4. Observa-se que os lotes 2 e 5 apresentaram-se como lotes de médio vigor. Já com 96 h, os lotes 1 e 3 foram mais vigorosos que os demais que não diferiram entre si (Tabela 9). Assim, pode-se observar que pelo método tradicional a 42° C foi possível a classificação mais nítida dos lotes quanto ao vigor nos períodos de 48 e 72 h em relação ao de 96 h, conforme também observado para a cv. Doce Cristal (tabela 3).

Tabela 9. Germinação (%) de lotes de sementes de milho-doce cv. Superdoce, após diferentes tempos de envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl.

Lote	Tradicional (100% UR)			Solução de NaCl (76% UR)		
	48 h	72 h	96 h	48 h	72 h	96 h
Superdoce						
1	81 aA	81 aA	68 aB	87 aA	86 aA	80 aA
2	75 abA	57 bcB	52 bB	79 abA	83 aA	69 bA
3	82 aA	80 aA	67 aB	87 aA	85 aA	80 aA
4	64 cB	52 cB	43 bB	77 bA	63 bA	66 bA
5	72 bcB	63 bB	52 bB	82 abA	81 aA	72 abA
CV (%)	7,06					

Médias seguidas pelas mesmas letras, minúsculas na coluna, e letras maiúsculas na linha, comparando os métodos em cada tempo não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Ao se relacionar estes resultados com os da Tabela 7, observa-se que houve coerência entre os resultados de envelhecimento tradicional por 48 e 72 h com os obtidos nos testes de germinação, frio e emergência de plântulas, principalmente quanto aos melhores e piores lotes. Para milho-doce, a temperatura de 45 °C pelo método tradicional por um período de 24 h possibilitou melhor diferenciação dos lotes em diferentes níveis de qualidade (SANTOS et al., 2002). Contudo, trata-se de uma temperatura relativamente alta e que pode contribuir para o desenvolvimento acelerado de microrganismos no decorrer do teste, dificultando a interpretação dos resultados. Um dos problemas que têm sido observados nestas sementes é a grande propensão ao ataque de fungos. Zucarelli et al. (2014), em estudo sobre classificação de sementes de milho superdoce BR-402 pelo tamanho, observaram alta incidência de fungos, nas sementes principalmente após o teste de envelhecimento acelerado conduzido a 42°C e 100% UR por 72 h.

Pelo método alternativo com NaCl (76% UR) com 48 h, os lotes 1 e 3 foram identificados como de maior vigor em relação ao lote 4, o de menor vigor (Tabela 9). Contudo, estes lotes não diferiram dos lotes 2 e 5. Observa-se neste mesmo período no método com 100% UR que a classificação dos lotes quanto ao vigor foi mais nítida. Com 72 h de envelhecimento não se obteve separação adequada dos lotes quanto ao vigor, uma vez que os lotes 1, 2, 3 e 5 não diferiram entre si e foram superiores ao lote 4. Também com 96 h, observou-se melhor desempenho para os lotes 1 e 3 em comparação com os lotes 2 e 4, enquanto o lote 5 não diferiu dos demais. Nos testes empregados para caracterização da qualidade inicial das sementes (Tabela 7), o lote 2 sempre esteve em posição intermediária, se igualando tanto aos melhores como ao pior lote, mas nunca isolado junto ao lote de pior desempenho. Assim, pode-se afirmar que o método alternativo para sementes desta cultivar não se mostrou adequado para fornecer informações seguras sobre o vigor dos lotes.

Pelo método de envelhecimento acelerado com solução salina saturada, onde a umidade relativa é menor (76%) em relação ao método tradicional, o estresse é menor. Verifica-se, de modo geral, que os valores de germinação após o envelhecimento obtidos pelo método alternativo foram maiores ou iguais aos obtidos com o método tradicional (Tabela 9), principalmente nos períodos de 72 e 96 h. No teste com UR de 100%, apenas os valores obtidos para os lotes 1, 2 e 3 com 48 h

e lotes 1 e 3 com 72 h não foram inferiores aos obtidos com 76% UR (Tabela 9). Ao se comparar os dois métodos de envelhecimento acelerado, é possível observar que o envelhecimento com solução salina saturada (76% UR) resultou em menor absorção de água pelas sementes (Tabela 8), o que refletiu em menor deterioração. Isso pode ser observado pelos maiores valores de germinação após envelhecimento quando comparados com aqueles obtidos no envelhecimento acelerado tradicional (100% UR).

Na figura 11, que compara os períodos de envelhecimento para cada lote e método, observa-se, em geral, que menores valores foram obtidos no maior período, ou seja, 96 h para todos os lotes, pelo método tradicional. Já pelo método alternativo, nem sempre houve diferença no vigor dos lotes com o aumento do período de envelhecimento. Para os lotes 1 e 3, de melhor desempenho, não houve efeito dos períodos de envelhecimento.

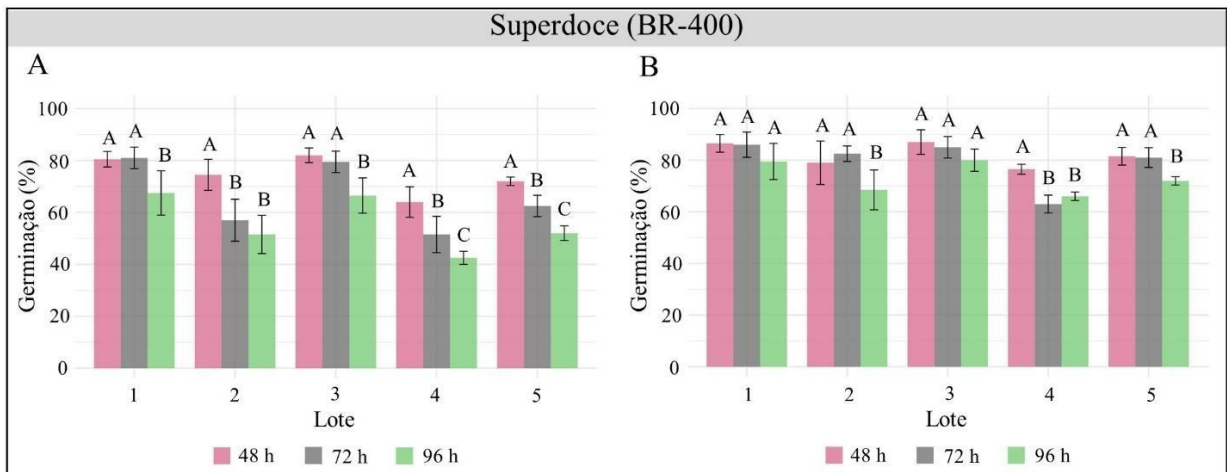


Figura 11. Germinação dos lotes de sementes de milho-doce cv. superdoce após o envelhecimento acelerado tradicional (A) e em solução saturada de NaCl (B) por diferentes períodos. Médias seguidas pelas mesmas letras, comparando períodos dentro de lote e métodos, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A maior sensibilidade das sementes de milho-doce devido à espessura do pericarpo e composição química, as torna mais suscetíveis ao estresse causado pelo tempo de exposição, favorecendo sua deterioração (MARINHO et al., 2021). Segundo Oliveira et al. (2007) os elevados teores de açúcares solúveis e baixo teor de reservas no endosperma das sementes de milho-doce, associados à presença de pericarpo tenro, contribui para que apresentem rápida perda de viabilidade, acarretando a baixa uniformidade na emergência de plântulas.

A análise de componentes principais na Figura 12 explica 93,4% da variabilidade total dos dados, e possibilita observar a separação dos lotes quanto ao vigor pelo teste de envelhecimento

acelerado e relacionar o com os demais testes de vigor. Os lotes 1 e 3 localizados nos escores positivos do PC1 estão correlacionados com os testes de vigor e germinação, sendo estes considerados os lotes de melhor desempenho fisiológico. Os lotes 2 e 5 foram considerados intermediários e o lote 4, que está mais distante dos vetores, é considerado o lote de qualidade inferior aos demais.

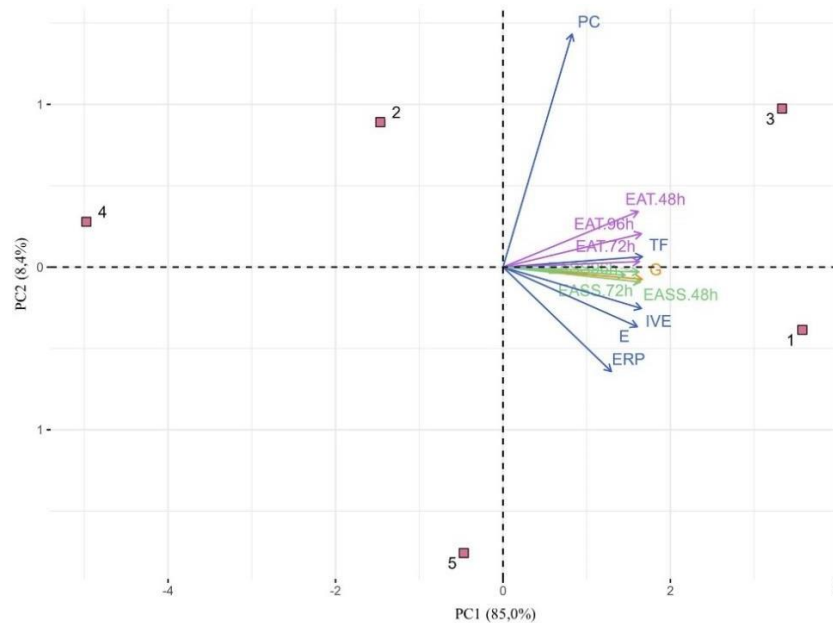


Figura 12. Análise de componentes principais (PCA) das variáveis germinação (G), emissão de raiz primária (ERP) primeira contagem de germinação (PC), teste de frio (TF), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE) e os diferentes procedimentos do teste de envelhecimento acelerado realizados em sementes de milho-doce cv. Superdoce.

4.2.3 Ensaio II - Adequação do teste condutividade elétrica para avaliação do potencial fisiológico das sementes de milho superdoce

Houve diferença significativa entre a condutividade elétrica dos lotes em todos os períodos de embebição. No período de 4 h, foi possível identificar os lotes 1 e 3 como superiores aos lotes 2 e 4 (Tabela 10).

Nos períodos de 8, 12 e 16 h (Tabela 10), os resultados foram similares, com os lotes 2 e 4 não diferindo entre si apresentando valores de condutividade elétrica superiores aos demais lotes indicando menor potencial fisiológico e maior desestruturação das membranas celulares. No período de 16 h destaca-se que os lotes 1 e 3 foram superiores ao lote 5, o que não havia sido

constatado com 8 e 12 h. Já após 24 e 48 h de embebição, embora os resultados tenham sido similares aos de 16 h, merece destaque a separação dos lotes de pior desempenho, com o lote 4 sendo inferior ao lote 2, o que até então não havia sido constatado nos demais períodos estudados.

Verifica-se que pelo teste de condutividade elétrica foi possível classificar os lotes em níveis de vigor, obtendo-se um nível de estratificação ainda mais detalhado do que os obtidos nos testes utilizados para a caracterização da qualidade inicial dos lotes (Tabela 7), corroborando especialmente os resultados dos testes de germinação, teste de frio, emergência de plântulas e IVE, principalmente quanto aos lotes de melhor e pior desempenho. Houve coerência também entre os resultados de condutividade elétrica e os do teste de envelhecimento acelerado, principalmente quando se utilizou o método tradicional (100% UR) por 72 h.

