

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
GOIANO - CAMPUS RIO VERDE. PROGRAMA DE PÓS-  
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA

**O revestimento em sementes de *Urochloa brizantha* altera a qualidade fisiológica e as imagens radiográficas podem ser usadas como índice de qualidade?**

Autor: Leonardo Vieira Campos  
Orientador: Profa. Dra. Juliana de Fátima Sales

Rio Verde - GO  
Julho – 2023

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
GOIANO - CAMPUS RIO VERDE PROGRAMA DE PÓS-  
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA

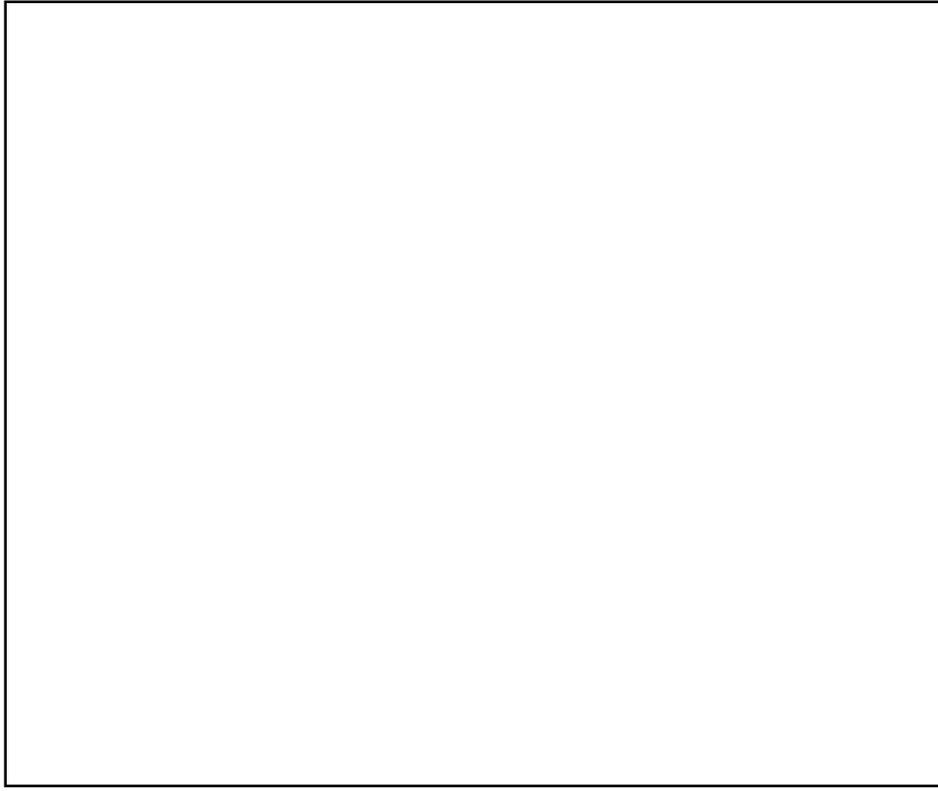
O revestimento em sementes de *Urochloa brizantha* altera a qualidade fisiológica e as imagens radiográficas podem ser usadas como índice de qualidade?

Autor: Leonardo Vieira Campos  
Orientador: Profa. Dra. Juliana de Fátima Sales

Tese apresentada como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS - AGRONOMIA no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – Área de concentração Produção Vegetal Sustentável do Cerrado.

Julho – 2023

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP  
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
**Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano**



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO -  
CAMPUS RIO VERDE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
AGRÁRIAS - AGRONOMIA

O revestimento em sementes de *Urochloa brizantha* altera a qualidade fisiológica e as imagens radiográficas podem ser usadas como índice de qualidade?

Autor: Leonardo Vieira Campos  
Orientador: Prof. Dra. Juliana de Fátima Sales

TITULAÇÃO: Doutor em Ciências Agrárias – Agronomia. Área de Concentração em Produção Vegetal Sustentável no Cerrado

APROVADA em, \_\_\_\_ de julho de 2023.

---

Prof. Dr. Givanildo Zildo da Silva  
Avaliador externo  
UNIRV/RV

---

Prof. Dr. Douglas Almeida Rodrigues  
Avaliador interno  
IF Goiano/RV

---

Prof. Dr. Carla Gomes Machado  
Avaliador externa  
UFJ – Jataí Go

---

Prof. Dr. Arthur Almeida Rodrigues  
Avaliador interno  
IF Goiano/Ceres

---

Prof. Dr. Juliana de Fátima Sales  
Presidente da banca  
IF Goiano/RV

## AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus pais, João Gonzaga Vieira de Lima e Lucilene Campos Ferreira de Lima, pelo amor, companheirismo e apoio incondicional.

À minha irmã Jaqueline Vieira Campos Alves, pelo amor e apoio de sempre.

A minha esposa amada Taísa Oliveira Alves Campos, que aguentou todos os momentos difíceis e felizes que passamos durante este período de muito trabalho e dedicação.

A minha orientadora Professora Juliana de Fátima Sales, pela amizade, paciência, dedicação, pela precisão nos conhecimentos transmitidos pelos conselhos repassados pelo alto astral e empolgação transmitido mesmo nos momentos difíceis, dizendo que tudo irá dar certo, que eu iria conseguir. “Na verdade, conseguimos, pois sem o seu apoio nada disso estaria acontecendo...”

Ao meu coorientador Arthur Almeida Rodrigues, que não mediu esforços para me ajudar em todas as etapas desse trabalho, sem ele nada disso estaria acontecendo, obrigado pela paciência e pela amizade que construímos ao longo desses anos.

A toda a família do Laboratório de Sementes: Anderson, Ingrid, Douglas, Cássia, Moara, Renato, Thaís, Stella, Layane, pelos momentos agradáveis que passamos juntos, pela disponibilidade e dedicação nas análises realizadas.

Agradeço a todos os membros da banca; Dr.<sup>a</sup> Juliana de Fátima Sales (orientadora), Prof. Dr. Arthur Almeida Rodrigues (coorientador), Prof. Dr. Douglas Almeida Rodrigues (avaliador interno), Prof. Dr. Givanildo Zildo da Silva (avaliador externo), Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Carla Gomes Machado (avaliador externa), Prof. Dr. Marconi Batista Teixeira (avaliador suplente interno), Prof.<sup>a</sup>(a) Dr.<sup>a</sup> Silvia Sanielle Costa de Oliveira (avaliadora suplente externa).

Ao Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde Go e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia, pela oportunidade da realização do doutorado.

Enfim, a todos que direto ou indiretamente contribuíram para que esse sonho tornasse realidade. MUITO OBRIGADO!

## BIOGRAFIA DO AUTOR

LEONARDO VIEIRA CAMPOS, filho de Lucilene Campos Ferreira de Lima e João Gonzaga Vieira de Lima, nasceu dia 07 de abril de 1980, na cidade de Rio Verde, Goiás.

Em janeiro de 1997, ingressou no curso de bacharelado em Zootecnia na Escola Superior de Ciências Agrárias de Rio Verde (ESUCARV), atualmente Universidade de Rio Verde (UNIRV) – graduando em janeiro de 2001.

Em setembro de 2007, ingressou no curso de Especialização em Gestão Agroindustrial Sucoalcooleiro, na Universidade de Rio Verde – UNIRV, especializando-se em março de 2009.

Em julho de 2010, ingressou no curso de Mestrado em Ciências Agrárias – Agronomia, no Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde, obtendo o título de mestre em setembro de 2012.

Em agosto de 2019, iniciou o curso de Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias – Agronomia, no Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde.

## ÍNDICE GERAL

	Página
AGRADECIMENTOS.....	ii
BIOGRAFIA DO AUTOR.....	iii
ÍNDICE DE TABELAS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	12
1.1 Qualidade de Sementes.....	13
1.2 Análise de imagem.....	13
1.3 Revestimento.....	14
1.4 Anatomia de sementes.....	15
2. OBJETIVOS.....	16
2.1 Geral.....	16
2.2 Específicos.....	16
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17
3. CAPÍTULO I – O revestimento em sementes de <i>Urochloa brizantha</i> altera a qualidade fisiológica?.....	21
RESUMO.....	21
ABSTRACT.....	21
3.1 INTRODUÇÃO.....	22
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
3.4 CONCLUSÕES.....	34
3.5 REFERÊNCIAS.....	34
4. CAPÍTULO II – Imagens radiográficas como índice de qualidade em sementes de espécies de <i>Brachiaria brizantha</i> .....	37
RESUMO.....	37
4.1 INTRODUÇÃO.....	38
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	39

4.2.1. Instalações dos ensaios.....	40
4.2.2. A Massa de 1000 Sementes.....	40
4.2.3 Teor de Água.....	40
4.2.4 Morfologia interna das sementes pela técnica de raios X.....	40
4.2.5 Teste de Germinação.....	41
4.2.6 Caracterização: morfoanatomia.....	42
4.2.7 Análises bioquímica.....	42
4.2.8 Análises Estatísticas dos Dados.....	43
4.3 RESULTADOS.....	44
4.3.1. Teor de água e massa de mil sementes.....	44
4.3.2. Morfologia interna das sementes pela técnica de raios X.....	44
4.3.3 Teste de Germinação.....	47
4.3.4. Caracterização anatômica das sementes.....	48
4.4 DISCUSSÃO.....	51
4.5 CONCLUSÃO.....	52
5. CONCLUSÃO GERAL.....	57

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Índice de velocidade de emergência (IVE), massa verde da raiz (MVR), massa seca da raiz (MSR), massa verde parte aérea (MVF), massa seca parte aérea (MSF), comprimento parte aérea (CPA) e comprimento da raiz (CPR), <i>Urochloa brizantha</i> cv. Piatã.....	26
Tabela 2. Fluorescência basal ( $F_0$ ), eficiência potencial do PSII ( $F_v/F_m$ ), coeficiente de dissipação fotoquímica (qP) e coeficiente de dissipação não fotoquímica (NPQ), <i>Urochloa brizantha</i> cv. Piatã.....	30
Tabela 3. Variáveis analisadas através das imagens de raios X de forma automatizado pelo ImageJ.....	41
Tabela 4. Parâmetros físicos avaliados das imagens de raios X das sementes de braquiária, cultivares Marandu, Piatã e Xaraés, usando o programa ImageJ.....	47
Tabela 5. Índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de germinação (%), plântulas normais, plântulas anormais e não germinada em sementes de três cultivares de braquiária após 13 dias do teste de germinação.....	48

## ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. A) Valores médios para o índice de velocidade de emergência (IVE), <i>Urochloa brizantha</i> cv. Piatã; B) Valores médios para a massa seca da raiz (MSR), <i>Urochloa brizantha</i> cv. Piatã.....	27
Fig. 2. A) Valores médios para a massa verde parte aérea (MVF), <i>Urochloa brizantha</i> cv. Piatã; B) Valores médios para a massa seca parte aérea (MSF), <i>Urochloa brizantha</i> cv. Piatã.....	28
Fig. 3. A) Valores médios para o comprimento parte aérea (CPA); B) Valores médios para o comprimento da raiz (CPR), <i>Urochloa brizantha</i> cv. Piatã.....	29
Fig. 4. Valores médios para: A) Fluorescência basal ( $F_0$ ); B) Eficiência potencial do PSII ( $F_v/F_m$ ); C) Coeficiente de dissipação fotoquímica (qP); D) Coeficiente de dissipação não fotoquímica (NPQ), <i>Urochloa brizantha</i> cv. Piatã.....	31
Fig. 5. Alterações anatômicas nas folhas de <i>Urochloa brizantha</i> cv. Piatã semeadas sem revestimentos semeadas a diferentes profundidades (A) 0,0 cm (B) 2,0 cm, (C) 4,0 cm e (D) 6,0 cm; Sementes semeadas com revestimentos semeadas a diferentes profundidades (E) 0,0 cm (F) 2,0 cm, (G) 4,0 cm e (H) 6,0 cm. Epiderme adaxial (EpAd), Epiderme abaxial (EpAb).....	32
Fig. 6. Diferenças na estrutura interna das sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> após análise de raios X. (A, B, C e D) semente cv. Marandu. (E, F, G e H) semente cv. Piatã. (I, J, K e L), sementes cv. Xaraés.....	44
Fig. 7. Imagens radiográficas e seus histogramas em 3D de sementes <i>Brachiaria brizanthai</i> . (A e B) cv. Marandu. (C e D) Piatã. (E e F) Xaraés. Coluna esquerda, sementes com maior densidade dos tecidos. Coluna direita sementes com menor densidade dos tecidos.....	46
Fig. 8. Estruturas morfoanatômicas das sementes de <i>Brachiaria brizantha</i> . Sementes sem alteração de preenchimento, (A, C e E) e com alterações de preenchimento (B, D e F), previamente selecionadas pelo teste de raios X. (A - B) semente cv. Marandu. (C - D) semente cv. Piatã. (E - F), sementes cv. Xaraés. Foram analisadas 200 sementes de cada cultivar. Setas amarelas demonstram alterações celulares.....	49
Fig. 9. Biplot dos componentes principais das variáveis de área, circularidade, densidade, porcentagem de preenchimento, índice de velocidade de germinação, porcentagem de germinação, PT – Proteínas totais, amy = $\alpha$ -amy alpha amylase, b-amy	