Tabela 10. Condutividade elétrica ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$) de diferentes lotes de sementes de milho-doce cv. Superdoce em diferentes períodos de embebição.

Lote	Período de embebição (h)					
	4	8	12	16	24	48
Superdoce						
1	11,73 c	14,44 b	17,30 b	19,53 c	23,74 d	27,45 d
2	16,58 a	23,71 a	28,12 a	33,27 a	40,10 b	49,61 b
3	11,37 c	14,91 b	16,49 b	18,67 c	22,26 d	27,70 d
4	15,39 ab	22,97 a	29,77 a	36,11 a	44,38 a	58,92 a
5	12,54 bc	16,48 b	18,38 b	26,76 b	30,74 c	38,57 c
CV (%)	6,16					

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

Ainda na figura 13, observa-se que com o decorrer da embebição houve aumento da condutividade elétrica de todos os lotes. Nos períodos iniciais de embebição, 4, 8 e 12 horas, observa-se que houve um agrupamento dos lotes em praticamente dois níveis de vigor. O melhor desempenho para os lotes 1 e 3 foi mantido em todos os períodos de avaliação. Contudo, com o decorrer da embebição as diferenças entre os lotes foram ficando mais evidentes, especialmente para os lotes de pior desempenho cuja lixiviação aumentou significativamente quando comparados aos lotes mais vigorosos (1 e 3). Nota-se que a partir de 24 h a diferença entre os lotes de menor vigor foi mais nítida, indicando menor velocidade de reorganização do sistema de membranas para as sementes do lote 4 em relação ao lote 2. Membranas mal estruturadas e desorganizadas estão associadas ao processo de deterioração e, portanto, à maior lixiviação de exsudatos é verificada em lotes de sementes de menor vigor (FERREIRA et al., 2016; VIEIRA e MARCOS-FILHO, 2020).

A variabilidade na permeabilidade do envoltório das sementes de diferentes espécies ou cultivares pode determinar que diferentes materiais possam ter picos de lixiviação de eletrólitos após diferentes períodos de embebição. Por isto é importante conhecer o padrão de lixiviação ao longo do tempo para se determinar a metodologia mais adequada para a condução do teste para determinada espécie (VIEIRA E MARCOS-FILHO, 2020). A lixiviação é mais intensa no início da embebição pelo fato de sementes secas terem a membranas ainda desorganizadas e decresce gradativamente à medida que a integridade e reorganização vai sendo readquirida com a embebição.

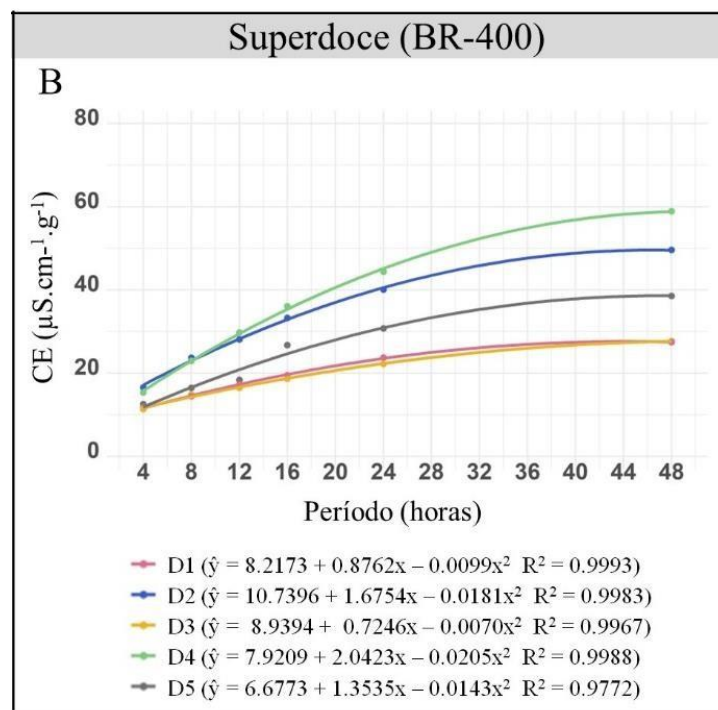


Figura 13. Condutividade elétrica de diferentes lotes de sementes de milho-doce cv. Superdoce (B), após embebição por 4, 8, 12, 16 e 24 horas em de água destilada.

Conforme estabelecido pela ISTA (2011), o tempo recomendado para a condução do teste de condutividade elétrica para as sementes da maioria das espécies é 24 h. Contudo, estudos têm indicado a possibilidade de se reduzir o tempo para a obtenção dos resultados mais rápidos para algumas espécies. Menezes et al. (2007) e Carvalho et al. (2009) verificaram a possibilidade da redução do período de embebição para 8 e 2 h, respectivamente, em sementes de aveia preta e soja. A redução do período de embebição de sementes de soja para 4 e 8 h permitiu a identificação de diferenças de vigor menos acentuadas entre os lotes. Para Dias e Marcos-Filho (1996) foi necessário um período de 24 h para informações mais detalhadas sobre o nível de vigor dos lotes.

Especificamente em milho doce, Parera et al. (1995) indicaram a utilização de volume de água de 25 ou 50 mL por um período de 24 h.

A partir da PCA é possível notar pelos scores negativos do PC1 que os lotes 1 e 3 estão diretamente relacionados com as variáveis de germinação e vigor referentes à caracterização inicial dos lotes, sendo a disposição deles no mesmo quadrante desses vetores, e o lote 5 apresentou desempenho intermediário. Entretanto, os lotes 2 e 4 encontram-se no sentido oposto, localizados na mesma direção dos vetores de condutividade elétrica situadas nos scores positivos do componente 1 e distantes dos vetores relacionados à qualidade fisiológica, indicando que são lotes de qualidade inferior aos demais (Figura 14).

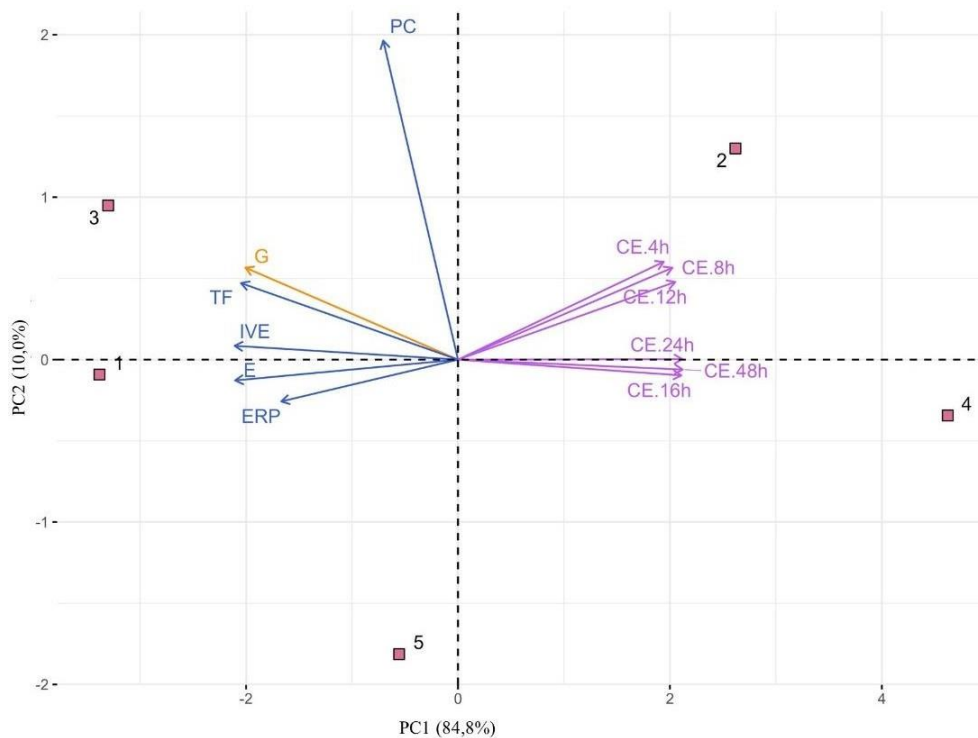


Figura 14. Análise de componentes principais (PCA) das variáveis germinação (G), emissão de raiz primária (ERP) primeira contagem de germinação (PC), teste de frio (TF), emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE) e os diferentes períodos do teste de condutividade elétrica realizados em sementes de milho-doce cv. Superdoce.

4.2.4 Ensaio IV – Análise computadorizada de plântulas pelo software SAPL® para avaliação do potencial fisiológico das sementes

Os resultados obtidos na análise computadorizada de plântulas pelo software SAPL® encontram-se na tabela 11. Houve diferença significativa no comprimento da parte aérea (CPA)

das plântulas dos diferentes lotes a partir do terceiro dia de germinação, destacando o lote 1 com maior CPA, mas não diferindo do lote 5. O lote 3 teve menor CPA, não diferindo dos lotes 2 e 4. Aos três dias após a semeadura, houve diferença entre os lotes para todas as variáveis analisadas, exceto para o índice de uniformidade (IU). Contudo, ao se comparar estes resultados de CPA, CR, CT, IC e IV com os dos demais testes de avaliação da qualidade fisiológica (Tabela 7), verifica-se que houve coerência apenas com relação ao lote 1, com melhor desempenho, sendo que o lote 3 também identificado nestes testes como significativamente igual ao lote 1, pelo SAPL foi similar ao lote 4, identificado como de pior desempenho.

Com quatro dias, os resultados para CPA foram semelhantes aos obtidos aos 3 dias, com pequenas variações. Já o CR e CT destacaram apenas o lote 1 como superior aos demais que não diferiram entre si (Tabela 11).

Para o CR no quinto dia os lotes 2 e 4 tiveram valores inferiores comparado aos demais (Tabela 11). Essa classificação foi similar a obtida pelo teste de germinação e teste de frio (Tabela 7).

Tabela 11. Resultados médios de comprimento de parte aérea (CPA), comprimento radicular (CR), comprimento total (CT), índice de uniformidade (IU), índice de crescimento (IC) e índice de vigor (IV), obtidos pelo SAPL® na avaliação de cinco lotes de sementes de milho-doce cv. Superdoce, aos três, quatro, cinco e seis dias.