=  $\beta$ -amy beta amylase, plântulas normais e anormais, não germinadas das cultivares de *Brachiaria brizantha*.  $\cos^2$  – importância da variável para definição do componente principal (PC); PC1 – primeiro componente principal; PC2 – segundo componente principal.....50

## LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS, ABREVIACÕES E UNIDADES

Símbolo / Sigla	Significado	Unidade de Medida
CPA	Comprimento parte aérea	cm
CPR	Comprimento da raiz	cm
DNS	Ácido 3,5-dinitrosalicílico 1%	
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético	
EpAb	Epiderme abaxial	
EpAd	Epiderme adaxial	
F <sub>0</sub>	Fluorescência basal	
F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	Eficiência potencial do PSII	
IVE	Índice de velocidade de emergência	
IVG	Índice de velocidade de germinação	
MSF	Massa verde parte aérea	g
MSF	Massa seca parte aérea	g
MSR	Massa seca da raiz	g
MVR	Massa verde da raiz	g
N <sub>2</sub>	Nitrogênio	
NPQ	Coeficiente de dissipação não fotoquímica	
<i>P<sub>f</sub></i>	Massa final da amostra	g
<i>P<sub>i</sub></i>	Massa inicial da amostra	
PMSF	Fluoreto de fenilmetilsulfônico	
PVPP	Polivinilpirrolidona	
qP	Coeficiente de dissipação fotoquímica	
<i>TA<sub>f</sub></i>	Teor de água desejado	
<i>TA<sub>i</sub></i>	Teor inicial de água da semente	
α-amy	α-amilase	
β-amy	β-amilase	

## RESUMO

CAMPOS, LEONARDO VIEIRA. Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde – GO, julho de 2023. **O revestimento em sementes de *Urochloa brizantha* altera a qualidade fisiológica e as imagens radiográficas podem ser usadas como índice de qualidade?**; Orientadora: Dra. Juliana de Fátima Sales. Coorientador: Arthur Almeida Rodrigues.

O Brasil é o maior produtor, consumidor e exportador de sementes de espécies forrageiras no mundo. Com a demanda crescente por sementes com alta qualidade torna-se imprescindível o uso de métodos que visam assegurar o bom desenvolvimento das sementes nas mais variadas condições. Dentre esses métodos, destaca-se a técnica de revestimento de sementes, essa prática consiste na formação de uma película em torno da semente, por meio da agregação de materiais. Objetivou-se avaliar a qualidade fisiológica de sementes de *Urochloa brizantha* (cv. Piatã) revestidas e não revestidas, semeadas em diferentes profundidades, além de avaliar a qualidade fisiológica, bem como de sementes de braquiária utilizando métodos automatizados de análise de imagens de raios X, comparando com germinação e caracterização anatômica, com a finalidade de seleção de lotes de sementes de forma rápida e eficaz. Para isso, foram avaliados o índice de velocidade de emergência, massa verde da raiz, massa seca da raiz, massa verde parte aérea, massa seca parte aérea, comprimento parte aérea, e comprimento da raiz, caracterizações anatômicas, fluorescência da clorofila *a*. Portanto, descobrindo neste estudo a importância de considerar tanto a profundidade quanto o revestimento das sementes ao realizar semeaduras dessas espécies, uma vez que tanto o revestimento quanto a profundidade de semeadura podem afetar negativamente a qualidade fisiológica da semente.

**PAVAVRAS-CHAVE:** Germinação, profundidade de semeadura, raio X, fluorescência.

## ABSTRACT

Brazil is the largest producer, consumer, and exporter of forage species seeds in the world. With the growing demand for high quality seeds, it is essential to use methods that ensure the good development of seeds under the most varied conditions. Among these methods, the seed coating technique stands out, this practice consists of forming a film around the seed, through the aggregation of materials. The objective was to evaluate the physiological quality of coated and uncoated *Urochloa brizantha* (cv. Piatã) seeds, sown at different depths, in addition to evaluating the physiological quality, as well as of brachiaria seeds using automated X-ray image analysis methods, comparing with germination and anatomical characterization, with the purpose of selecting seed lots quickly and effectively. For this, the emergence speed index, root green mass, root dry mass, shoot green mass, shoot dry mass, shoot length, and root length, anatomical characterizations, and chlorophyll a fluorescence were evaluated. Therefore, in this study we discovered the importance of considering both seed depth and coating when sowing these species, since both coating and sowing depth can negatively affect the seed physiological quality.

**KEY WORDS:** Germination, sowing depth, X-ray, fluorescence.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Cerca de 80% do território agrícola do planeta é coberto por pastagens, o equivalente a uma área de 2,7 bilhões de ha, em 2015 (Bosi *et al.*, 2020). O Brasil possui aproximadamente 196 milhões de ha de áreas cultivadas com pastagens (Goldewijk *et al.*, 2017; Vieira Campos *et al.*, 2022). Todavia, a gramínea que mais se destaca é a *Brachiaria spp.*, tendo como centro de origem a África Oriental (Low, 2015).

Das forrageiras cultivadas, a *Brachiaria brizantha*, destaca-se pela adaptação as características edafoclimáticas predominante no Brasil, seu potencial na produção de forragem, além da rusticidade (Ferreira *et al.*, 2020), corroborando na importância para formação de pastagens (Jank *et al.*, 2014; Santana *et al.*, 2017).

Com crescentes avanços na área associada com a demanda crescente do mercado externo por proteína animal, e a exigência por maior qualidade nutricional, tem-se buscado avanços tecnológicos com o objetivo de melhorar a etapa de semeadura de forrageiras. Não obstante em 2019, foram produzidas 120 mil toneladas de sementes viáveis e puras (Ferreira *et al.*, 2021; Bassi, 2022). Tal demanda tem estimulado aumento na busca por sementes de qualidade, com alto potencial fisiológico, primordial para o estabelecimento e manutenção das pastagens (Derré *et al.*, 2016).

Em busca de promover melhorias no setor, aumentar a competitividade e melhorar o padrão de germinação das sementes, tem se buscado adotar o revestimento de sementes (incrustação). O revestimento (incrustação ou peletização) de sementes é caracterizado pela formação de uma película em torno da semente, com material agregado de origem organomineral, material adesivo, corantes e outros aditivos que visam promover algum benefício ou aderência a semente (Ferreira *et al.*, 2015; Sousa *et al.*, 2019; Melo *et al.*, 2021). O revestimento proporciona melhorias na semeadura como melhor uniformidade na distribuição das sementes, todavia pode retardar o desenvolvimento inicial da semente (Santos *et al.*, 2011; Derré *et al.*, 2016).

No cenário atual, a expansão de novas áreas de cultivo tem levado ao aumento da demanda por sementes com alta qualidade, tornando essencial a busca por melhorias e inovações na produção de forragem, além de impactar positivamente no rendimento da produção agrícola (Foley *et al.*, 2011; Afzal *et al.*, 2016; Vieira Campos *et al.*, 2022). Desde o processo de colheita até o armazenamento, as sementes podem sofrer alterações

físicas, podendo resultar em alterações na anatomia das células, corroborando na inativação de enzimas (Souza *et al.*, 2017), comprometendo a viabilidade e vigor das sementes.

As alterações que ocorrem nas sementes, podem ser avaliadas de forma confiável por meio de testes tradicionais para determinar a germinação e o vigor de sementes, todavia, buscando novas ferramentas para determinar o desempenho fisiológico de sementes de forma rápida e eficiente. Avanços em sistemas baseados na obtenção de imagens tem tornado possível a análise de sementes através de imagens de raios X (Ahmed *et al.*, 2018; Xia *et al.*, 2019). Pesquisadores encontraram resultados promissores com uso de raios X em sementes, uma vez que é possível encontrar forte relação entre os aspectos físicos internos com a viabilidade e vigor das sementes (Leão-Araújo *et al.*, 2019; Medeiros *et al.*, 2020).

## 1.1 Qualidade de Sementes

A boa pastagem depende do estabelecimento e sucesso de sementes que resultaram em plantas com alto vigor (Barrozo *et al.*, 2022). Os fatores inerentes a qualidade de sementes, aliados a outros fatores como; a interação dos componentes físicos, químicos, genéticos, fitossanitários e fisiológicos podem proporcionar maior aproveitamento produtivo da cultura (Magrini *et al.*, 2018). Assim, é possível determinar que a qualidade de semente é composta por uma gama de características que influenciam diretamente na capacidade e, primordialmente no desenvolvimento que a planta irá apresentar durante o ciclo. Sementes com alto vigor irão originar plântulas fortes, com alta capacidade de crescimento e estabelecimento (Meng *et al.*, 2016; Jaques *et al.*, 2022).

Em um lote de sementes, um dos primeiros parâmetros a ser estudado é a porcentagem/potencial de germinação, emergência, condutividade elétrica. Estes parâmetros quando avaliados são de extrema importância para determinar a qualidade fisiológica e desenvolvimento das sementes (Jaques *et al.*, 2022).

## 1.2 Análise de imagem

A análise de imagem destaca-se como uma técnica que permite obter resultados de forma rápida, precisa e não destrutiva (Xia *et al.*, 2019). Dentre essas técnicas estão a radiografia, a captura de imagens e o processamento por software (Lima *et al.*, 2018).

Atualmente, a análise de imagens de sementes tem sido usada desde a avaliação dos parâmetros qualitativos e quantitativos (Zhao *et al.*, 2020). Nos últimos anos, a análise de imagens de sementes tem fornecido importantes suportes para os estudos, corroborando para importantes avanços (Farris *et al.*, 2020). A análise de sementes por meio de imagens radiografadas obtidas através da técnica de raios X pode auxiliar na identificação e quantificação de lotes de sementes. A captura e o processamento da imagem têm permitido estabelecer a relação entre a integridade, morfologia e avaliação das estruturas internas das sementes, com o objetivo de determinar o estabelecimento de relações entre integridade, morfologia e a qualidade fisiológica das sementes (Javorski; Cicero, 2017; Hussain; *et al.*, 2018).

Através do uso dos raios X é possível identificar anormalidade no endosperma e embrião, sementes cheias, vazias, malformadas ou com alguma anomalia, sendo possível otimizar o conhecimento morfológico e correlacioná-los com o local, a possível extensão do dano e o potencial das sementes em originar uma plântula normal. Estudos mostram a aplicação da tecnologia de raios X na avaliação da viabilidade de sementes de melão, através da análise dos parâmetros morfológicos de sementes envelhecidas (Ahmed *et al.*, 2018). O uso da análise de imagens computadorizadas tem sido empregado com sucesso para averiguar os detalhes anatômicos no nível da microestrutura de tecidos vegetais (Herremans *et al.*, 2015). Donis-González, Guyer e Pease (2016) por meio da tecnologia de raios X, desenvolveram algoritmos para o reconhecimento de padrões para classificar cenouras de acordo com o conteúdo fibroso indesejável.

### **1.3 Revestimento**

O revestimento de sementes consiste em uma prática de cobrir as sementes com alguma substância/material externo, que por vezes podem ter como aditivo alguns ingredientes ativos, conferindo a semente proteção e melhor desempenho fisiológico (Pedrini *et al.*, 2021). O revestimento de sementes constitui-se como grande avanço na produção de sementes, tal tecnologia já é adotada em espécies de hortaliças e em grandes culturas. A técnica traz algumas vantagens para o produtor ao melhorar as condições da plantabilidade, o estabelecimento da população de plantas apropriada para a espécie, uniformização do formato da semente, além de permitir a adesão/adição de

produtos que possam ajudar na germinação e emergência (Accinelli; Abbas; Shier, 2018).

Dentre as tecnologias de revestimento de sementes pode-se citar o revestimento através de pequena película que envolve a aplicação de uma camada fina (~5% do peso da semente) (Pedrini *et al.*, 2017), incrustação de sementes que abrange a aplicação do revestimento de forma que o seu peso aumente de 8 a 500%, a incrustação de sementes pode ser usada para minimizar os impactos negativos durante o armazenamento (Javed *et al.*, 2022), por sua vez a peletização de sementes consiste no processo de aumentar o tamanho da semente por meio da aplicação de materiais externos, além de melhorar a germinação, vigor e armazenamento de sementes. Sementes de tomate revestidas apresentaram maior comprimento de plântula (Javed; Afzal, 2020).

#### **1.4 Anatomia de sementes**

O conhecimento da anatomia das sementes é importante, pois fornece informações para o conhecimento do desenvolvimento das plântulas, germinação das sementes, armazenamento, qualidade, manejo e outras áreas. Estudos sobre os aspectos anatômicos de sementes tem sido uma grande ferramenta para o avanço da qualidade na agricultura, possibilitando a compreensão do comportamento das espécies e seus processos subjacentes (Loureiro *et al.*, 2013; De Jesus Silva *et al.*, 2023).