Lote	CPA	CR (mm.plântula ⁻¹)	CT	IU	IC Índices	IV
3 DIAS						
1	8,98 a	53,02 a	62,02 a	809,66 a	5108,2 a	3812,3 a
2	7,37 bc	50,23 ab	57,26 ab	835,68 a	4598,8 ab	3461,5 ab
3	7,07 c	48,38 ab	55,46 b	787,35 a	4425,5 ab	3334,0 ab
4	7,54 bc	45,84 b	55,18 b	765,47 a	4362,9 b	3169,5 b
5	8,31 ab	48,39 ab	57,22 ab	827,52 a	4499,1 ab	3394,9 ab
F	11,01*	3,17*	4,89*	2,13 ^{ns}	3,47*	3,51*
CV (%)	5,97	6,07	4,32	4,92	6,95	7,37
4 DIAS						
1	22,88 a	105,02 a	128,52 a	854,40 a	8898,2 a	7219,9 a
2	21,08 ab	88,16 b	108,66 b	821,74 ab	8250,8 abc	5792,4 bc
3	16,72 c	91,97 b	112,27 b	787,02 ab	8627,4 ab	6353,3 b
4	19,16 bc	85,67 b	104,58 b	766,03 b	7584,7 c	5605,5 c
5	17,79 bc	88,38 b	112,28 b	806,48 ab	7859,6 bc	5734,1 c
F	10,30*	11,83*	6,22*	3,85*	5,98*	25,33*
CV (%)	7,93	4,88	6,44	4,25	5,33	4,32
5 DIAS						
1	45,50 a	146,55 a	185,66 a	834,28 a	13645,6 a	9802,2 a

2	38,35 b	127,61 b	164,09 b	792,28 a	11850,6 b	8752,7 b
3	32,68 b	129,28 ab	161,96 b	801,18 a	11962,4 b	8829,4 ab
4	33,05 b	123,00 b	154,76 b	790,13 a	11388,2 b	8381,7 b
5	35,39 b	130,43 ab	165,03 b	792,56 a	12085,4 ab	8697,5 b
F	14,69*	4,65*	6,10*	0,448 ^{ns}	4,98*	5,73*
CV (%)	7,43	6,31	5,62	6,88	6,3	5,03
6 DIAS						
1	66,67 a	168,62 a	235,30 a	863,50 a	15843,4 a	11591,1 a
2	62,75 a	162,08 a	221,91 a	830,61 ab	15185,9 a	10545,5 b
3	53,97 b	168,17 a	223,71 a	855,29 ab	15692,0 a	11624,3 a
4	53,73 b	149,06 a	204,88 a	806,68 b	13953,5 a	10393,0 b
5	53,74 b	162,29 a	218,6 a	831,17 ab	15170,3 a	11023,3 ab
F	12,29*	2,79 ^{ns}	2,99 ^{ns}	3,35*	2,87 ^{ns}	12,3*
CV (%)	6,01	5,83	5,72	2,94	5,78	2,96

* = significativo pelo teste F a 5% de probabilidade; F = corresponde ao valor de F calculado; CV = coeficiente de variação. Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Os resultados obtidos para o índice de uniformidade (IU) no terceiro e quinto dia não diferiram entre si. Resultados semelhantes também foram encontrados por Medeiros e Pereira (2018), em que apenas o índice de uniformidade fornecido pelo SAPL® não foi eficaz em discriminar o vigor dos lotes de sementes de milho nem em reproduzir a ordem de classificação dos testes tradicionais utilizados na caracterização dos lotes, em que mantiveram uma taxa de crescimento uniforme dentro de um mesmo lote, o que pode ter levado a um baixo desempenho discriminatório pelo índice de uniformidade. Pinto et al. (2015) observaram que o índice de uniformidade calculado pelo software SAS® também não forneceu resultados satisfatórios para a classificação da qualidade fisiológica de sementes de milho.

No entanto, aos 4 e 6 dias após a semeadura o IU permitiu identificar o melhor desempenho o lote 1, mas não diferindo dos lotes 2, 3 e 5 e menor índice para o lote 4 (Tabela 11). Os resultados obtidos para IC e IV foram semelhantes aos obtidos aos 3 dias (Tabela 11). Esses resultados, de modo geral, foram semelhantes à classificação pelos caracterização inicial dos lotes, que identificaram os lotes 1 e 4 como os de maior vigor e menor vigor, respectivamente (Tabela 7).

Em síntese, pode-se afirmar que houve variação entre os parâmetros fornecidos pelo SAPL principalmente com relação aos lotes de médio vigor. Em geral, foi possível identificar o lote 1 como de melhor desempenho, não diferindo do lote 3, e lote 4 com pior desempenho, embora muitas vezes não diferindo do lote 5, principalmente pelo CR, IC e IV aos 3 dias, IU, IC e IV aos 4 dias, CR e IC aos 5 dias e IU e IV aos 6 dias. Esta classificação que também foi observada nos

testes empregados para avaliação da qualidade fisiológica inicial dos lotes (Tabela 7), especialmente nos testes de emergência e IVE. Os resultados obtidos pelo SAPL para esta cultivar não foram tão nítidos como os obtidos para a cv. Doce Cristal (Tabela 5).

O aprimoramento dos testes de vigor e a possibilidade de novos recursos computacionais para avaliação eficiente do potencial fisiológico das sementes tem despertado grande interesse da pesquisa e dos tecnologistas de sementes. Técnicas de análise de imagens associadas a testes de vigor de sementes aparecem como um importante e potencial método a ser utilizado, oferecendo maior eficiência ao processo de avaliação envolvido (MEDEIROS et al., 2019). A automatização dessas análises traz significativas contribuições, e é um caminho promissor para a área de tecnologia de sementes. Além disso, o uso do SAPL® ainda possui muitas vantagens, como maior confiabilidade, maior rapidez na obtenção dos resultados, menos subjetividade, menor custo, além da possibilidade de arquivar imagens para análise posterior.

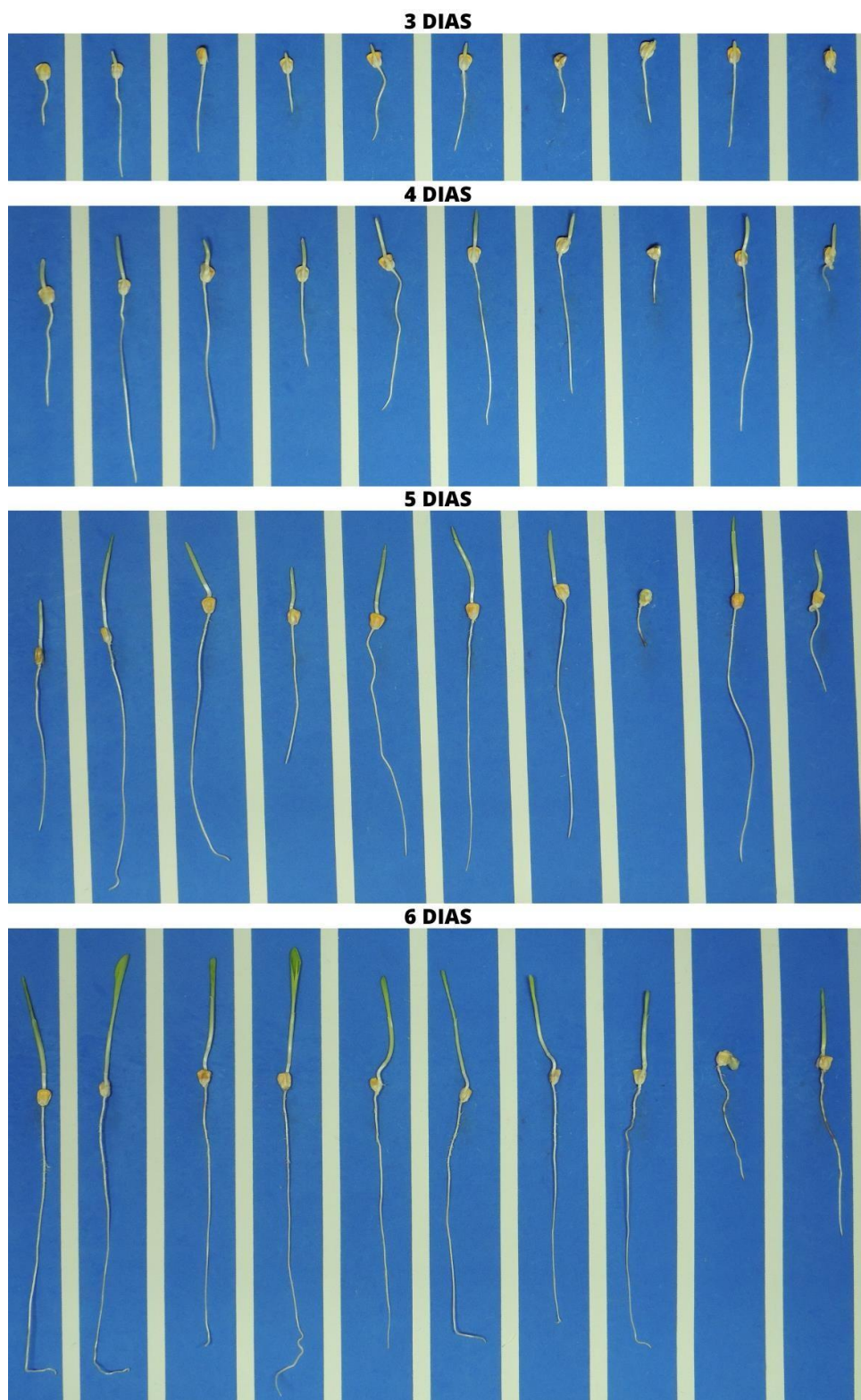


Figura 15. Plântulas de milho-doce, cv. Superdoce, aos três, quatro, cinco e seis dias após semeadura.

4.2.5 Ensaio IV – Espectroscopia no infravermelho próximo – NIR e sua relação com o potencial fisiológico das sementes

Espectroscopia no infravermelho próximo – NIR

Os valores de germinação obtidos com as sementes submetidas à espectroscopia do FT-NIR mostram que houve diferença significativa entre os lotes de sementes de milho-doce Superdoce cv. BR-400. Os lotes 1 e 3 tiveram maiores valores de germinação, mas não diferindo significativamente dos lotes 2 e 5. O lote 4 apresentou valor de germinação intermediário e o lote 6 foi inferior aos demais, sendo o único lote que ficou com percentagem mínima inferior a 60% de germinação para comercialização de milho Superdoce no Brasil. (Figura 16).

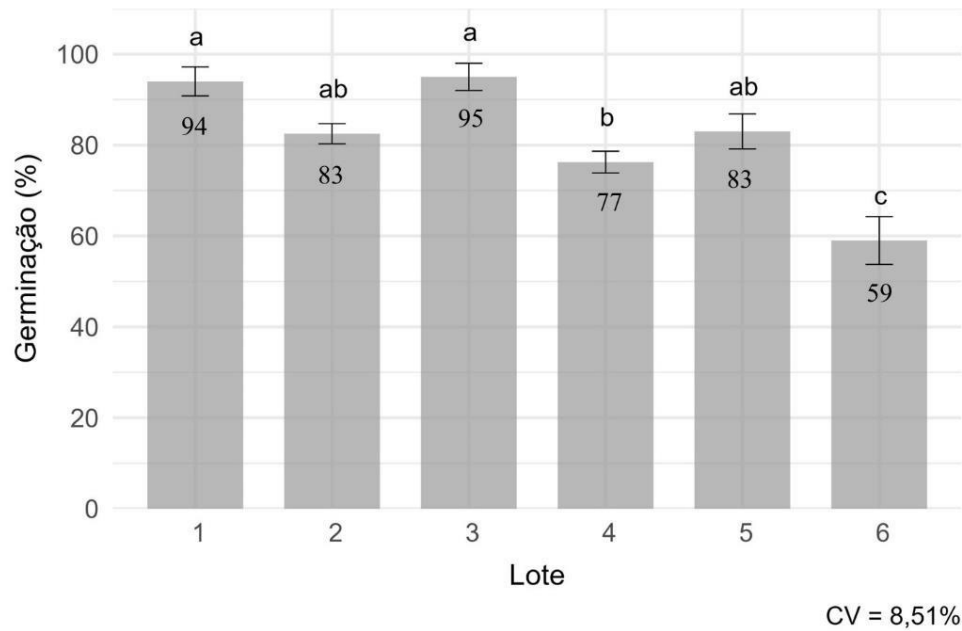


Figura 16. Germinação de sementes de diferentes lotes de milho-doce cv. Superdoce. Médias seguidas de letras minúsculas distintas diferem pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Muitos estudos têm utilizado métodos espectroscópicos para avaliação do potencial fisiológico de sementes. JIA et al. (2016), utilizou o NIR para diferenciar sementes de milho danificados por geadas e sementes não viáveis obtendo resultados eficientes. As pesquisas na área de sementes vêm trazendo resultados satisfatórios em avaliação da qualidade, como em soja, algodão, café e milho (BAZONI et al., 2017; GAITÁN et al., 2008; GUIMARÃES, 2016; AMBROSE et al., 2016).