Mudanças anatômicas das sementes em sua maioria estão correlacionadas com a viabilidade e o vigor (Ahmed *et al.*, 2018). Por meio da análise da anatomia é possível a compreensão dos mecanismos inerentes a germinação das sementes, permitindo a compreensão das estruturas, alterações celulares e de tecidos, além da mobilização das reservas para o desenvolvimento da plântula após a fase de germinação (Loureiro *et al.*, 2013; Mohamed *et al.*, 2018; Valeriano *et al.*, 2019; Araújo *et al.*, 2021).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Geral

O objetivo deste estudo foi verificar se o revestimento e profundidade de sementes de *Urochloa Brizantha* altera a qualidade fisiológica, por meio de análise de imagens radiográficas relacionadas com testes de vigor, e caracterização anatômica

### 2.2 Específicos

I. Avaliar a qualidade fisiológica de sementes de *Urochloa brizantha* (cv. Piatã) revestidas e não revestidas semeadas em diferentes profundidades;

II. Avaliar a qualidade fisiológica de sementes de braquiária, utilizando métodos automatizadas de análise de imagens de raios X, comparando com germinação e caracterização anatômica, com finalidade de seleção de lotes de sementes de forma rápida e eficaz.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Accinelli, C.; Abbas, H. K.; Shier, W. T. A bioplastic-based seed coating improves seedling growth and reduces production of coated seed dust. **Journal of Crop Improvement**. 2018, 32, 318-330.
- Afzal, I.; Rehman, H.U.; Naveed, M.; Basra, S.M.A. Recent advances in seed enhancements. In *New Challenges in Seed Biology-Basic and Translational Research Driving Seed Technology*; InTechOpen: London, UK, 2016; pp. 47–74.
- Araújo, J. D. O.; Dias, D. C. F. D. S.; Nascimento, W. M.; Martins, A. O.; Limão, M. A. R. Accelerated aging test and antioxidant enzyme activity to assess chickpea seed vigor. **Journal of Seed Science**. 2021, 43, e202143038.
- Barrozo, L. M.; da Silva, P. C.; dos Santos, J. C.; dos Santos Lopes, L. C.; Lima, R. P.; Gomes, J. J. A. Qualidade fisiológica de sementes e plântulas de ingá armazenadas e semeadas em diferentes ambientes. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**. 2022, 15, 179-191.
- Bassi, C. M. Exportação virtual de recursos hídricos: a experiência brasileira com a produção de carne bovina. **Publicação Preliminar**. 2022.
- Berto, B.; Ritchie, A. L.; Erickson, T. E. Seed-enhancement combinations improve germination and handling in two dominant native grass species. **Restoration Ecology**, 2021, 29, e13275.
- Bosi, C.; Sentelhas, P.C.; Huth, N.I.; Pezzopane, J.R.M.; Andreucci, M.P.; Santos, P.M. APSIM-Tropical Pasture: A model for simulating perennial tropical grass growth and its parameterisation for palisade grass (*Brachiaria brizantha*). **Agricultural Systems**. 2020, 184, 102917.
- De Jesus Silva, J.; Souza, F. V. D.; Junghans, T. G.; da Silva Ledo, C. A.; Rossi, M. L.; De Souza, E. H. Seed morphoanatomy of the genus *Passiflora* L. (Passifloraceae) by scanning electron microscopy and light microscopy. **Microscopy Research and Technique**. 2023, 86, 28–40.
- Derré, L. O.; Abrantes, F. L.; Aranda, E. A.; Feitosa, E. M.; Custódio, C. C. Embebição e profundidade de semeadura de sementes não revestidas e revestidas de forrageiras. **Colloquium Agrariae**. 2016, 12, 19-31.

- Donis-González, I. R.; Guyer, D. E.; Pease, A. Postharvest noninvasive assessment of undesirable fibrous tissue in fresh processing carrots using computer tomography images. **Journal of Food Engineering**. 2016, 190, 154-166.
- Farris, E.; Orrù, M.; Ucchesu, M.; Amadori, A.; Porceddu, M.; Bacchetta, G. Morpho-colorimetric characterization of the Sardinian endemic taxa of the genus *Anchusa* L. by seed image analysis. **Plants**. 2020, 9, 1321.
- Fátima Ferreira, V.; Ferreira, T. F.; Carvalho, R. A.; Rosa Mavaieie, D. P.; Pereira, D. S.; Oliveira, J. A. Qualidade fisiológica de sementes revestidas de braquiária híbrida cv. Mulato II. **Revista Agro@mbiente On-line**. 2015, 9, 161-166.
- Ferreira, A. S.; Demartelaere, A. C. F.; Feitosa, S. S.; Preston, H. A. F.; Medeiros, J. G. F.; Preston, W.; Ferreira, M. S. Coloração do tegumento e a relação com a qualidade fisiológica em sementes de *Brachiaria brizantha*. **Brazilian Journal of Development**. 2020, 6, 66059-66069.
- Foley, J. A.; Ramankutty, N.; Brauman, K. A.; Cassidy, E. S.; Gerber, J. S.; Johnston, M.; Zaks, D. P. Solutions for a cultivated planet. **Nature**. 2011, 478, 337-342.
- Goldewijk, K.K.; Beusen, A.; Doelman, J.; Stehfest, E. New anthropogenic land use estimates for the Holocene: HYDE 3.2. **Earth System Science Data**. 2017, 9, 927-953.
- Herremans, E.; Verboven, P.; Verlinden, B. E.; Cantre, D.; Abera, M.; Wevers, M.; Nicolai, B. M. Automatic analysis of the 3-D microstructure of fruit parenchyma tissue using X-ray micro-CT explains differences in aeration. **BMC plant biology**. 2015, 15, 1-14.
- Hussain, A.; Pu, H.; Sun, D. W. Innovative nondestructive imaging techniques for ripening and maturity of fruits—a review of recent applications. **Trends in Food Science & Technology**. 2018, 72, 144-152.
- Jaques, L. B. A.; Coradi, P. C.; Rodrigues, H. E.; Dubal, Í. T. P.; Padia, C. L.; Lima, R. E.; Souza, G. A. C. Post-harvesting of soybean seeds—engineering, processes technologies, and seed quality: a review. **International Agrophysics**. 2022, 36, 59-81.
- Javed, T.; Afzal, I.; Shabbir, R.; Ikram, K.; Zaheer, M. S.; Faheem, M.; Iqbal, J. Seed coating technology: An innovative and sustainable approach for improving seed quality and crop performance. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**. 2022, 21, 536-545.
- Javorski, M.; Cicero, S. M. Utilização de raios x na avaliação da morfologia interna de sementes de sorgo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**. 2017, 16, 310-318.

- Leão-Araújo, É.F.; Gomes-Junior, F.G.; da Silva, A.R.; Peixoto, N.; de Souza, E.R.B.; Evaluation of the desiccation of campomanesia adamantium seed using radiographic analysis and the relation with physiological potential. **Agron. J.** 2019, 111, 592–600.
- Lima, J. M. E.; Smiderle, O. J.; Oliveira, J. A.; Carvalho, M. L. M. D. Técnicas de análise de imagem para caracterização da qualidade de sementes de paricarana (*Bowdichia virgilioides* Kunth). **Ciência Florestal.** 2018, 28, 1202-1216.
- Loureiro, M. B.; Teles, C. A. S.; Colares, C. C. A.; Araújo, B. R. N. D.; Fernandez, L. G.; Castro, R. D. D. Caracterização morfoanatômica e fisiológica de sementes e plântulas de *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae). **Revista árvore.** 2013, 37, 1093-1101.
- Low, S. Signal grass (*Brachiaria decumbens*) toxicity in grazing ruminants. **Agriculture.** 2015, 5, 971–990.
- Magrini, S.; De Vitis, M.; Torelli, D.; Santi, L.; Zucconi, L. Seed banking of terrestrial orchids: evaluation of seed quality in *Anacamptis* following 4-year dry storage. **Plant Biology.** 2019, 21, 544-550.
- Medeiros, A.D. de.; Pinheiro, D.T.; Xavier, W.A.; Silva, L.J. da.; Dias, D.C.F. dos S.; Quality classification of *Jatropha curcas* seeds using radiographic images and machine learning. **Ind. Crops Prod.** 2020, 146, 112162.
- Melo, G. M. D.; Santos, H. O. D.; Oliveira, T. F.; Cunha, A. R. D.; Pereira, A. A. S.; Guaraldo, M. M. D. S. Effect of priming and different types of drying on the physiological quality of *Urochloa ruziziensis* seeds. **Journal of Seed Science.** 2021, 43.
- Mohamed, E.; Kasem, A. M.; Farghali, K. A. Seed germination of Egyptian *Pancratium maritimum* under salinity with regard to cytology, antioxidant and reserve mobilization enzymes, and seed anatomy. **Flora.** 2018, 242, 120-127.
- Pedrini, S.; Stevens, J. C.; Dixon, K. W. Seed encrusting with salicylic acid: a novel approach to improve establishment of grass species in ecological restoration. **Plos one.** 2021, 16, e0242035.
- Santana, S. S.; Brito, L. F.; Azenha, M. V.; Oliveira, A. A.; Malheiros, E. B.; Ruggieri, A. C.; Reis, R. A. Canopy characteristics and tillering dynamics of Marandu palisade grass pastures in the rainy–dry transition season. **Grass and Forage Science.** 2017, 72, 261-270.
- Sousa, G. D.; Pereira, L. S.; Oliveira, G. S.; Silva, J. N.; Costa, E. M.; Silva, H. F.; Jakelaitis, A. Emergência e crescimento de *Urochloa brizantha* cv. Marandu em função do incrustamento da semente e profundidade de semeadura. **Colloquium Agrariae.** 2019, 15, 33-41.

- Souza, J. R. D.; Lacerda, J. D. J.; Morais, O. M.; Silva, J. P. Germinative potential of encrusted seed of tropical forage species. **Ciência Rural**. 2017, 47.
- Valeriano, F. R.; Nery, M. C.; Pinto, N. A. V. D.; de Melo Campos, A. R.; dos Santos Oliveira, A.; Fialho, C. M. T. Morfologia de sementes de gergelim. **Acta Iguazu**. 2019, 8, 23-36.
- Vieira Campos, L.; Almeida Rodrigues, A.; Fátima Sales, J.; Almeida Rodrigues, D.; Carvalho Vasconcelos Filho, S.; Lino Rodrigues, C.; Rubio Neto, A. Radiographic Imaging as a Quality Index Proxy for *Brachiaria brizantha* Seeds. **Plants**. 2022, 11, 1014.
- Xia, Y.; Xu, Y.; Li, J.; Zhang, C.; Fan, S. Recent advances in emerging techniques for non-destructive detection of seed viability: A review. **Artificial Intelligence in Agriculture**. 2019, 1, 35-47.
- Zhao, M.; Lin, Y.; Chen, H. Improving nutritional quality of rice for human health. **Theoretical and Applied Genetics**. 2020, 133, 1397-1413.

### 3. CAPÍTULO I – O revestimento em sementes de *Urochloa brizantha* altera a qualidade fisiológica?

#### RESUMO

O Brasil é o maior produtor, consumidor e exportador mundial de sementes de espécies forrageiras. Para isso, o estabelecimento e produtividade dessa cultura deve ser garantido pela qualidade das sementes. No campo, vários fatores podem influenciar o desempenho dessas sementes, como as condições ambientais predominantes, profundidade de plantio e característica do solo. Para minimizar esses problemas, as propriedades físicas da semente são modificadas pela aplicação exógena de certos compostos físicos, químicos ou biológicos diretamente na superfície de um tegumento natural. Mas, a aplicação desses compostos para exigir das sementes maior qualidade fisiológica no processo de emergência dependendo da profundidade de plantio. Diante desses fatos, objetivou-se avaliar a qualidade fisiológica de sementes de *Urochloa brizantha* (cv. Piatã) revestidas e não revestidas semeadas em diferentes profundidades. Para isso, foram avaliados o índice de velocidade de emergência, massa verde da raiz, massa seca da raiz, massa verde parte aérea, massa seca parte aérea, comprimento parte aérea, e comprimento da raiz, caracterizações anatômicas, fluorescência da clorofila *a*. A profundidade de semeadura afetou o índice de emergência, massa seca da parte aérea, bem como a fluorescência basal, eficiência potencial do PSII, o coeficiente de dissipação fotoquímica e o coeficiente de dissipação não fotoquímica. O revestimento e a profundidade de semeadura promoveram alterações na qualidade fisiológica da semente *Urochloa brizantha* (cv. Piatã).