A Figura 17a ilustra os 1200 dados resultantes dos espectros brutos de absorção obtidos pelo FT NIR após o pré-processamento dos diferentes lotes de sementes da cv. Superdoce classificados quanto à percentagem de germinação. E os espectros médios dos seis lotes, respectivamente (Figura 17a e 17b). Tem-se também o comportamento dos espectros com a primeira derivada pelo filtro Savitzky-Golay (Figura 17c) bem como a média dos espectros após a aplicação da primeira derivada do Savitzky-Golay (Figura 17d).

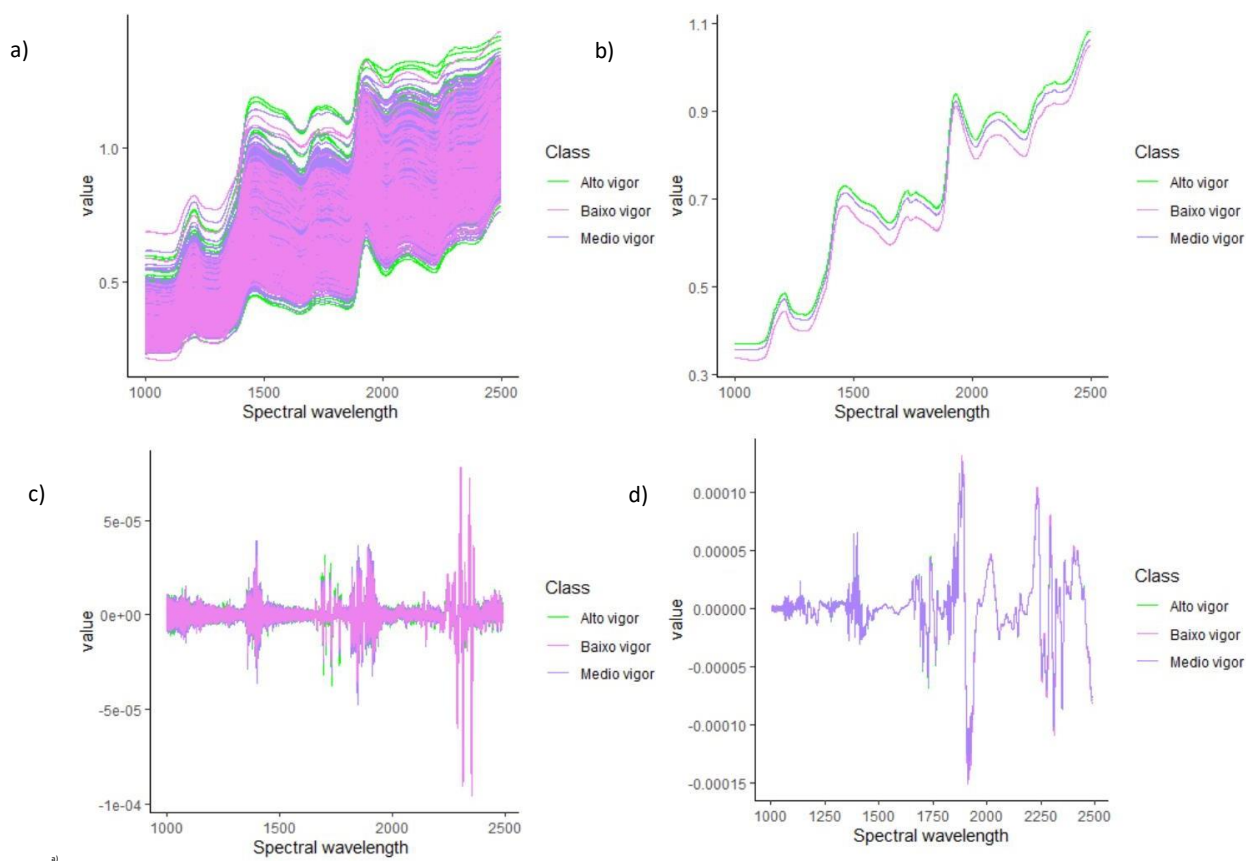


Figura 17. Espectros FT-NIR de diferentes lotes de sementes de milho-doce cv. superdoce. Espectro pré-processado das classes de sementes (a), espectros médios pré-processados das classes de sementes (b), espectros das sementes transformadas pela derivada de primeira ordem do Savitzky-Golay (c) e a média das classes transformadas pela derivada de primeira ordem do Savitzky-Golay (d).

A análise de componentes principais (PCA) dos espectros pré-processados explicaram 94,4% das variações espectrais. A PCA a partir da primeira derivada do Savitzky-Golay explica 48,1% das variações espectrais, não sendo possível observar diferença entre os lotes conforme as pontuações que compreendem a análise de componentes principais (Figura 18). Ou seja, não foi

possível observar distinção entre os lotes estudados, conforme também ocorreu para a cultivar Doce Cristal (Figura 9).

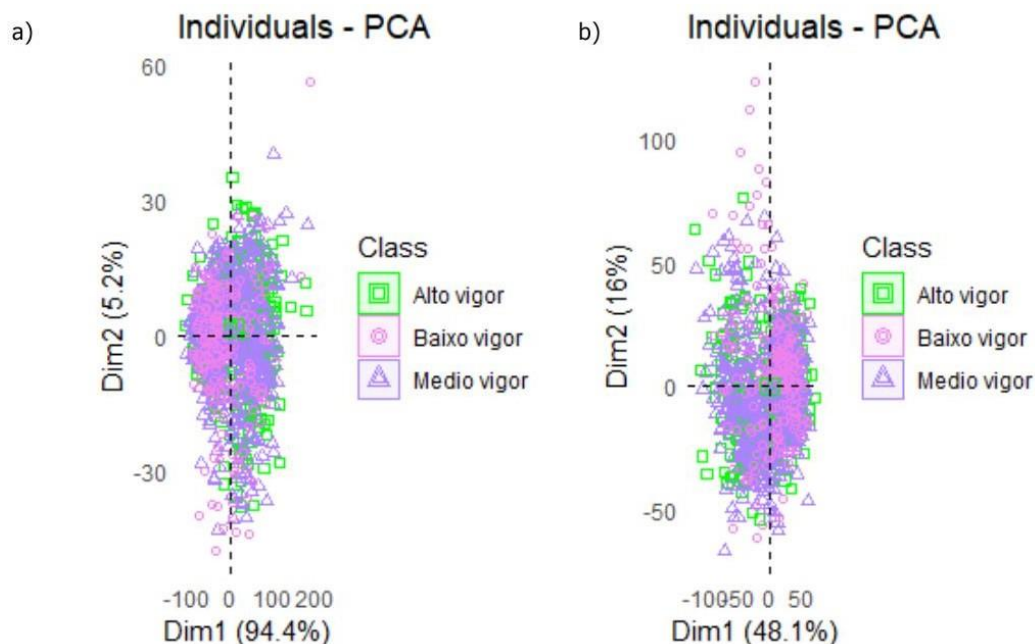


Figura 18. Análise de componentes principais usando os dados FT-NIR de sementes de diferentes lotes de milho-doce cv. Superdoce. Dados dos espectros pré-processados (a) e espectros transformados pela primeira derivada do Savitzky-Golay (b).

A espectroscopia no infravermelho próximo possibilita um avanço tecnológico de predição e classificação de sementes quanto ao seu potencial de forma eficiente, rápida e não-destrutiva. Além disso, instrumentos com foco em espectroscopia no infravermelho próximo permitem obter informações sobre a composição química de sementes e grãos (RIBEIRO et al., 2020).

Então para classificar as sementes da cv. Superdoce dos diferentes lotes de acordo com o seu potencial fisiológico e fazer sua diferenciação, também foram desenvolvidos e comparados dois modelos baseados em PLS-DA. O primeiro modelo baseado nos dados espectrais pré-processados e escalonamento automático, resultou em 3112 preditores de bandas padronizadas dos espectros do infravermelho próximo, alcançando-se acurácia de 0.7214 e 0.6964 para o treinamento e validação independente, respectivamente. Os espectros pré-processados mais o escalonamento resultaram em taxa de acerto para as classes de sementes com quase 100% para sementes de alto, médio e baixo potencial fisiológico, tanto no treinamento como na validação (Tabela 12).

Tabela 12. Número de acertos individuais por classe, e métricas obtidas com os modelos de classificação PLS-DA, usando os recursos FT-NIR em sementes de diferentes lotes de milho-doce cv. Superdoce.

Classes	Escalonamento automático		Derivada de primeira ordem + escalonamento automático	
	Conjunto de treinamento (n= 280, 420, 140)	Conjunto de validação (n= 120, 180, 60)	Conjunto de Treinamento (n= 280, 420, 140)	Conjunto de validação (n= 120, 180, 60)
	Acertos (Total)		Acertos (Total)	
Alto vigor	280 (280)	120 (120)	280 (280)	119 (120)
Médio vigor	420 (420)	179 (180)	420 (420)	179 (180)
Baixo vigor	140 (140)	60 (60)	140 (140)	60 (60)
Acurácia	0.7214	0.6964	0.8869	0.8078
Kappa	0.5328	0.4903	0.8149	0.6827
Sensibilidade	0.7527	0.7292	0.9055	0.8330
Especificidade	0.8301	0.8154	0.9339	0.8853

No segundo modelo, suavizando os espectros a partir da derivada de primeira ordem pelo filtro Savitzky-Golay, foram obtidos melhores resultados de acurácia para o treinamento (0,886) e validação independente (0,807) quando comparados aos obtidos com o modelo dos dados pré-processados mais escalonamento. Nesse modelo, a classe de sementes de alto, médio e baixo potencial fisiológico resultou em taxa de acerto de 100% para treinamento. Para validação, a classe de alto potencial fisiológico atingiu 100% de acertos e para médio e baixo potencial fisiológico quase 100% (Tabela 12).

No presente estudo, também foram obtidos resultados importantes acerca da confiabilidade e precisão dos modelos testados baseados no coeficiente Kappa. O primeiro modelo resultou nos menores coeficientes para o treinamento (0,5328) e validação independente (0,4903). No entanto, após a aplicação do segundo modelo, observamos resultados melhores sobre a aplicação da técnica, com coeficientes Kappa de 0,8149, 0,6827 para o treinamento e validação independente, respectivamente. Outras métricas de avaliação que também são consideradas importantes como sensibilidade e especificidade alcançou valores acima de 90% para conjunto de treinamento e valores acima de 80% para validação, respectivamente. Nesse sentido, foi possível confirmar o

emprego do modelo de classificação de PLS-DA a partir da primeira derivada como o mais eficiente para prever a classificação do potencial fisiológico de sementes de milho-doce cv. Superdoce (Tabela 12).

Como já citado no item 4.1.5, os espectros obtidos no infravermelho podem apresentar problemas de deformação da linha de base, variações no caminho óptico, ruídos, entre outros. Dessa forma, os pré-processamentos são aplicados para melhorar a eficiência dos modelos multivariados (BARBARA, 2016). A utilização de dados multivariados pode reduzir a quantidade de ruídos, dando maior precisão aos métodos e permitindo a determinação simultânea de várias características de uma amostra com um único sinal multivariado (KUMAR et al., 2014). Construindo o modelo, este pode ser aplicado a conjuntos de amostras, determinando alguma propriedade de interesse e posteriormente ser validado.

Os primeiros dois componentes da segunda função discriminante linear para os espectros FT-NIR desenvolvidos após a suavização da segunda derivada pelo filtro Savitzky-Golay explicaram 64,1% da variabilidade dos respectivos dados (Figura 19a). A matriz de confusão em relação à eficiência e viabilidade dos modelos de classificação a partir de validação cruzada dos espectros FT-NIR por meio da primeira derivada Savitzky-Golay, mostrou ótimas previsões para as classes de sementes de alto vigor com 70%, médio vigor 80%, e baixo vigor 100% (Figura 19b). Dentre os comprimentos de onda que mais contribuíram para o desenvolvimento do modelo de PLS-DA e o grau de importância que cada comprimento tem para classificação do potencial fisiológico das sementes, destacam-se a faixa de 1000 nm, 1100, 2000 e 2275 nm (Figura 19c).

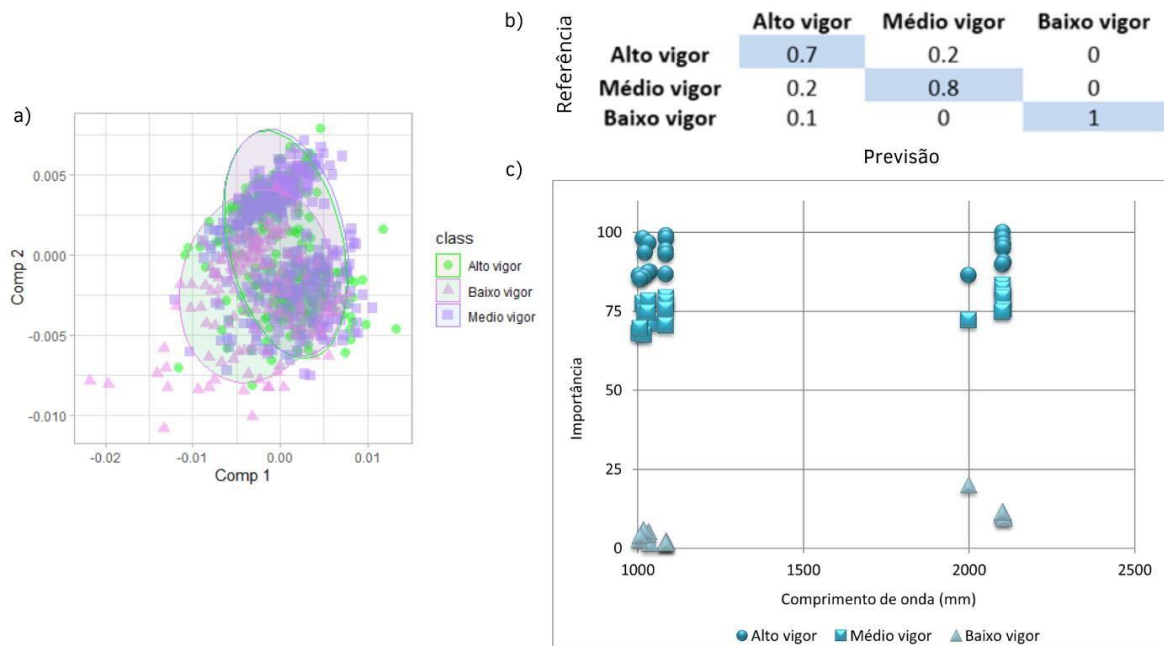


Figura 19. Gráfico de pontuação da análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) com os dois primeiros componentes discriminantes de sementes de milho-doce cv. Superdoce com base nos espectros FT-NIR transformados pela primeira derivada Savitzky-Golay, as elipses mostram intervalos de confiança de 95% em cada classe de sementes (a), matriz de confusão das diferentes classes (b), boxplot dos 20 comprimentos de onda que mais contribuíram para o desenvolvimento do modelo (c).

A região de comprimento de onda de 1000-1300 nm nos espectros de refletância NIR mostra uma única absorção centrada em aproximadamente 1200 nm, que é o segundo sobretom da banda de vibração do grupo funcional C-H. Além disso, a região de absorção entre 2000 nm e 2275 nm é a combinação de absorção da banda vibracional de -NH, -OH, -CH e grupos funcionais semelhantes. Vários pontos característicos foram observados na região de maior comprimento de onda, que notadamente representa compostos como carboidratos e proteínas, as duas frações mais prevalentes em sementes de milho superdoce. Esse resultado pode ser porque os carboidratos, incluindo açúcar, amido e celulose, representam cerca de dois terços do grão de milho superdoce em peso e, portanto, as alterações nesses compostos podem ser mais facilmente detectáveis (QIU et al., 2018).

Com isso, evidencia-se que os espectros FT-NIR também foram eficientes para detectar diferenças em compostos químicos presentes nas sementes da cv. Superdoce, conforme já

comentado para a cv. Doce Cristal, sendo uma alternativa para classificação de lotes de sementes quanto ao seu potencial fisiológico.

5. CONCLUSÕES

Os testes de envelhecimento acelerado, condutividade elétrica foram eficientes para classificar os lotes de milho-doce de ambas as cultivares em níveis de vigor;

Para o teste de envelhecimento acelerado, recomenda-se a utilização de 41 °C e 100% UR por 72 horas;

Pelo teste de condutividade elétrica, é possível detectar diferenças entre os lotes de maior e menor vigor com 4 horas de embebição. Contudo, o período de 24 horas foi o mais eficiente para classificar os lotes em diferentes níveis de vigor.

O comprimento total das plântulas, da raiz primária e os índices de vigor determinados aos 3 e 4 dias após a semeadura pelo SAPL[®] permitiram separar os lotes da cv. Doce Cristal quanto ao vigor.

Os dados obtidos pelo NIR combinados com os modelos PLS-DA indicam que esta técnica é sensível para estimar, de maneira rápida e não destrutiva, o potencial fisiológico dos lotes de milho doce com cerca de 91% de acurácia, principalmente quando submetidos à primeira derivada pelo filtro Savitzky-Golay.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARENGA, R. O., MARCOS-FILHO, J. E GOMES JUNIOR, F. G. Avaliação do vigor de sementes de milho superdoce por meio da análise computadorizada de imagens de plântulas. **Revista Brasileira de Sementes**. 2012, v. 34, n. 3, pp. 488-494.
- ALVARENGA, R.O.; MARCOS-FILHO, J.; TIMÓTEO, T.S. Assessment of the physiological potential of super sweet corn seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, v.35, n.3, p.340-346, 2013.
- AMBROSE, A., LOHUMI, S., LEE, W. H., CHO, B. K. Comparative nondestructive measurement of corn seed viability using Fourier transform near-infrared (FT-NIR) and Raman spectroscopy. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 224, p. 500-506, 2016.
- AMBROSE, A.; KANDPAL, L. M.; KIM, M. S.; LEE, W. H.; CHO, B. K. High speed measurement of corn seed viability using hyperspectral imaging. **Infrared Physics & Technology**, v.75, p.173–179, 2016.
- AN, D. et al. Effects of Varieties, Producing Areas, Ears, and Ear Positions of Single Maize Kernels on Near-Infrared Spectra for Identification and Traceability. **PLOS ONE**, v. 11, n. 9, p. e0161489, 6 set. 2016.
- ARAUJO, E.F.; ARAUJO, R.F.; SOFIATTI, V.; SILVA, R.F. Maturação de sementes de milho-doce – grupo super doce. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 2, p.69-76, 2006.
- ARAÚJO, E. F. L, SANTOS, J. F. dos, SILVA, C. B, da., FILHO, J.M. VIEIRA, R.D. Controlled deterioration test and use of the Seed Vigor Imaging System (SVIS®) to evaluate the physiological potential of crambe seeds1. **Journal of Seed Science**, v.39, n.4, p.393-400, 2017 <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v39n4177911>.
- ARAÚJO, J. de, O. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de grão-de-bico (*Cicer Arietinum* L.): testes de vigor e atividade de enzimas antioxidantes. **Dissertação de Mestrado**, Viçosa, 2019.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSIS (AOSA), ed. Seed Vigor testing handbook. Ithaca, N. Y., 2009 (Contribution n° 32 to the Handbook on Seed Testing).
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSIS (AOSA), ed. Seed Vigor testing handbook. 89p. 1983 (Contribution n° 32 to the Handbook on Seed Testing).
- ÁVILA, P. F. V. de, VILLELA, F. A. e ÁVILA, M. S. V. de. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico de sementes de rabanete. **Revista Brasileira de Sementes**. 2006, v. 28, n. 3.
- AZERÊDO, G. A.; PAULA, R. C.; VALERI, S. V. Electrical conductivity in *Piptadenia moniliformis* Benth. seed lots classified by size and color. **Revista Árvore**, v.40, p. 855 – 866, 2016.

- AZIZ, M. S., NAWAZ, R., HAIDER, N., REHMAN, Z.U., AAMIR, A.H., & IMRAN, M. (2019). Starch composition, antioxidant potential, and glycemic indices of various varieties of *Triticum aestivum* L. and *Zea mays* L. available in Pakistan. *Journal Food Biochemis.* 2019, 43(8), e12943
- BAALBAKI, R.; ELIAS, S.; MARCOS-FILHO, J.; McDONALD, M.B. Seed vigor testing handbook. Ithaca, NY: AOSA, 2009. 345p. (Contribution 32).
- BÁRBARA, C. das N.V. Espectroscopia de infravermelho e nível de deterioração de sementes de *Nicotiana tabacum* L: Avaliação de sementes de tabaco pelo NIR. **Dissertação (mestrado acadêmico)** – Universidade Federal de Lavras, 2016.
- BARBIERI, A.P.P.; MENEZES, N.L.; CONCEIÇÃO, G.M.; TUNES, L.M. Teste de lixiviação de potássio para a avaliação do vigor de sementes de arroz. **Revista Brasileira de Sementes**, v.34, n.1, p.117-124, 2012.
- BASSO, D.P. Condicionamento osmótico e qualidade de sementes de milho doce durante o armazenamento. (**Mestrado em Agronomia**) 43f. Faculdade de Ciências Agrônômicas da UNESP – Campus de Botucatu, 2014.
- BAZONI, C. H.; IDA, E. I.; BARBIN, D. F.; KUROZAWA, L. E. Near-infrared spectroscopy as a rapid method for evaluation physicochemical changes of stored soybeans. **Journal of Stored Products Research**, v. 73, p. 1-6, 2017.
- BERTOLIN, D.C.; SÁ, M.E.; MOREIRA, E.R.; Parâmetros do teste de envelhecimento acelerado para determinação do vigor de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.35, n.1, p.104-112, 2011.
- BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2.ed. New York: Plenum, 1994.
- BHERING, M.C.; DIAS, D.C.F.S.; GOMES, J.M.; BARROS, D.I. Métodos para avaliação do vigor de sementes de pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, v.22, n.2, p.171-175, 2000.
- BORGES, I. O. **Teste de condutividade elétrica em sementes de milho doce**. Trabalho de Conclusão de Curso de graduação em Agronomia – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, 2016, 37p.
- BOYER, C.D.; SHANNON, J.C. (1983) The use of endosperm genes for sweet corn improvement. In: **PLANT breeding reviews**. West Lafayette: USA Purdue University, 1:139-161.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes. Brasília: MAPA/ACS, 365p, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2013. Produção e comércio de sementes. Anexo XXI Brasília, DF: MAPA/DAS/CSM, 38 p. (Instrução Normativa, N° 45 de 17/09/2013).

BRUNES, A.P.; ARAÚJO, A.D.; DIAS, L.K.; VILLELA, F.A.; AUMONDE, T.Z. Seedling length in wheat determined by image processing using mathematical tools. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 2, p. 374-379, 2016. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20160044>.

BURNS, DONALD A., E. W. C. (2007). Handbook of Near-Infrared Analysis (D. A. Burns & E. W. Ciurczak (eds.)). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420007374>

CARVALHO, L.F. SEDIYAMA, C.S.; REIS, M.S.; DIAS, D.C.F.S.; MOREIRA, M.A. 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, n.1, p.9-17, 2009.