**PALAVRAS-CHAVE:** Germinação; vigor; profundidade; fluorescência.

#### ABSTRACT

Brazil is the world's largest producer, consumer, and exporter of forage species seeds. To achieve this, the establishment and productivity of this crop must be guaranteed by the seed quality. In the field, several factors can influence the performance of these seeds, such as the prevailing environmental conditions, planting depth and soil characteristics. To minimize these problems, the seed physical properties are modified by the exogenous application of certain physical, chemical, or biological compounds

directly to the surface of a natural seed coat. But the application of these compounds requires greater physiological quality from the seeds in the emergence process depending on the planting depth. Given these facts, the objective was to evaluate the physiological quality of coated and uncoated *Urochloa brizantha* (cv. Piatã) seeds sown at different depths. For this, the emergence speed index, root green mass, root dry mass, shoot green mass, shoot dry mass, shoot length, and root length, anatomical characterizations, and chlorophyll a fluorescence were evaluated. Sowing depth affected the emergence index, shoot dry mass, as well as basal fluorescence, PSII potential efficiency, photochemical dissipation coefficient and non-photochemical dissipation coefficient. The coating and sowing depth promoted changes in the physiological quality of the *Urochloa brizantha* (cv. Piatã) seed.

**KEY WORDS:** Germination; force; depth; fluorescence.

### 3.1 INTRODUÇÃO

O Brasil enfrenta desafios no estabelecimento e manejo de pastagens pela falta de práticas comuns de plantio como profundidade de semeadura, densidade de plantio e adubação. Empresas têm buscado minimizar esses efeitos por meio da utilização de sementes revestidas com fertilizantes, podendo desempenhar papel fundamental no estabelecimento bem-sucedido de plantas forrageiras, fornecendo nutrientes essenciais para auxiliar o crescimento nos estágios iniciais de desenvolvimento da planta (Baroni e Vieira, 2020).

Além disso, é amplamente reconhecido que a demanda por sementes de alta qualidade é fundamental para agricultores e pode impactar positivamente o rendimento da produção agrícola, com potencial de aumento em até 30% (Ellis, 2004; Afzal *et al.*, 2016). No entanto, a qualidade da semente não é a única variável a ser considerada para o sucesso no campo. O intervalo temporal entre a semeadura e o estabelecimento do estande é período crítico, uma vez que as sementes são suscetíveis a uma variedade de estresses bióticos e abióticos, que podem prejudicar o desempenho do estande (Zinsmeister *et al.*, 2020).

No intervalo de tempo entre o plantio e emergência das plântulas, a profundidade inadequada da semeadura, ou seja, abaixo de 1 cm e acima de 4 cm (Castaldo *et al.*, 2016; Schmoeller *et al.*, 2019), constitui um dos principais fatores que

influenciam no estabelecimento das plântulas no campo (Martins *et al.*, 2022), interferindo no processo de emergência, pois, quando a profundidade de semeadura é superior a recomendada, ocorre o processo de germinação, porém, as plântulas não conseguem romper a barreira do solo. Todavia, quando a semeadura é mais superficial, as sementes ficam expostas a superfície do solo, e encontram maiores dificuldade para absorver água, a superfície de contato da semente com o solo é menor (Dias-Filho, 2012; Santos *et al.*, 2020; Martins *et al.*, 2022).

A crescente demanda por pastagens de alta qualidade e rendimento, em conjunto com a sofisticação do setor agropecuário, leva a aprimoramentos tecnológicos incentivados pelo novo perfil dos agricultores e pecuaristas no Brasil. Dentre essas melhorias, destaca-se a técnica de revestimento de sementes (França-Neto, 2019). Essa prática consiste na formação de uma película em torno da semente, por meio da agregação de materiais inertes de origem organomineral, material adesivo, defensivos agrícolas, nutrientes, corantes ou outros aditivos que exercem a função de acoplar as partículas do material de incrustamento, proporcionando aderência e, conseqüentemente, garantindo a qualidade e a integridade fisiológica e física das sementes (Ferreira *et al.*, 2015; Sousa *et al.*, 2019; Melo *et al.*, 2021). A adoção dessa técnica pode ser vista como importante estratégia para melhorar a produtividade e a qualidade das pastagens, satisfazendo as necessidades dos produtores e contribuindo para o avanço do setor agropecuário no país.

Neste estudo foi utilizado sementes do gênero *Urochloa sp.* a espécie forrageira mais cultivada no Brasil, ocupando aproximadamente 85% das áreas de pastagem no país (Cardoso *et al.*, 2014; La Vale *et al.*, 2017). Com base no conhecimento existente sobre a fisiologia das sementes e a germinação de plantas forrageiras, formulamos a hipótese de que a profundidade de plantio dessas sementes revestidas pode influenciar significativamente a taxa e o tempo de emergência das plântulas. Esta hipótese é testada neste estudo através da avaliação da qualidade fisiológica de sementes de *Urochloa brizantha* (cv. Piatã) revestidas e não revestidas semeadas em diferentes profundidades.

### **3.2 MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Sementes do IF Goiano – Campus Rio Verde, GO, Brasil. As sementes comerciais utilizadas foram *Urochloa brizantha* (cv. Piatã) revestidas e não revestidas.

O peso de 1000 sementes foi obtido a partir de oito repetições de 1000 sementes de *Urochloa brizantha* (cv. Piatã) pesadas em balança de precisão de acordo com as regras de análise de sementes estabelecidas (Mahjan *et al.*, 2018).

O teor de água foi determinado pela secagem das sementes em estufa a  $105 \pm 3$  °C por 24 h, adaptada de acordo com Brasil (2009), utilizando quatro repetições de 50 sementes, correspondendo a 4,5 g. As sementes foram pesadas em balança analítica (precisão de 0,001 g) e os cálculos foram realizados de acordo com a seguinte equação:

$$Pf = Peu \cdot \left( \frac{100 - T Eu}{100 - T Af} \right) \quad (1)$$

sendo *Pf*: massa final da amostra (g); *Pi*: massa inicial da amostra (g); *TAi*: teor inicial de água da semente (% base úmida); *TAf*: teor de água desejado (% base úmida).

O teste de germinação foi realizado em folhas de papel mata-borrão umedecidas com água destilada a 2,5 vezes a massa do substrato seco, com quatro repetições contendo 50 sementes. Os rolos foram mantidos em câmara de germinação do tipo B.O.D. (*Biochemical Oxygen Demand*) regulada com fotoperíodo de 8 horas com iluminação e 16 horas sem iluminação a temperatura de 35-°C (Brasil, 2009).

A emergência das plântulas em substrato de areia foi conduzida com 4 subamostras de 50 sementes para cada tratamento e repetição. A areia utilizada foi previamente lavada, esterilizada com brometo de metila e colocada em bandejas plásticas, sendo irrigada durante dois dias consecutivos para acomodação do leito. Na semeadura foram abertos sulcos longitudinais em cada bandeja, com auxílio de sulcador de madeira. O teste foi realizado em condições de casa de vegetação e a umidade mantida com irrigações moderadas, no mesmo período em que foram conduzidos os testes em laboratório. Foram efetuadas anotações diárias do número de plântulas emergidas até que o número se mantivesse constante. Ao final do décimo terceiro dia, após a semeadura das sementes, quando não foi observada emergência de novas plântulas, avaliou-se a porcentagem de plântulas normais conforme as prescrições contidas nas Regras para Análises de Sementes (Brasil, 2009).

A porcentagem de plântulas germinadas normais (representadas por plântulas que apresentam todas as estruturas essenciais desenvolvidas, ou seja, sistema radicular, parte aérea e coleóptilo) foi computada na primeira contagem de germinação no 7º dia

(G7) e na contagem final no 21º dia (G21). As contagens finais incluíram plântulas normais, plântulas anormais (aquelas que não apresentam potencial para continuar seu desenvolvimento e dar origem a plantas normais, mesmo crescendo em condições favoráveis), sementes duras (sementes que não absorvem água por período maior que o normal) e, aparecem como sementes recém-colocadas no substrato, não inchadas ao final do teste), e sementes mortas (sementes que estão amolecidas, não apresentam nenhum sinal de germinação e não germinam ao final do teste) (Brasil, 2009).

Para a caracterização morfoanatômicas foram amostradas 10 plântulas coletadas das profundidades (0; 2; 4 e 6 cm) foram fixadas em solução Karnovsky (1965), seguidas de pré-lavagem em tampão fosfato e desidratação em série etílica crescente e, por fim, pré-infiltração e infiltração de historesina (Leica, Wetzlar, Alemanha), de acordo com as recomendações do fabricante.

Para as avaliações estruturais, as amostras foram seccionadas em 7 µm de espessura em um micrótomo rotativo de mesa (1508R, Logen Scientific, Xangai, China) e coradas com azul de toluidina (O'Brien *et al.*, 1964). As observações foram realizadas na região das folhas e as imagens foram fotografadas usando um microscópio Olympus (BX61, Tóquio, Japão) acoplado a uma câmera DP-72 usando a opção de campo claro.

A fluorescência transiente OJIP da Clorofila *a* foi determinada com o uso de fluorômetro portátil FluorPen FP100 (Photon Systems Instruments; Drasov, Czech Republic). As folhas jovens, completamente expandidas, não destacadas, foram previamente adaptadas ao escuro por 30 minutos para oxidação completa do sistema fotossintético de transporte de elétrons. Foram medidas a fluorescência mínima (Fo) em 50 µs quando todos os centros de reação do FSII estão abertos e é definido como o passo O, seguida pelo passo J (a 2 ms), o passo I (a 30 ms) e a fluorescência máxima (Fm) quando todos os centros de reação FSII estão fechados, conhecido como passo P. Estes valores foram utilizados para calcular vários índices bioenergéticos do FSII, conforme Strasser *et al* (2000).

Os dados quantitativos foram primeiramente submetidos às avaliações de homogeneidade (teste de Levene) e normalidade dos erros (teste de Shapiro-Wilk). Confirmada a normalidade dos dados, foi aplicado o teste ANOVA seguido do teste Scott-Knott. \* indica  $p < 0,05$  e \*\*,  $p < 0,01$ . As análises estatísticas referentes ao teste de média foram realizadas por meio do software Assistat®.

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos resultados apresentados na Tabela 1, pode-se observar que as plântulas foram afetadas tanto pela profundidade quanto pelo revestimento das sementes em termos de índice de velocidade de emergência, massa verde parte aérea e massa seca parte aérea. Além disso, o revestimento das sementes também teve impacto na massa seca da raiz. Por outro lado, a profundidade de semeadura afetou o comprimento da parte aérea e da raiz. Em resumo, os dados indicam que tanto a profundidade quanto o revestimento das sementes podem influenciar o desenvolvimento e o crescimento das plântulas.

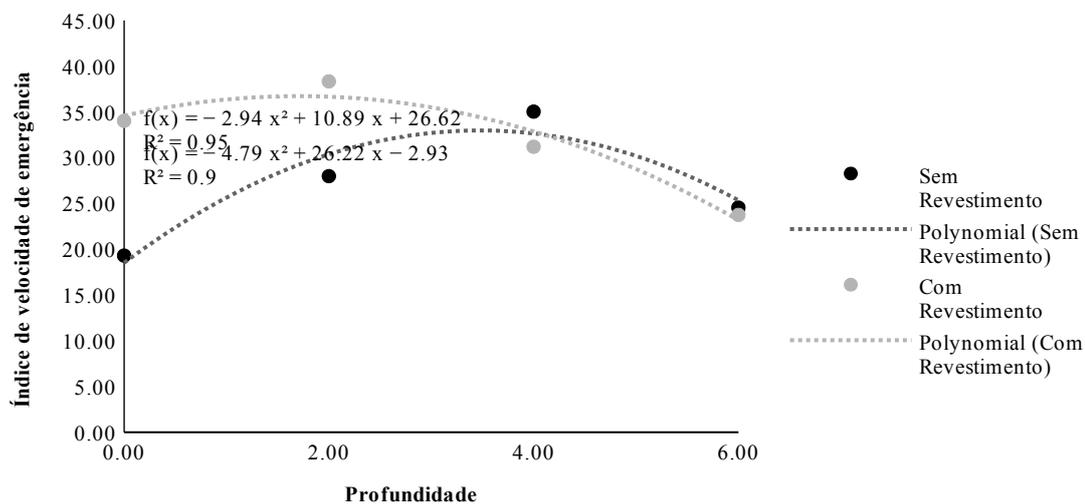
**Tabela 1. Índice de velocidade de emergência (IVE), massa verde da raiz (MVR), massa seca da raiz (MSR), massa verde parte aérea (MVF), massa seca parte aérea (MSF), comprimento parte aérea (CPA) e comprimento da raiz (CPR), *Urochloa brizantha* cv. Piatã.**

FV	GL	QM			
		IVE	MVR	MSR	MVF
Profundidade	3	167,6996 **	0,0084 <sup>ns</sup>	0,0094 <sup>ns</sup>	0,0785 *
Revestimento	1	208,6924 **	0,1009 <sup>ns</sup>	0,1233 **	0,0946 *
Profundidade x Revestimento	3	156,4983 <sup>ns</sup>	0,0034 <sup>ns</sup>	0,0088 <sup>ns</sup>	0,0172 <sup>ns</sup>
Resíduo	24	25,4377	0,0329	0,0040	0,0191
CV (%)		17,24	14,00	5,51	10,27
FV	GL	Quadrados médios			
		MSF	CPA	CPR	
Profundidade	3	0,0535 *	141,0603 **	46,8161 **	
Revestimento	1	0,1076 **	5,6953 <sup>ns</sup>	5,5278 <sup>ns</sup>	
Profundidade x Revestimento	3	0,0026 <sup>ns</sup>	0,8536 <sup>ns</sup>	0,8186 <sup>ns</sup>	
Resíduo	24	0,0129	3,8998	3,7184	
CV (%)		9,42	17,92	25,11	