CASTAN, D. O. C.; GOMES-JUNIOR, F.G.; MARCOS-FILHO, J. Vigor-S, a new system for evaluating the physiological potential of maize seeds. **Scientia Agricola**, v.5, n.2, p.167- 172, 2018.

CASTAN, D.O.C. Análise computadorizada de imagens de plântulas para avaliação do vigor de sementes de milho, em comparação a testes tradicionais. **Dissertação (Mestrado em Fitotecnia)** – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

COIMBRA, R.A.; MARTINS, C.C.; TOMAZ, C.A.; NAKAGAWA, J. Testes de vigor utilizados na avaliação da qualidade fisiológica de lotes de sementes de milho-doce (sh2). **Ciência Rural**, v.39, n.9, p.2402-2408, 2009.

CHAUHAN, H.S., MUTHUSAMY, V., TASHMI, T., BASU, S., ANAND, A., MEHTA, B.K., GAIN, N., ZUNJARE, R.U., SINGH, A.K., GUPTA, H.S., HOSSAIN, F. Characterization of crtRB1- and vte4-based biofortified sweet corn inbreds for seed vigour and physico-biochemical traits. *Journal of Applied Genetics*, 2022. <https://doi.org/10.1007/s13353-022-00715-x>

CUI, H. F.; YE, Z. H.; XU, L.; FU, X. S.; FAN, C. W.; YU, X. P.. Automatic and rapid discrimination of cotton genotypes by near infrared spectroscopy and chemometrics. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2012.

CUI, H., ZHISHANG C., PENG L., and AIMIN M. "Prediction of Sweet Corn Seed Germination Based on Hyperspectral Image Technology and Multivariate Data Regression" *Sensors* 20, no. 17: 4744, 2020. <https://doi.org/10.3390/s20174744>

DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, v.1, n.2, p.427-452, 1973.

DIAS, D.C.F.S.; MARCOS-FILHO, J. Testes de condutividade elétrica para avaliação do vigor de sementes de soja (*Glycine max L.*). **Scientia Agricola**, v.53, n.1, p.31-42, 1996.

DIAS, M.A.N., MONDO, V.H.V., CICERO, S.M., N.R. SILVA, C.A.T. da., Vigor tests association as an alternative for precise and efficient assessment of maize seed quality. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 28, n. 3, p. 93 –99, jul. –set., 2015.

DOUGLAS, S.K.; JUVIK, J.A.; SPLITTSTOESSER, W.E. Sweet corn seedling emergence and variation in kernel carbohydrate reserves. **Seed Science and Technology**, v.21, n.3, p.433-445, 1993.

FAGIOLI, M. Relação entre condutividade elétrica e ou de sementes e a emergência de plântulas de milho em campo. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 74f. (**Dissertação de Mestrado**), 1997.

FARIA, L. A. L. ; NASCIMENTO, W. M. . Produção de Sementes de **Milho-Doce**. Produção de Sementes de Hortaliças - Volume I. 1ed.Brasília: , **2014**, v. 1, p.241.

FERREIRA, L. B. S.et al. Teste de condutividade elétrica e caracterização fisiológica de sementes de capitão (*Zinnia elegans*). **Revista Agrotecnologia**, Ipameri, v. 7, n. 2, p. 1-7, 2016.

FILHO, I.A.P., CRUZ, J.C., COSTA, R.V. da, Milho- Sistemas diferenciais de cultivo, Milho Doce. **Embrapa Milho e Sorgo**, 2021.

FORINA, M.; ARMANINO, C.; LEARD, R.; DRAVA, G. A class modeling technique based on potential functions. **Journal of chemometrics**, v. 5, p. 435-453, 1991.

FORTI, V.A., CICERO, S.M., PINTO, T. L.F. Análise de imagens na avaliação de danos mecânicos e causados por percevejos em semente de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 30, nº 1, p.121-130, 2008.

FREITAS, R. A.; DIAS, D. C. F. S.; REIS, M. S.; CECON, P. R. Correlação entre testes para avaliação da qualidade de sementes de algodão e a emergência das plântulas em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina-PR, v. 22, n. 1, p. 97-103, 2000.

FREITAS, R. A.; NASCIMENTO, W. M. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de lentilha. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, n.3, p.59-63, 2006.

GAITÁN-JURADO, A. J.; GARCÍA-MOLINA, M.; PEÑA-RODRÍGUEZ, F.; ORTIZSOMOVILLA, V. Near infrared applications in the quality control of seed cotton. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 16, n. 4, p. 421-429, 2008.

GOMES JUNIOR, F.G.; CHAMMA, H.M.C.P. Eficiência de um sistema computadorizado de processamento de imagens para avaliação do vigor de sementes de feijão. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 2008, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, p.685-688, 2008.

GOMES, D; LOPES, J. C. Teste de envelhecimento acelerado para avaliar o potencial fisiológico de sementes de canudo-de-pito. **Ciência Florestal**, v.27, n.04, p.1105-1115. 2017.

GOMES-JUNIOR. Análise computadorizada de imagens de plântulas. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, p.142-176, 2020.

- GOMES-JUNIOR, F. G., MONDO, V. H. V., CICERO, S. M., McDONALD, M. B., & BENNETT, M. A. Evaluation of Priming Effects on Sweet Corn Seeds by SVIS. **Seed Technology**, 31(1), 95–100, 2009.
- GOMES, E. M. L.; PEREIRA, R. S.; NASCIMENTO, W. M. Germinação de sementes de milho-doce sob diferentes temperaturas. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, 2004.
- GRUNVALD, A. K.; CARVALHO, C. G. P. D.; LEITE, R. S.; MANDARINO, J. M. G.; ANDRADE, C. A. D. B.; SCAPIM, C. A. Predicting the oil contents in sunflower genotype seeds using near-infrared reflectance (NIR) spectroscopy. **Acta Scientiarum: Agronomy**, v. 36, n. 2, p. 233-237, 2014.
- GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; GONÇALVES, E. P.; FRANÇA, P. R. C.; MOURA, M. F.; SANTOS, S. S. Germination of *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. seeds. **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, Vol. 33, N. 4, p. 445, 2011.
- GUIMARÃES, G. C. Espectroscopia no infravermelho próximo para classificação de sementes de café quanto à qualidade, origem e cultivar. **Tese (doutorado)** – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2016.
- GUOLLO, K.; POSSENTI, J. C.; FELIPPI, M.; DEL QUIQUI, E. M.; LOIOLA, T. M. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes florestais através do teste de condutividade elétrica. **Colloquium Agrariae**, v.13, n.1, p.86-92, 2017.
- GRUNVALD, A. K.; et al., Curva de calibração para predição do teor de óleo pela análise do espectrômetro de infravermelho próximo (NIR) em ensaios de competição de cultivares de girassol no Brasil. **Embrapa Cerrados**, p.51-58, 2009.
- HE, L.; BURRIS, J.S. Respiration and carbohydrate metabolism during germination of sh2 and Sh2 sweet corn seed. **Hortsci. A Publ. Am. Soc. Hortic. Sci.** **1992**, 27, 1306–1308.
- HILLIARD, J. H.; DAYNARD, T. B. Measurement of protein and oil in grains and soybeans with reflected near-infrared light. **Canadian Institute of Food Science and Technology, Ottawa**, v. 9, n. 1, p. 11-14, Jan. 1976.
- HOFFMASTER, A.F.; XU, L.; FUJIMURA, K.; McDONALD, M.B.; BENNETT, M.A.; EVANS, A.F. The Ohio State University Seed Vigor Imaging System (SVIS) for soybean and corn seedlings. **Seed Technology**, v.27, n.1, p.7-24, 2005.
- HOFFMASTER, A.L.; FUJIMURA, K.; MCDONALD, M.B.; BENNETT, M.A. Na automated system for vigor testing three-day old soybean seedlings. **Seed Science and Technology**, v. 31, n.3, 2003. p. 701-713.
- HUANG, H. et al. Near infrared spectroscopy for on/in-line monitoring of quality in foods and beverages: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 87, n. 3, p. 303–313, 2008.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). International Rules for Seed Testing. Bassersdorf: ISTA, 2020, 300p.

ISHIKAWA, H.; BOUKAR, O.; FATOKUN, C.; SHONO, M.; MURANAKA, S. Development of calibration model to predict nitrogen content in single seeds of cowpea (*Vigna unguiculata*) using near infrared spectroscopy. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 25, n. 3, p. 211-214, 2017.

ISTA - International Seed Testing Association. International Rules for Seed Testing. Bassersdorf: ISTA, 2011. 142p

JIA, S.; AN, D.; LIU, Z.; GU, J.; LI, S.; ZHANG, X.; ZHU, D.; GUO, T.; YAN, Y. et al. Variety identification method of coated maize seeds based on near-infrared spectroscopy and chemometrics. **Journal of Cereal Science**, v. 63, p. 21-26, 2015.

JIA, S., YANG, L. AN, D., LIU, Z., YAN, Y., LI, S., ZHANG, X. ZHU, D., G, I. Feasibility of analyzing frost-damaged and non-viable maize kernels based on near infrared spectroscopy and chemometrics. **Journal of Cereal Science**, Volume 69, 2016, Pages 145-150, ISSN 0733- 10. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.02.018>

JIANHUA, Z.; McDONALD, M.B. The saturated salt accelerated aging test for small-seeded crop. **Seed Science and Technology**, v.25, n.1, p.123-131, 1996.

GOMES JUNIOR, Francisco Guilhien. **Injúrias mecânicas em sementes de milho doce**. 2009. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11136/tde-14122009-145313/>.

KEYS, R.D. CASAS (Computerized automated seed analysis system): an approach to the analysis and testing of seed. **Seed Technology Journal**, v.7, n.1, p 23-35, 1982.

KOSMOWSKI, F.; WORKU, T. Evaluation of a miniaturized NIR spectrometer for cultivar identification: the case of barley, chickpea and sorghum in Ethiopia. **Plos One**, v.13, n.3, e0193620, 2018.

KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA-NETO, J.B.; GOMES-JUNIOR.F.G.; NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados em desempenho de plântulas. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, p.79-140, 2020.

KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A. Relato dos testes de vigor disponíveis para as grandes culturas. ABRATES, Londrina, n.1, v.2, p.15-53, 1991.

KUMAR, N.; BANSAL, A.; SARMA, G. S.; RAWAL, R. K. Chemometrics tools used in analytical chemistry: **An overview**. v. 123, p. 186-199, 2014.

LEÃO-ARAÚJO, É.F.; GOMES-JÚNIOR, FG; SILVA, AR; PEIXOTO, N.; SOUZA, ERB Avaliação da dessecação de sementes de *Campomanesia adamantium* por meio de análise

radiográfica e sua relação com o potencial fisiológico. **Revista Agronômica**, v.111, n.2, p.592-600, 2019. <http://dx.doi.org/10.2134/agronj2018.05.0302>

LEE, S.S.; YUN, S.H.; SEO, J.M. Optimum harvest time for high quality seed production of sweet and super sweet corn hybrids. *Korean J. Crop Sci.* 2004, 49, 373–380.

LEMOS, M. A.; GAMA, E. E. G.; MENEZES, D.; SANTOS, V. F.; TABOSA, J. N.; MORAIS, M. S. L. Emergência em campo de híbridos simples de milho superdoce de um cruzamento dialélico. **Hortic. Bras.**, Brasília, v.20, n.2, p.158-162, 2002.