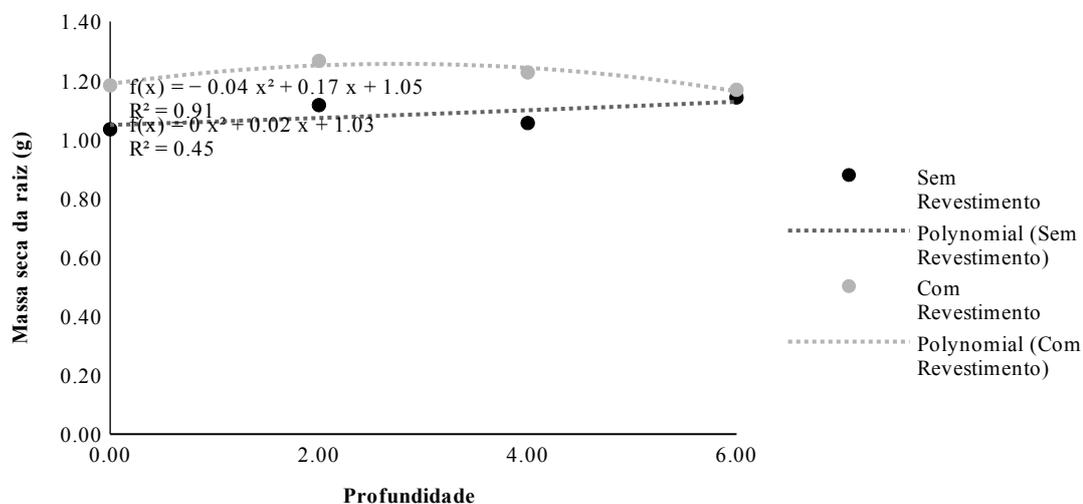
<sup>ns</sup> não significativo e \*, \*\* significativo respectivamente a 5 e 1% de probabilidade segundo teste F. FV – Fonte de variação; GL – Grau de Liberdade; QM – Quadrados médios; e CV – Coeficiente de Variação.

As sementes com revestimento apresentaram o maior índice de velocidade emergência. Sementes de Piatã sem revestimento apresentaram índice médio de 26,71%, todavia, sementes de Piatã com revestimento apresentaram índice médio de 31,81%. As sementes semeadas a profundidade de 2 cm, apresentaram os maiores índice de velocidade emergência (Figura 1A). As sementes do cultivar Piatã com revestimento apresentaram a maior massa seca da raiz. Sementes de Piatã sem revestimento apresentaram uma massa seca da raiz média de 1,09 g, todavia, sementes de Piatã com revestimento apresentaram massa seca da raiz média de 1,21 g (Figura 1B).

A)



B)



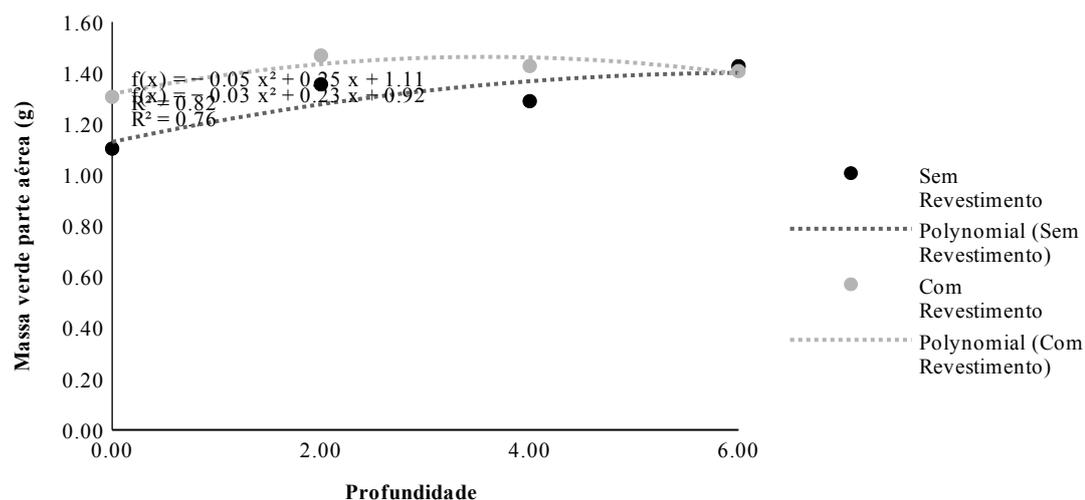
**Fig. 1. A) Valores médios para o índice de velocidade de emergência (IVE), *Urochloa brizantha* cv. Piatã; B) Valores médios para a massa seca da raiz (MSR), *Urochloa brizantha* cv. Piatã.**

\*\* significativo a 1% de probabilidade segundo teste F.

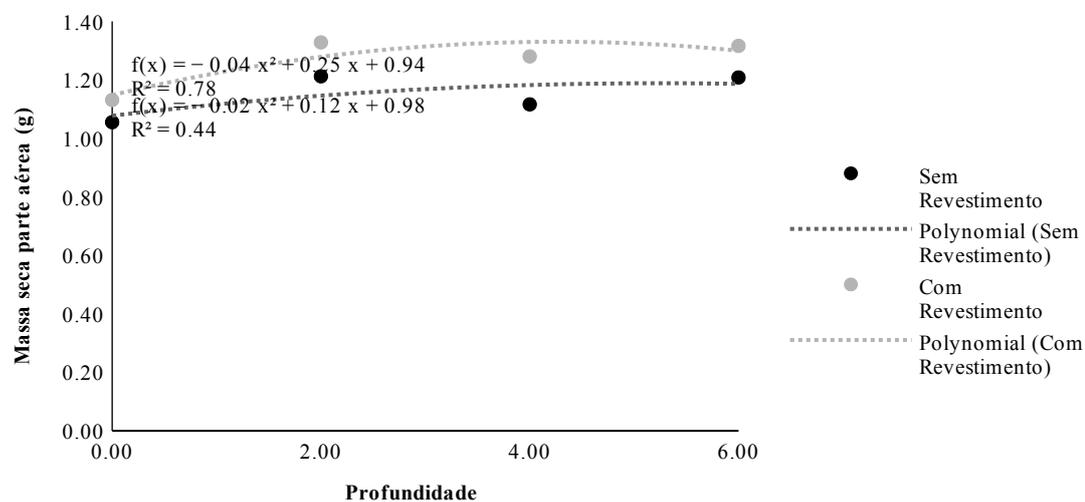
As sementes com revestimento apresentaram incremento de 11 g na massa verde de parte aérea. As sementes de Piatã sem revestimento apresentaram massa verde de

parte aérea média de 1,29 g, já as sementes de Piatã com revestimento apresentaram massa seca da raiz média de 1,40 g (Figura 2A). As sementes do cultivar Piatã com revestimento e semeadas em maior profundidade apresentaram os maiores valores de massa seca de parte aérea (Figura 2B).

A)



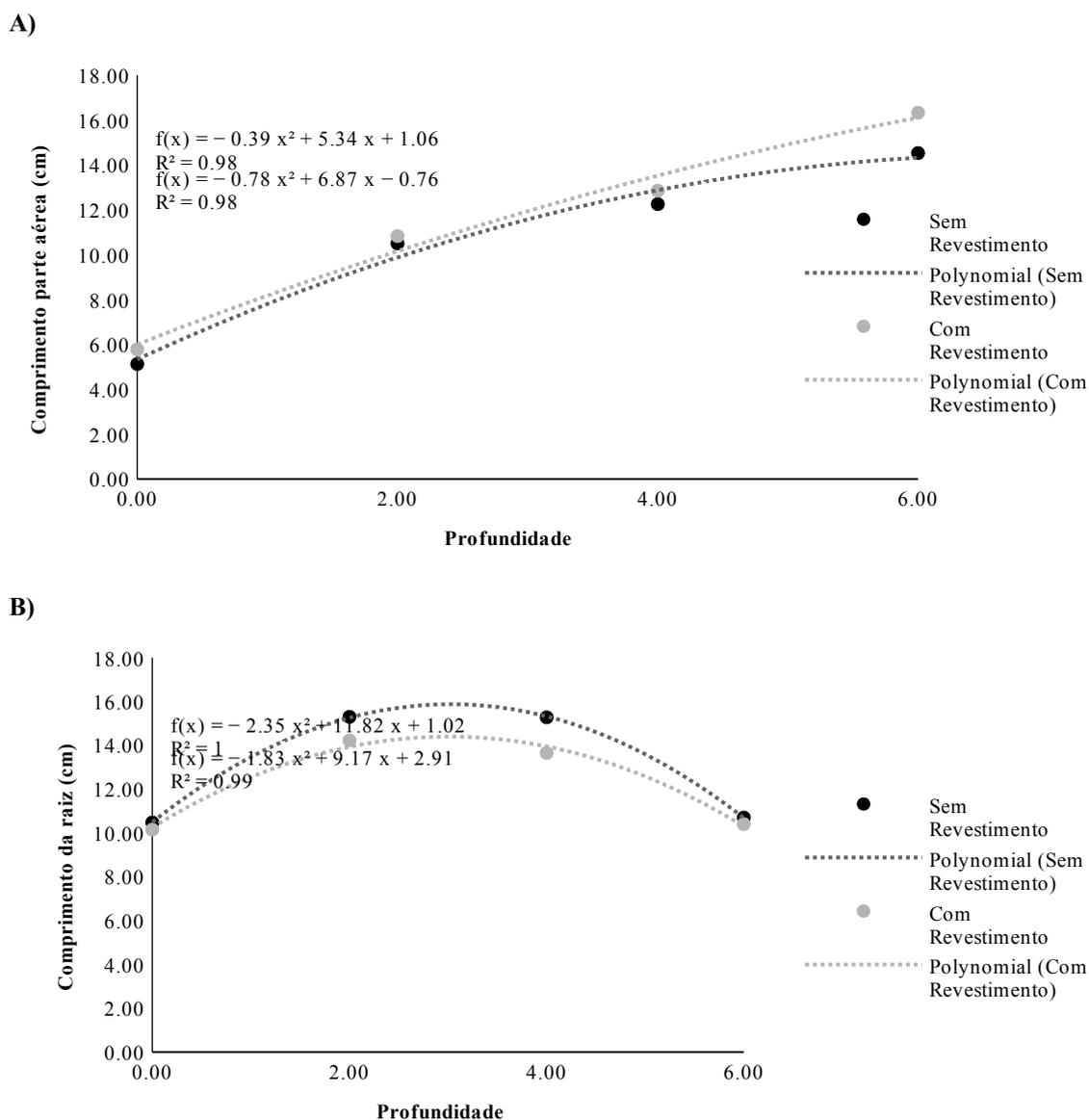
B)



**Fig. 2. A) Valores médios para a massa verde parte aérea (MVF), *Urochloa brizantha* cv. Piatã; B) Valores médios para a massa seca parte aérea (MSF), *Urochloa brizantha* cv. Piatã.**

\*\* significativo a 1% de probabilidade segundo teste F.

As sementes semeadas a 6 cm de profundidade apresentaram os maiores valores no comprimento parte aérea. A profundidade de 2 cm influenciou no aumento do comprimento das raízes (Figura 3A e 3B).



**Fig. 3. A) Valores médios para o comprimento parte aérea (CPA); B) Valores médios para o comprimento da raiz (CPR), *Urochloa brizantha* cv. Piatã.**

\*\* significativo a 1% de probabilidade segundo teste F.