LIMÃO, M.A.R. Testes de vigor, atividade enzimática e espectroscopia no infravermelho próximo em sementes de lentilha (*Lens culinaris* Medik.). **Dissertação** (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2022.

LOEFFLER T.M.; TEKRONY, D.M; EGLI, D.B. The bulk conductivity test as an indicator of soybean seed quality. **Journal of Seed Technology**, 12:37-53. 1988.

LUO, Y., GUAN, Y.J., HUANG, Y.T., LI, J., LI, Z; HU, J. Single counts of radicle emergence provides an alternative method to test seed vigour in sweet corn. J. (2015), **Seed Sci. & Technol.**, 43, 519-525. <http://doi.org/10.15258/sst.2015.43.3.02>

LUZ, J.M.Q.; CAMILO, J.S.; BARBIERI, V.H.B.; RANGEL, R.M.; OLIVEIRA, R.C. Produtividade de genótipos de milho doce e milho verde em função de intervalos de colheita. **Horticultura Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 163-167, 2014.

MA, H. et al. Rapid authentication of starch adulterations in ultrafine granular powder of Shanyao by near-infrared spectroscopy coupled with chemometric methods. **Food Chemistry**, v. 215, p. 108–115, 2017.

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

MARCOS FILHO, J et al. Estudo comparativo de metodos para avaliação da qualidade fisiologica de sementes de soja, com ênfase ao teste de condutividade elétrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 25, n. 12, p. 1805-15, 1990.

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

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

MARCOS FILHO, J.; KIKUTI, A.L.P.; LIMA, L.B. Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo a análise computadorizada de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p. 102-112, 2009.

MARCOS-FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J.B.; MARCOS-FILHO, J. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, p.182-244, 2020b.

MARCOS-FILHO, J. Teste de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J.B.; MARCOS-FILHO, J. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, p.17-72, 2020a.

MARCOS-FILHO, J. Testes de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, cap.3, p.1-24, 1999.

MARINHO, J. de, L.; BAZZO, J. H.B, ZUCARELI, C.; FONSECA, I.C. de, B. Controlled deterioration test to evaluate the physiological potential of sweet corn seeds. *Semina: Ciênc. Agrár.* Londrina, v. 42, n. 3, p. 949-962, maio/jun. 2021

MARTENS, H.; GELADI, P. Multivariate calibration. John Wiley & Sons, Inc., 1989.

MARQUES, A. R, DUTRA, A.S. Metodologia do teste de condutividade elétrica em sementes de sorgo granífero. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.17, n.1, p. 147-156, 2018.

MARQUETTI, I., LINK, J. V., LEMES, A. L. G., SCHOLZ, M. B. D. S., VALDERRAMA, P., BONA, E. Arabica coffee classification using near infrared spectroscopy and two-stage models. **IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil** 24 a 26 de junho de 2015, Curitiba – PR.

MARÇO, P. H. Estudo da influência da radiação e pH no comportamento cinético de antocianinas de plantas do gênero *Hibiscus* por métodos quimiométricos. 2009. 214 f. **Tese (Doutorado)** - Universidade Estadual de Campinas. Departamento de Química Analítica, Campinas, 2009.

MAYRINCK, L. G. Uso da espectrometria no infravermelho próximo na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de algodão. **Dissertação (mestrado)** – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2018.

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

MEDEIROS, A. D.; PEREIRA, M. D. SAPL®: a free software for determining the physiological potential in soybean seeds. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.48, n.3, p.222- 228, 2018.

MEDEIROS, A. D., PEREIRA, M.D, SILVA, J.A. Processamento digital de imagens na determinação do vigor de sementes de milho. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** ISSN (online) 1981-0997 v.13, n.3, e5540, 2018.

MEDEIROS, A. D.; SILVA, L. J.; CAPOBIANGO, N. P.; FIALHO, C. A.; DIAS, D. C. F. S. Assessing the physiological quality of common bean seeds using the Vigor-S® system and its relation to the accelerated aging test. **Journal of Seed Science**, v.41, n.2, p.187-195, 2019.

MEDEIROS, A.D.; MARTINS, M.S.; SILVA, L.J.; PEREIRA, M.D.; LEÓN, M.J.Z.; DIAS, D.C.F.S. X-ray imaging and digital processing application in non-destructive assessing of melon seed quality. **Journal of Seed Science**, v.42, 2020. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42229761>.

MEDEIROS, A.D.; ARAÚJO, J.O.; ZAVALA-LEÓN, M.J.; SILVA, L.J.; DIAS, D.C.F.S. Parameters based on x-ray images to assess the physical and physiological quality of *Leucaena leucocephala* seeds. **Ciência e Agrotecnologia**, v.42, n.6, p.643-652, 2018.

MEDEIROS, A.D. de, PEREIRA, M.D., SILVA, I.R.F.S., CAPOBIANGO, N.P., FLORES, M.E.P. Vigor of maize seeds determined by a free image analysis system1. Centro de Ciências Agrárias - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 50, n. 4, p. 616-624, out-dez, 2019.

MENEZES, N.L.; GARCIA, D.C.; BAHRY, C.A.; MATTIONI, N.M. Teste de condutividade elétrica em sementes de aveia preta. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.2, p.138-142, 2007.

MENEZES JE; NASCIMENTO WM. Teste de envelhecimento precoce em sementes de ervilha (*Pisium sativum L.*). **Horticultura Brasileira** 6: 63, 1988.

MITTELMANN, A. et al. Análise dialélica do teor de óleo em milho. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 2, p. 139-143, abr./jun. 2006.

MIGUEL, M.V. de C., MARCOS FILHO, J. Potassium leakage and maize seed physiological potential. **Scientia Agricola**. 2002, v. 59, n. 2, pp. 315-319.

MONFERRERE, G. L.; AZCARATE, S. M.; CANTARELLI, M. Á.; FUNES, I. G.; CAMIÑA, J. M. Chemometric characterization of sunflower seeds. **Journal of food science**, v. 77, n. 9, 2012.

MORAIS, P. I. C. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho por análise de imagem e espectroscopia no infravermelho próximo. **Dissertação (mestrado)** – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2018.

MOURA, M. da, C. F., LIMA, L. K. S., SANTOS, C.C., DUTRA, A.S. Teste da condutividade elétrica na avaliação fisiológica em sementes de *Vigna unguiculata*. **Revista de Ciências Agrárias**, 2017, 40(4): 714-721.

MUKASA, P.; WAKHOLI, C.; MO, C.; OH, M.; JOO, H. J.; SUH, H. K.; CHO, B. K. Determination of viability of *Retinispora (Hinoki cypress)* seeds using FT-NIR spectroscopy. **Infrared Physical Technology**, v.98, p.62–68, 2019.

NAKAGAWA, J. **Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas**. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999. p. 2.1-2.24.

NEMOTO, J. M., **Teste de condutividade elétrica em sementes de monjoleiro (*Senegalia polyphylla* (DC.) Britton & Rose) classificadas por tamanho**. Trabalho de conclusão de curso

(Bacharelado - Engenharia Agrônômica) - (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2021.

OLIVEIRA J., L.F.G., SMITH, R.E.B., REIS, F.O., CAMPOSTRINI, O., E PEREIRA, M.G. (2007). Diferenças fisiológicas entre genótipos de milho doce (su-1) e milho comum durante o desenvolvimento. **Scientia Agraria**, 8(4), 351-356.

ORTEGA, B.N; ARROYO, J.J; WALK, C; CASTAÑARES, N; CANET, E.; SMITH, A. Near infrared reflectance spectroscopy as a tool to predict non-starch polysaccharide composition and starch digestibility profiles in common monogastric cereal feed ingredients, **Animal Feed Science and Technology**, V. 285, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2022.115214>.

OSBORNE, B. G.; DOUGLAS, S. Measurement of the degree of starch damage in flour by near infrared reflectance analysis. **Journal of the Science of Food and the Agriculture**, v. 32, n. 4, p. 328-332, 1981.

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

PANDE, R.; MISHRA, H. N. Fourier transform near-infrared spectroscopy for rapid and simple determination of phytic acid content in green gram seeds (*Vigna radiata*). **Food chemistry**, v. 172, p. 880-884, 2015.

PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de tomate. **Scientia Agrícola**, v.58, n.3, p.525-531, 2001. doi: 10.1590/S0103-90162001000300014.

PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy: Fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 198–219, 2003.

PANG, L., MEN, S., YAN, L., XIAO, J., Rapid vitality estimation and prediction of corn seeds based on spectra and images using deep learning and hyperspectral imaging techniques. **IEEE Access PP**, 1–1, 2020.

PENG, Yumei, LIU, H., Determination of rice amylose content by near- infrared spectroscopy. **Agric. Sci. Technol.** 18(4), 729–732, 2017.

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

PINTO, C.A.G.2014. Análise de imagens na avaliação do potencial fisiológico em sementes de milho. Lavras: UFLA. 52p. (Mestrado - UFLA).

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

POREP, J. U.; KAMMERER, D. R.; CARLE, R. On-line application of near infrared (NIR) spectroscopy in food production. **Trends in Food Science & Technology**, v. 46, n. 2, p. 211–230, 2015.

POWELL, A.A. Cell membranes and seed leachate conductivity in relation to the quality of seed for sowing. **Journal of Seed Technology**, v.10, n.2, p.81-100, 1986.

PRADO, J.P. do, KRZYZANOWSKI, F.C., MARTINS, C. C., VIEIRA, R. D. Physiological potential of soybean seeds and its relationship to electrical conductivity. **Journal of Seed Science**, v.41, n.4, p.407-415, 2019.

QIU G, LÜ E, WANG N, LU H, WANG F, ZENG F. Cultivar Classification of Single Sweet Corn Seed Using Fourier Transform Near-Infrared Spectroscopy Combined with Discriminant Analysis. **Applied Sciences**. 2019; 9(8):1530. <https://doi.org/10.3390/app9081530>

QIU, G.; LÜ, E.; LU, H.; XU, S.; ZENG, F.; SHUI, Q. Single-kernel FT-NIR spectroscopy for detecting supersweet corn (*Zea mays L. Saccharata sturt*) seed viability with multivariate data analysis. **Sensors**, v.18, n.4, e.1010, 2018.

RAJJOU, L.; LOVIGNY, Y.; GROOT, S.P.; BELGHAZI, M.; JOB, C.; JOB, D. Proteome-wide characterization of seed aging in Arabidopsis: A comparison between artificial and natural aging protocols. **Plant Physiol**. 2008, 148, 620–641.

R CORE TEAM. R Development Core TeamR: A Language and Environment for Statistical Computing, 2020.

RADKE, A. K.; XAVIER, F. M.; EBERHARDT, P. E. R.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E. Methodological adjustment of the accelerated aging test to evaluate the vigor of chia seeds. **Journal of Seed Science**, v.40, n.2, p.173-178, 2018

RAMOS, N. P.; FLOR, E. P. O.; MENDONÇA, E.A.F.; MINAMI, K. Envelhecimento acelerado em sementes de rúcula. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.1, p.98-1003, 2004.

REICH, G. Near-infrared spectroscopy and imaging: Basic principles and pharmaceutical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 57, n. 8, p. 1109–1143, 2005.

RIBEIRO, A. da S. NERI, T. F. S. MEDEIROS, A. D. de., MILAGRES, C. do C., SILVA, L. J. da., Use of radiographic images for rapid and non destructive assessment of crambe seed quality. **Journal of Seed Science**, v.43, e202143001, 2021. <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v43239136>.