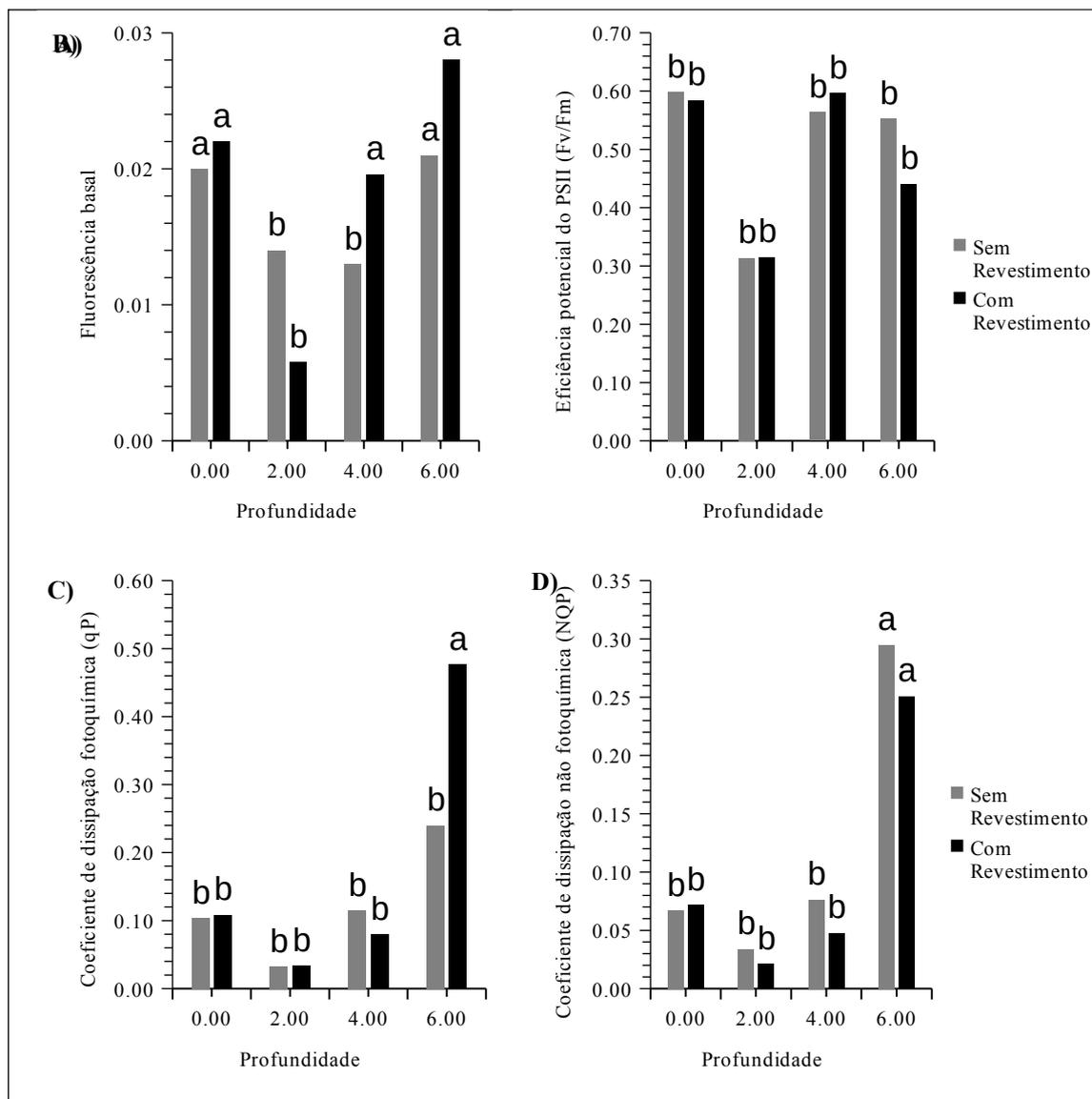
A fluorescência basal, eficiência potencial do PSII, coeficiente de dissipação fotoquímica e o coeficiente de dissipação apresentaram efeito significado em função da profundidade de semeadura (Tabela 2). O revestimento não apresentou efeito significativo.

**Tabela 2. Fluorescência basal ( $F_0$ ), eficiência potencial do PSII ( $F_v/F_m$ ), coeficiente de dissipação fotoquímica ( $q_p$ ) e coeficiente de dissipação não fotoquímica (NPQ), *Urochloa brizantha* cv. Piatã.**

FV	GL	QM	
		$F_0$	$F_v/F_m$
Profundidade	3	0,0003 **	0,1311 *
Revestimento	1	0,0001 <sup>ns</sup>	0,0042 <sup>ns</sup>
Profundidade x Revestimento	3	0,0001 <sup>ns</sup>	0,0078 <sup>ns</sup>
Resíduo	24	0,0001	0,0371
CV (%)		38,50	38,88
FV	GL	Quadrados médios	
		$q_p$	NPQ
Profundidade	3	0,1651 **	0,0994 **
Revestimento	1	0,0218 <sup>ns</sup>	0,0033 <sup>ns</sup>
Profundidade x Revestimento	3	0,0311 <sup>ns</sup>	0,0008 <sup>ns</sup>
Resíduo	24	0,0153	0,0149 <sup>ns</sup>
CV (%)		83,10	113,03

<sup>ns</sup> não significativo e \*, \*\* significativo respectivamente a 5 e 1% de probabilidade segundo teste F. FV – Fonte de variação; GL – Grau de Liberdade; QM – Quadrados médios; e CV – Coeficiente de Variação.

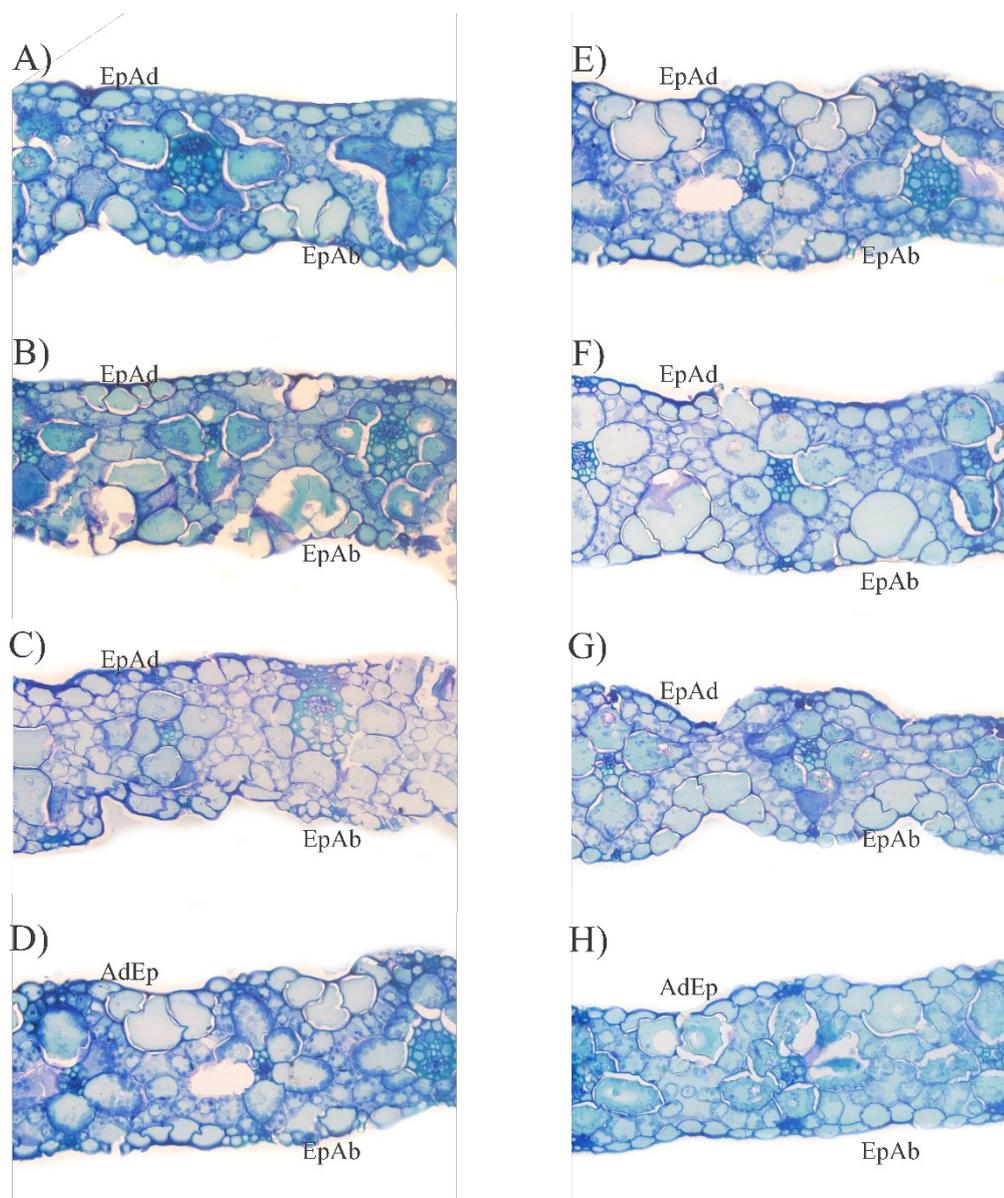
A profundidade de semeadura de 4 cm, proporcionou o maior incremento na  $F_v/F_m$  (Figura 4B). A profundidade de semeadura acima de 4 cm, proporcionou o maior incremento no coeficiente de dissipação fotoquímica (Figura 4C). As sementes semeadas a profundidade de 6 cm apresentaram os maiores NPQ (Figura 4D) e o maior índice de fluorescência basal (Figura 4A).



**Fig. 4. Valores médios para: A) Fluorescência basal ( $F_0$ ); B) Eficiência potencial do PSII ( $F_v/F_m$ ); C) Coeficiente de dissipação fotoquímica ( $q_P$ ); D) Coeficiente de dissipação não fotoquímica (NPQ), *Urochloa brizantha* cv. Piatã.**

Com base na Figura 5, pode observar que as plântulas foram afetadas tanto pela profundidade quanto pelo revestimento das sementes em termos morfoanatômicos. As sementes de *Urochloa brizantha* cv. Piatã semeadas com revestimentos (Figura 5 E, F, G e H) apresentaram células buliformes maiores em relação as sementes sem revestimento (Figura 5 A, B, C e D). Sementes sem revestimento semeadas na profundidade de 0,0; 2,0; 4,0 cm, tiveram pouca alteração na espessura da epiderme adaxial (Figura 5 A, B e C). As maiores espessuras da epiderme adaxial foram observadas em plântulas oriundas de sementes com revestimento semeadas a

profundidade de 0,0 e 6,0 cm (Figura 5 F-H). A profundidade de 2,0 cm independente do revestimento promoveu as maiores alterações na epiderme abaxial (Figura 5 B-F).



**Fig. 5.** Alterações anatômicas nas folhas de *Urochloa brizantha* cv. Piatã semeadas sem revestimentos semeadas a diferentes profundidades (A) 0,0 cm (B) 2,0 cm, (C) 4,0 cm e (D) 6,0 cm; Sementes semeadas com revestimentos semeadas a diferentes profundidades (E) 0,0 cm (F) 2,0 cm, (G) 4,0 cm e (H) 6,0 cm. Epiderme adaxial (EpAd), Epiderme abaxial (EpAb).

Os resultados obtidos por Schmoeller *et al.* (2019) corroboram com o presente estudo, e as sementeiras próximas de 0 cm de profundidade, proporcionaram maior índice de emergência, durante o processo de germinação as plântulas conseguem

emergir com mais facilidade, além da demanda menor de energia quando comparada a profundidade maiores de semeadura (Zuffo *et al.*, 2014; Martins *et al.*, 2022).

Resultados divergentes relacionados ao índice de emergência de sementes de *Urochloa brizantha* Xaraés foram observados por Derré *et al.* (2016) e as plântulas provenientes de sementes revestidas apresentaram os menores valores de IVE, quando comparadas com as sementes sem revestimento. Tal efeito, pode ser explicado, uma vez que o polímero utilizado no revestimento pode influenciar nas trocas gasosas, dificultando a respiração da semente, além de interferir na absorção de água, por causa das características do material utilizado no revestimento das sementes (Sousa *et al.*, 2019).

A profundidade de semeadura pode promover alterações na qualidade fisiológica resultando em alterações bioquímicas importantes, como exsudação do teor de carboidratos. Derré *et al.* (2016) em seu estudo com a *U. brizantha* cv Marandu, observaram que o polímero utilizado no incrustamento pode influenciar na fisiologia da semente.

Relacionado ao desenvolvimento inicial da *U. brizantha* Piatã, os resultados do presente estudo divergem dos resultados observados por Derré *et al.* (2016), e os autores observaram que as sementes com revestimento apresentaram os menores valores de massa seca de parte aérea. Todavia, tal efeito pode ser atribuído ao material utilizado no revestimento das sementes, uma vez que sementes revestidas dependendo do material pode deteriorar mais rapidamente do que as sementes sem o revestimento, pois, logo após o revestimento pode ocorrer a redução da qualidade dessas sementes, principalmente quando as sementes são armazenadas em embalagens permeável (Oliveira *et al.*, 2014; Ferreira *et al.*, 2015).

O baixo comprimento da raiz em função do aumento da profundidade pode ser justificado, em função do aumento da profundidade de semeadura, as sementes podem promover alterações na qualidade fisiológica resultando em alterações bioquímicas importantes (Vieira Campos *et al.*, 2022), alterando a germinação, emergência, crescimento aéreo e radicular (Martins *et al.*, 2022). A fluorescência de clorofila vem sendo empregada, uma vez que corrobora com o bom funcionamento fisiológico das plantas e ainda é usada como indicativo de bom desempenho fisiológico de sementes durante a germinação (Zhang *et al.*, 2012). Ferreira *et al.* (2015) corroboram com o presente estudo, uma vez que os autores verificaram que o revestimento das sementes de *Urochloa* reduz a germinação, emergência e o índice de velocidade de emergência.

### 3.4 CONCLUSÕES

A profundidade de semeadura em areia próxima a 0 cm resultou em maior germinação da *Urochloa brizantha* Piatã. O revestimento das sementes afetou negativamente o índice de emergência e a massa seca da parte aérea, possivelmente pela interferência na respiração e na absorção de água. A redução do comprimento da raiz com o aumento da profundidade de semeadura pode ser explicada pela alteração da qualidade fisiológica da semente. Portanto, descobriu-se neste estudo a importância de considerar tanto a profundidade quanto o revestimento das sementes ao realizar semeaduras dessa espécie.

### 3.5 REFERÊNCIAS

- Afzal, I.; Rehman, H.U.; Naveed, M.; Basra, S.M.A. Recent advances in seed enhancements. In *New Challenges in Seed Biology-Basic and Translational Research Driving Seed Technology*; InTechOpen: London, UK, 2016; pp. 47–74.
- Baroni, D. F.; Vieira, H. D. Coating seeds with fertilizer: A promising technique for forage crop seeds. **Ciência e Agrotecnologia**. 2020, 44, e013720.
- Cardoso, E. D.; Sá, M. E.; Haga, K. I.; Silva Binotti, F. F.; Nogueira, D. C.; Valério Filho, W. V. Desempenho fisiológico e superação de dormência em sementes de *Brachiaria brizantha* submetidas a tratamento químico e envelhecimento artificial. **Semina: Ciências Agrárias**. 201, 35, 21-37.
- Castaldo, J.H.; Sorace, M.; Nolla, A.; Mota-Neto, L.V. Germination and development of *brachiaria* seedling in textures of soil and sowing depth. **Scientific Electronic Archives**, 2016, 9, 34-38.
- Derré, L. O.; Abrantes, F. L.; Aranda, E. A.; Feitosa, E. M.; Custódio, C. C. Embebição e profundidade de semeadura de sementes não revestidas e revestidas de forrageiras. **Colloquium Agrariae**. 2016, 12, 19-31.
- Ellis, R.H. Seed and seedling vigor in relation to crop growth and yield. *J. Plant Growth Regul.* 2004, 11, 249–255. [CrossRef]
- Ferreira, V. F.; Ferreira, T. F.; Carvalho, R. A.; Rosa Mavaieie, D. P.; Pereira, D. S.; Oliveira, J. A. Qualidade fisiológica de sementes revestidas de braquiária híbrida cv. Mulato II. **Revista Agro@mbiente On-line**. 2015, 9, 161-166.

- França-Neto, J. D. B.; Krzyzanowski, F. C. Tetrazólio: um teste de importância para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes. **Journal of Seed Science**. 2019, 41, 359-366.
- Karnovsky, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy, **Journal of Cell Biology**. 1965, 27, 137A-138A.
- La Vale, R. M. R.; Segato, S. B.; Nagano, N. R.; Bettio, D. P. Germinação de *Urochloa brizantha* cv. Marandu após o tratamento das sementes com fungicida e escarificação mecânica. **Colloquium Agrariae**. 2017, 13, 88-92.
- Mahajan, S.; Mittal, S.K.; Das, A. Machine vision based alternative testing approach for physical purity, viability and vigour testing of soybean seeds (*Glycine max*). **Journal of food science and technology**. 2018, 55, 3949–3959.
- Martins, V. D. L., Moraes, L. M., Costa, S. D. A. D., Lage Filho, N. M., SILVA, G. B. D., Domingues, F. N., Silva, T. C. (2022). Effects of sowing depth and inoculation with *Pseudomonas fluorescens* on the initial growth of *Urochloa brizantha* (syn *Brachiaria brizantha*) cv. Marandú. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, 23.
- Melo, G. M. D.; Santos, H. O. D.; Oliveira, T. F.; Cunha, A. R. D.; Pereira, A. A. S.; Guaraldo, M. M. D. S. Effect of priming and different types of drying on the physiological quality of *Urochloa ruziziensis* seeds. **Journal of Seed Science**. 2021, 43.
- O'Brien, T.P.; Feder, N.; Mccully, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**. 1964, 59, 368–373.
- Oliveira, E. P. D., Silveira, L. P. D. O., Teodoro, P. E., Ascoli, F. G., & Torres, F. E. Efeito do sombreamento e do incrustamento de sementes sobre o desenvolvimento de cultivares de *Panicum maximum* Jacq. **Bioscience Journal**. 2014, 1682-1691.
- Regras Para Análise de Sementes**; Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Coordenação de Laboratório Vegetal: Brasília, Brasil, 2009; ISBN 978-85-99851-70-8.
- Santos, L. D. C.; Benett, C. G. S.; Silva, K. S.; Silva, L. V. Germinação de diferentes tipos de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. BRS Piatã. **Bioscience Journal**. 2011, 27, 420-426.
- Santos, A.; Silva, C. F.; Gama-Rodrigues, E. F.; Gama-Rodrigues, A. C.; Sales, M.; Faustino, L. L.; Barreto-Garcia, P. A. B. Glomalin in soil aggregates under different forest and pasture systems in the North of Rio de Janeiro state, Brazil. **Environmental and Sustainability Indicators**. 2020, 8, 100088.

- Schmoeller, G. R.; Santos, E.; Almeida, K. D. O.; Ribeiro, F. L. A.; Silva, A.; Martins, Z. L.; Oliveira, J. Influence of Sowing Depth in the Emergence of *Urochloa* and *Panicum*. **Journal of Agricultural Science**. 2019, 11, 231-238.
- Sousa, G. D.; Pereira, L. S.; Oliveira, G. S.; Silva, J. N.; Costa, E. M.; Silva, H. F.; Jakelaitis, A. Emergência e crescimento de *Urochloa brizantha* cv. Marandu em função do incrustamento da semente e profundidade de semeadura. **Colloquium Agrariae**. 2019, 15, 33-41.
- Strasser, H.; Vey, A.; Butt, T. M. Are there any risks in using entomopathogenic fungi for pest control, with particular reference to the bioactive metabolites of *Metarhizium*, *Tolypocladium* and *Beauveria* species?. **Biocontrol Science and technology**. 2000, 10, 717-735.
- Vieira Campos, L.; Almeida Rodrigues, A.; Fátima Sales, J.; Almeida Rodrigues, D.; Carvalho Vasconcelos Filho, S.; Lino Rodrigues, C.; Rubio Neto, A. Radiographic Imaging as a Quality Index Proxy for *Brachiaria brizantha* Seeds. **Plants**. 2022, 11, 1014.
- Zhang, Z.; Wu, J.; Xi, Y.; Zhang, L.; Gao, Q.; Wang-Pruski, G. Effects of autotoxicity on seed germination, gas exchange attributes and chlorophyll fluorescence in melon seedlings. **Journal of Plant Growth Regulation**. 2022, 1-11.
- Zinsmeister, J.; Leprince, O.; Buitink, J. Molecular and environmental factors regulating seed longevity. **Biochem. J**. 2020, 477, 305–323.
- Zuffo, A. M., Andrade, F. R., Silva, L. M. A. D., Menezes, K. O. D., Silva, R. L. D., & Piauilino, A. C. Profundidade de semeadura e superação de dormência no crescimento inicial de sementes de *Brachiaria dictyoneura* (Fig. & De Not.) Stapf (1919) cv. Llanero. **Revista Ceres**. 2014, 61, 948-955.

#### 4. CAPÍTULO II – Imagens radiográficas como índice de qualidade em sementes de espécies de *Brachiaria brizantha*.

Publicado em 08 de abril de 2022, no periódico Plants.

Vieira Campos, L.; Almeida Rodrigues, A.; Fátima Sales, J.; Almeida Rodrigues, D.; Carvalho Vasconcelos Filho, S.; Lino Rodrigues, C.; Rubio Neto, A. Radiographic Imaging as a Quality Index Proxy for *Brachiaria brizantha* Seeds. **Plants**. 2022, 11, 1014.

##### **RESUMO**

Metodologias eficientes de avaliação da qualidade das sementes de forma automatizada são importantes para a indústria de sementes. A pesquisa de tecnologia avançada de sementes requer o uso de métodos para assegurar o bom desempenho de sementes em condições ambientais adversas, oferecer ao produtor informações detalhadas sobre a integridade estrutural de semente de forma rápida e precisa, garantindo a produção vigorosa. Visando responder essa problemática, objetivou-se determinar a qualidade de sementes de *Brachiaria brizantha* (cv. Marandu, cv. Piatã e cv. Xaraés) por meio de análise de imagens radiográficas relacionadas com testes de vigor, e caracterização anatômica. Inicialmente foram selecionados cultivares de sementes de braquiária com diferentes atributos físicos e fisiológicos que posteriormente foram submetidos aos testes de massa de 1000 sementes, teor de água, análise de raios X, teste de germinação e caracterização anatômica. O teste de raios X permitiu estabelecer a relação entre os demais testes realizados nas sementes de braquiárias. As imagens permitiram evidenciar danos internos e externos que posteriormente podem comprometer a germinação. Entre as cultivares analisadas, a Marandu e a Piatã foram as que apresentaram maiores porcentagem de germinação, índice de velocidade de germinação, plântulas normais e preservação das estruturas celulares em relação a cultivar Xaraés. A utilização da análise de raios X é eficiente na seleção de cultivares com maior qualidade física, e pode auxiliar na tomada de decisão de empresas e produtores de sementes em todo o mundo.

**PALAVRAS-CHAVE:** análise de imagens, germinação, qualidade física de sementes, raios X, vigor

## 4.1 INTRODUÇÃO

As pastagens ocupam cerca de 80% das terras agrícolas em todo o mundo e representam ampla gama de ecossistemas (Bosi *et al.*, 2020). Em 2015, a área total de pastagem era de 2,7 bilhões de ha. A África tem a maior área, de aproximadamente 889 milhões de ha, seguida pela China (~506 milhões de ha), sendo o Brasil com aproximadamente (196 milhões de ha) de áreas cultivadas com pastagens (Goldewijk *et al.*, 2017). Nesse cenário, as *Brachiaria spp.* Destacam-se, sendo uma espécie originada da África Oriental, também é conhecida como grama-sinal, com base na semelhança da estrutura da cabeça da flor com um sinal ferroviário (Low, 2015) Essas gramíneas têm sido utilizadas no Brasil na produção de biomassa, para alimentação de animais e cobertura do solo para o plantio direto, aumentando a eficiência do uso da terra (Mateus *et al.*, 2016) e melhorando a fertilidade do solo (Crusciol *et al.*, 2015).

Conforme a área de cultivo aumenta, a demanda por sementes de alta qualidade também cresce, as exigências na qualidade de sementes tornaram peça fundamental para o desenvolvimento na produção de forrageiras no mundo. Portanto, abordagens inovadoras são necessárias para resolver problemas de produção de alimentos e sustentabilidade nunca experimentados (Foley *et al.*, 2011). Isso tem levado a indústria de sementes a aprimorar constantemente para melhorar a produção e a padronização dos lotes de sementes, visando obtenção e venda de sementes com elevado potencial fisiológico. Nesse cenário, as sementes utilizadas para o estabelecimento dos campos de produção constituem parte fundamental desta problemática e, em muitas culturas agrícolas, a estabilidade e uniformidade estão estritamente relacionadas com o rendimento no final do ciclo (Medeiros *et al.*, 2020).

Visando aumentar a qualidade dos lotes de sementes, algumas características devem ser observadas. As sementes durante o processo de colheita e armazenamento, podem sofrer alterações nas características físicas, alterando a anatomia das células, incluindo a inativação enzimática (Souza *et al.*, 2018). As alterações que estão ocorrendo a nível celular, podem ser acompanhadas através de testes de germinação, emergência, condutividade elétrica, e o uso de técnicas anatômicas que neste estudo são empregadas como ferramentas indicadoras da

qualidade fisiológica das sementes, essa metodologia demonstra ser promissora e trará novas informações no estudo de deterioração das sementes armazenadas.

Por outro lado, embora a utilização de testes tradicionais aplicados de forma independente na avaliação de qualidade de sementes produza resultados confiáveis. Os métodos de teste de sementes de braquiária baseiam-se principalmente no clássico teste de tetrazólio para estimar o potencial fisiológico dos lotes de sementes. Em geral, esse método é destrutivo, demorado e influenciado pela subjetividade do analista. Diante disso, faz-se necessário a inclusão de novas tecnologias e principalmente processos não destrutivos de elevado desempenho e rapidez para avaliar a qualidade de sementes.

Em lotes de sementes de braquiária, é possível observar alta porcentagem com diferenciação de preenchimento, isso está diretamente relacionado com a qualidade das sementes. É evidente que a morfologia da semente desempenha papel significativo no crescimento de mudas saudáveis e uniformes (Meng *et al.*, 2016). Alterações na formação e preenchimento das sementes de braquiária poderão ocasionar a formação de plântulas anormais. Dentre as tecnologias ópticas oferecidas, a análise de imagens de raios X de forma automatizada torna-se ferramenta altamente necessária, pela precisão, que possibilita detectar sementes danificadas ou malformadas.