RIBEIRO et al. Teste de condutividade elétrica para avaliar o vigor de sementes em milho-pipoca (*Zea maysL.*). **Revista Ceres**, Viçosa, v. 56, n.6, p. 772-776, nov/dez, 2009

RIBEIRO, A. da S. NERI, T. F. S. MEDEIROS, A. D. de., MILAGRES, C. do C., SILVA, L. J. da., Use of radiographic images for rapid and non destructive assessment of crambe seed quality.

Journal of Seed Science, v.43, e202143001, 2021. <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v43239136>.

RIBEIRO, J. P. O.; MEDEIROS, A. D.; CALIARI, I. P.; TRANCOSO, A. C. R.; MIRANDA, R. M.; FREITAS, F. C. L.; SILVA, L. J.; DIAS, D. C. F. dos S. FT-NIR and linear discriminant analysis to classify chickpea seeds produced with harvest aid chemicals. **Food Chemistry**, v.341, e.128324, 2020.

RINGSTED, T.; DUPONT, S.; RAMSAY, J.; JESPERSEN, B. M.; SØRENSEN, K. M.; KEIDING, S. R.; ENGELSEN, S. B. Near-infrared spectroscopy using a supercontinuum laser: application to long wavelength transmission spectra of barley endosperm and oil. **Applied Spectroscopy**, v. 70, n. 7, p. 1176-1185, 2016.

RIVERA, A.C. Qualidade fisiológica de sementes de milho doce sob diferentes condições de armazenamento. **Tese (Doutorado)**, Universidade Federal de Lavras, 77 p., 2011.

RODIONOVA, O.Y., POMER, A.L., 2020. Chemometric tools for food fraud detection: The role of target class in non-targeted analysis. **Food Chem.** 317, 126448 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem>.

ROSSATO, R., PRETE, C. E. C., CASTRO, C. D., TOMM, G. O., LEITE, R. S., MANDARINO, J. M. G., CARVALHO, C. G. P. D. Predicting rapeseed oil content with near-infrared spectroscopy. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 12, p. 1601-1605, 2013.

SAKO, Y.; McDONALD, M.B.; FUJIMURA, K.; EVANS, A.F.; BENNETT, M.A. A system for automated seed vigour assessment. **Seed Science and Technology**, v. 29, n. 3, p. 625-636, 2001.

SANTOS, L.R. dos,. Métodos alternativos para análise rápida de parâmetros de qualidade da soja. **Dissertação (Mestrado)** – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Campo Mourão, 2017.

SANTOS, P.M.; GONDIM, T.C.O.; ARAÚJO, E.F.; DIAS, D.C.F.S. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho-doce pelo teste de envelhecimento acelerado. **Revista Brasileira de Sementes**, v.24, n.1, p.91-96, 2002.

SCHUCH, L.O.B.; NEDEL, J.L.; ASSIS, F.D.; MAIA, M.S. Crescimento em laboratório de plântulas de aveia-preta (*Avena strigosa* Schreb.) em função do vigor das sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 21, n. 1, p. 229-234, 1999.

SENA, D.V.A.; ALVES, E.U.; MEDEIROS, D.S. Vigor de sementes de milho cv.'Sertanejo' por testes baseados no desempenho de plântulas. **Ciência Rural**, v. 45, n. 11, p. 1910-1916, 2015. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20120751>.

SILVA, K.C.N. Avaliação do vigor de sementes crioulas de milho (*Zea Mays* L.) utilizando testes tradicionais e análise de imagens. **Dissertação (Mestrado em Ambiente, Tecnologia e Sociedade)**, Mossoró RN, 2020.

SILVA, N. Melhoramento de milho doce. In: ENCONTRO SOBRE TEMAS DE GENÉTICA E MELHORAMENTO, 11., 1994, Piracicaba. *Anais...* Piracicaba: ESALQ, 1994. v.11, p.45-49.

SILVA, V. N.; CICERO, S. M. Análise de imagens de plântulas para avaliação do potencial fisiológico de sementes de berinjela. *Horticultura Brasileira*, v. 32, n 2, p. 145-151, 2014.

SILVA, S.F da,. Uso da espectrometria no infravermelho próximo na avaliação de qualidade de sementes de braquiária. **Dissertação de mestrado**. Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza 2019.

SILVA, L. J.; MEDEIROS, A. D.; OLIVEIRA, A. M. S. SeedCalc, a new automated R software tool for germination and seedling length data processing. *Journal of Seed Science*, v.41, n.2, p.250-257, 2019.

SILVA, V.N.; SARMENTO, M.B.; SILVEIRA, A.C.; SILVA, C.S.; CICERO, S.M. Avaliação da morfologia interna de sementes de *Acca sellowiana* O. Berg por meio de análise de imagens. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal - SP, v. 35, n. 4, p. 1158- 1169, dez 2013.

SOARES, S. F. C.; MEDEIROS, E. P.; PASQUINI, C.; DE LELIS MORELLO, C.; GALVÃO, R. K. H.; ARAÚJO, M. C. U. Classification of individual cotton seeds with respect to variety using near-infrared hyperspectral imaging. *Analytical Methods*, v. 8, n. 48, p. 8498-8505, 2016.

SISKA, J.; HURBURGH, C. R. Corn density measurement by near infrared transmittance. *Transactions ASAE, Oxford*, v. 38, p. 1821-1824, 1996.

SOUZA IRP; MAIA AHN; ANDRADE CLT. 1990. Introdução e avaliação de milho doce na região do baixo Parnaíba. Teresina: **EMBRAPA-CNPA**. 7p

SOUZA, R.S.; VIDIGAL FILHO, P.S.; SCAPIM, C.A.; MARQUES, O.J.; QUEIROZ, D.C.; OKUMURA, R.S.; RECHE, D.L.; CORTINOVE, R.S. Produtividade e qualidade do milho doce em diferentes populações de plantas. *Semina: Ciências Agrárias*, v.34, n.3, p.995-1010, 2013. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n3p995-1010>

SOUZA, R. de,. Diversidade de variedades crioulas de Milho Doce e adocicado conservadas por agricultores do Oeste de Santa Catarina. **Dissertação de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais**, da Universidade Federal de Santa Catarina, 2015.

STORCK, L. E LOVATO, C. MILHO DOCE. *Ciência Rural* [online]. 1991, v. 21, n. 2, pp. 283-292.

STYER, R. C.; CANTLIFFE, D. J. Relationship between environment during seed development and seed vigor of two endosperm mutant of corn. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v.108, n.5, p.717-720, Sept. 1983.

STYER, R.C.; CANTLIFFE, D.J. Dependence of seed vigor during germination on carbohydrate source in endosperm mutants of maize. **Plant Physiology**, v.76, n.1, p.196-200, 1984.

STYER, R.C.; CANTLIFFE, D.J.; HANNAH, L.C. Differential seed and seedling vigor in *Shrunken-2* compared to three other genotypes of corn at various stages of development. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.105, n.3, p.329-332, 1980.

TEIXEIRA, E. F., CICERO, S. M. E DOURADO N. D. Análise de imagens digitais de plântulas para avaliação do vigor de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**. 2006, v. 28, n. 2.

TEIXEIRA, F.F.; PAES, M.C.D; GAMA, E.E.G.; PEREIRA F.I.A.; MIRANDA, R.A.; GUIMARÃES, P.E.O.; PARENTONI, S.N.; COTTA, L.V.; MEIRELLES, W.F.; PACHECO, C.A.P.; GUIMARÃES, L.J.M.; SILVA, A.R.; MACHADO, J.R.A. BRS Vivi: single-cross super sweet corn hybrid. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.14, n.2, p.124-127, 2017.

TODA, Y.; OKURA, F.; ITO, J.; OKADA, S.; KINOSHITA, T.; TSUJI, H.; SAISHO, D. Training instance segmentation neural network with synthetic datasets for crop seed phenotyping. **Communications Biology**, v.3, n.1, p.1-12, 2020.

TOMES, L. J.; TEKRONY, D. M.; EGLI, D. B. Factors influencing the tray accelerated aging test for soybean seed. **Journal of Seed Technology**, v.12, n.1, p.2436, 1988.

TORRES, S. B.; PAIVA, E. P.; ALMEIDA, J. P. N.; BENEDITO, C. P., CARVALHO; S. M. C. Teste de condutividade elétrica na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de coentro. **Revista Ciência Agrônômica**, v.46, n.3, p.622-629, 2015.

TORRES, S.B. Envelhecimento acelerado em sementes de pepino com e sem solução salina saturada. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.2, p.303-306, 2005.

TOSELLO, G.A. Milhos especiais e seu valor nutritivo. In: PATERNIANI, E. **Melhoramento e produção do milho no Brasil**. Campinas: Fundação Cargill, 1978. cap.8, p.326-329.

TRACY, W.F. Sweet corn. In: HALLAUER, A. R. **Specialty corns**. Boca Raton: CRC. p. 155-198, 2001.

TUNES, L.M., PEDROSO, D.C., PICCININ, A. P. P. B., MASSUQUINI, G. C., ROETHING, E. MUNIZ, M. F. B., BARROS, A. C. S. A. Envelhecimento acelerado modificado para sementes de coentro (*Coriandrum sativum L.*) e sua correlação com outros testes de vigor. **R. bras. Bioci.** Porto Alegre, v. 9, n. 1, p. 12-17, jan./mar. 2011

VALDERRAMA, P. Calibração Multivariada de Primeira e Segunda Ordem e Figuras de Mérito na Quantificação de Enantiômeros por Espectroscopia. 219 f. 2009. **Tese** (Doutorado em Química Analítica) - Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química, Campinas, 2009.

VIEIRA, R. D.; MARCOS-FILHO, J. Teste de condutividade elétrica. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, cap-8, p.334-375, 2020.

- VIEIRA, R.D. & CARVALHO, N.M. (1994) – Testes de vigor em sementes. FUNEP, Jaboticabal. 164 p
- VIEIRA, R.D.; TEKRONY, D.M.; EGLI, D.B. & RUCKER, M. 2001. Electrical conductivity of soybean seeds after storage in several environments. **Seed Science and Technology**, 29: 599-6008, 2001.
- WANN, E.V. (1980) Seed vigor and respiration of maize kernels with different endosperm genotypes. **Journal of the American Society for Horticultural Sciences**. Alexandria, 96: 441-444.
- WANG, F., LI, Y., PENG, Y., Multi-parameter potato quality non-destructive rapid detection by visible /near-infrared spectra. **Spectrosc Spect. Anal.** 38(12), 2018.
- WANG, B.; YANG, R.; JI, Z.; ZHANG, H.; ZHENG, W.; ZHANG, H.; FENG, F. Evaluation of biochemical and physiological changes in sweet corn seeds under natural aging and artificial accelerated aging. **Agronomy** 2022, 12, 1028.
- WERNCKE, I. Qualidade de sementes de milho em função do tipo de secagem, armazenamento e aplicação de ozônio. 2020. 67 f. **Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola)** - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel
- WILSON JUNIOR, D.O.; MOHAN, S.K. Unique seed quality problems of sh2 sweet corn. **Seed Technology**, v.20, n.2, p.176-186, 1998.
- XIA, J., ZHANG, J. Z., YUETING, H., YANGMING, X., YANMEI, M.S. Fourier transform infrared spectroscopy and chemometrics for the discrimination of paper relic types. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 2019, 219, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.saa>.
- YANG, T. R.,HU, J.G.,YU, Y. T.,LI, G.K.,GUO, X.B.,LI,T.,& LIU, R. H. (2018). Comparison of phenolics, flavonoids, and cellular antioxidant activities in ear sections of sweet corn (*Zea mays L.saccharata Sturt*). **Journal Food Process**, 43, e13855.
- ZUCARELI, C et al. Qualidade fisiológica de sementes de milho doce classificadas pela espessura e largura. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 1, p. 71-78, jan,/mar, 2014.