A análise de imagem por raios X é uma técnica utilizada para avaliação de estruturas internas das sementes, bem como características do tegumento, que permitam prever a probabilidade de desempenho fisiológico, identificar alterações que indiquem a produção de órgãos anormais e suas consequências inevitáveis durante o cultivo no campo, permitindo o reconhecimento de padrões, gerenciamento de dados, fornecendo análises de amostras precisas, rápidas e não destrutivas (Xia *et al.*, 2019). No entanto, o uso das imagens radiografadas para a avaliação de commodities agrícolas está em estágio preliminar, e necessita de mais estudos para determinação de parâmetros de qualidade de lotes de sementes (Ahmed *et al.*, 2018).

Nesse sentido, a hipótese dessa pesquisa é identificar parâmetros de qualidade de diferentes cultivares de sementes de braquiária por meio de análises de imagens correlacionadas com testes fisiológicos e anatômicos. Objetivou-se avaliar a qualidade fisiológica de sementes de braquiária utilizando métodos automatizados de análise de imagens de raios X, comparando com germinação e

caracterização anatômica, com finalidade de seleção de lotes de sementes de forma rápida e eficaz.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.2.1. Instalações dos ensaios

O experimento foi conduzido no Laboratório de Sementes, do IF Goiano – Campus Rio Verde, GO. Foram utilizadas sementes comerciais puras não revestidas da espécie *Brachiaria Brizantha* (cv. Marandu, cv. Piatã e cv. Xaraés) da safra 2020.

### 4.2.2. A Massa de 1000 Sementes

Foi obtida a partir de oito repetições de 1000 sementes para cada variedade estudada, as quais foram pesadas em balança de precisão, conforme as regras para análise de sementes (Brasil, 2009).

### 4.2.3 Teor de Água

O teor de água inicial das sementes foi determinado pelo método de estufa a  $105\pm 3^{\circ}\text{C}$  por 24 horas, adaptado de acordo com Brasil (2009), utilizando quatro repetições de 50 sementes, o correspondente a 4,5 gramas. A pesagem das sementes foi realizada em balança analítica com resolução de 0,001g e os cálculos foram efetuados de acordo com a fórmula:

$$Pf = Pi \cdot \left( \frac{100 - TAI}{100 - TAF} \right)$$

Em que: Pf: massa final da amostra (g); Pi: massa inicial da amostra (g); TAI: teor de água inicial das sementes (%b.u); TAF: teor de água desejado (%b.u).

### 4.2.4 Morfologia interna das sementes pela técnica de raios X

O teste de raios X foi realizado com 100 sementes braquiária com 4 repetições, dispostas em placas de acrílico transparente sobre fita adesiva de dupla

face, numeradas para que pudessem ser identificadas nas avaliações posteriores, e submetidas à radiação em equipamento de raios X “Faxitron HP”, modelo 43855A, na intensidade de 30 Kv por 10 segundos. Após a exposição à radiação, as imagens digitais foram analisadas por meio do puglins IJCropSeed desenvolvido para o software ImageJ® (Medeiros *et al.*, 2020a).

**Tabela 3. Variáveis analisadas através das imagens de raios X de forma automatizado pelo ImageJ.**

Variáveis	Unidade	Descrição
Área	(mm <sup>2</sup> )	Área de seleção obtida em pixels quadrados e convertida posteriormente em unidades de milímetros quadrados
Circularidade	Circularidade	$Circularidade = 4 \cdot \pi \cdot \text{Área} / \text{Perímetro}^2$ . Nesta equação, valores iguais a 1,0 indicam um círculo perfeito e à medida que os valores tendem a 0 sugerem uma forma alongada
Preenchimento	%	Determinado pela divisão da área efetivamente preenchida com tecido de alta densidade (níveis de cinza acima do limite definido inicialmente) pela área total de cada semente
Densidade relativa	cinza.pixel <sup>-1</sup>	Definida como a soma dos valores cinza de todos os pixels na área selecionada dividida pelo número de pixels da seleção

#### 4.2.5 Teste de Germinação.

O teste de germinação foi realizado em folhas de papel mata-borrão, umedecidos com água destilada, em quantidade equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato seco com quatro repetições de 50 sementes condicionadas em caixas plásticas transparentes (que foram lavados e secos em estufa) antes do

condicionamento das sementes. As caixas plásticas foram mantidas em câmara de germinação regulada à temperatura de 35°C, com fotoperíodo 8 h/dia e temperatura de 20°C, com fotoperíodo 16 h/noite (Brasil, 2009).

A porcentagem de plântulas germinadas normais (representada por plântulas que possuíam todas as estruturas essenciais desenvolvidas como sistema radicular, parte aérea e coleóptilo sem nenhum tipo de dano, bem desenvolvidas, completas, proporcionais e sadias) foi computada na primeira contagem da germinação ao 7º dia (G7) e na contagem final ao 21º dias (G21). Foram contabilizadas também durante a contagem final, além das plântulas normais, as plântulas anormais (aquelas que não mostraram potencial para continuar seu desenvolvimento e dar origem a plantas normais, mesmo crescendo em condições favoráveis), sementes duras (sementes que permanecem sem absorver água por período mais longo que o normal e apresentam, portanto, no final do teste com aspecto de sementes recém-colocadas no substrato, não intumescidas) e mortas (sementes que no final do teste não germinaram, não estão duras, apresentam-se amolecidas e não apresentam nenhum sinal de início de germinação) (Brasil, 2009).

#### 4.2.6 Caracterização: morfoanatomia.

Para caracterização anatômica, a execução dos testes foi mediante a retirada de amostras de 10 sementes de cada cultivar de braquiária. Em seguida, o material vegetal foi fixado conforme protocolo descrito por Karnovsky (1965), por 24 horas. Após este período, as amostras foram pré-lavadas em tampão fosfato e desidratadas em série etílica crescente, pré-infiltrado e infiltrado em historesina (Leica, Alemanha), conforme recomendações do fabricante.

Para avaliação estrutural, as amostras foram seccionadas transversalmente a 7 µm de espessura em micrótomo rotativo de mesa (Modelo 1508R, Logen scientific, China) e os cortes corados com azul de toluidina (O'Brien *et al.*, 1964) As observações foram realizadas na região de reserva das sementes, e as imagens fotografadas em microscópio Olympus (BX61, Tokyo, Japão) acoplado com câmera DP-72 utilizando a opção de campo claro.

#### 4.2.7 Análises bioquímica

A atividade das enzimas foi realizada a partir de amostras de 30 sementes inteiras de braquiária de cada cultivar. As sementes foram armazenadas individualmente em papel alumínio e mantidas em nitrogênio (N<sub>2</sub>) líquido, em seguida, armazenadas em ultrafreezer a -80°C para posterior análise.

A obtenção do extrato enzimático utilizados na determinação da atividade das enzimas  $\alpha$ -amilase ( $\alpha$ -amy) e  $\beta$ -amilase ( $\beta$ -amy) foi realizada a partir de 0,200 a 0,250 g de sementes maceradas em N<sub>2</sub> líquido das que haviam sido armazenadas no ultrafreezer a -80°C, homogeneizadas em 2 mL de tampão fosfato de potássio (100 mM) (pH 6,8), contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 0,1 mM, polivinilpirrolidona (PVPP) 5% (m/v) e fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) 1 mM. O homogeneizado foi mantido *overnight* durante 14 horas na geladeira a 10°C e em seguida centrifugado a 12000 × g, por 15 min, a 4°C, sendo o sobrenadante foi usado como extrato para as determinações enzimáticas.

A atividade da  $\alpha$ -amilase ( $\alpha$ -amy) e  $\beta$ -amilase ( $\beta$ -amy) foi determinada pelo método do ácido 3,5-dinitrosalicílico 1% (DNS), segundo descrito por Bernfeld (1955), Tárrago and Nicolás (1976) e Kishorekumar *et al.* (2007). Os açúcares redutores formados pela ação da alfa e beta amilase foram quantificados pela leitura da absorvância em 540 nm e os cálculos foram realizados utilizando a curva padrão de maltose 0,5 mg<sup>-1</sup> mL<sup>-1</sup> 2%.

A concentração de proteínas totais foi determinada pela adição de 10  $\mu$ L dos extratos brutos utilizados na determinação da atividade enzimática das sementes em 1190  $\mu$ L de solução de Bradford, as absorvâncias foram determinadas a 595 nm (Bradford, 1976) expressa em g.g<sup>-1</sup>.

#### 4.2.8 Análises Estatísticas dos Dados.

Os dados quantitativos obtidos foram submetidos às análises anteriores de homogeneidade (Teste Levene) e normalidade dos erros (Teste Shapiro-Wilk). Com a normalidade dos dados confirmadas, a ANOVA, seguida do teste Scott Knott “\*” (p <0.05) e “\*\*\*” (p <0.01).

A correlação e Componentes principais (PCA) foi realizada em consistência preliminar do banco de dados excluindo os valores *outliers*, através da análise de *boxplot*. Posteriormente, procedeu-se a normalização dos dados para que a média fosse igual a 0 e variância igual 1. Posteriormente, realizou-se a confecção da matriz variância e covariância para realização da análise de componentes principais (PCA) (Hotelling, 1933). A variação total acumulada foi considerada como critério de seleção dos componentes principais (PC), sendo mantidos o *K* primeiros PC capazes de explicar pelo menos 70-% da variação total (Ferreira, 2008).

### 4.3 RESULTADOS

#### 4.3.1. Teor de água e massa de mil sementes

O teor de água das sementes apresentou valores semelhantes entre as três cultivares estudadas, variando de 9,1 a 9,8%, sendo que a cultivar Marandu apresentou maior percentual e a Xaraés o menor resultado. A massa de mil sementes demonstrou que a cultivar Xaraés possui maior densidade quando comparada com as outras cultivares (Danos não demonstrado).

#### 4.3.2. Morfologia interna das sementes pela técnica de raios X

Os dados de classificação das sementes com a técnica de raios X, mostram que a cultivar Xaraés apresenta o maior número de sementes com danos e espaços no endosperma (Fig. 6 I - L), quando comparado com as imagens de Marandu (Fig. 6 A - D), e Piatã (Fig. 6 E - H).

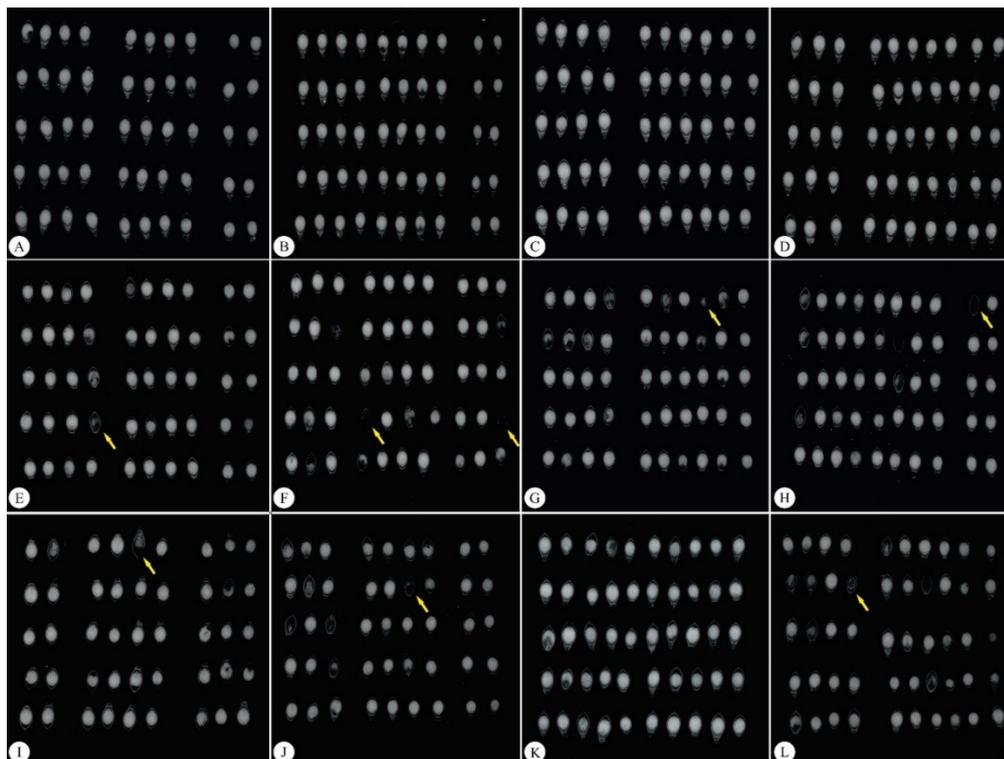


Fig. 6. Diferenças na estrutura interna das sementes de *Brachiaria brizantha* após análise de raios X. (A, B, C e D) semente cv. Marandu. (E, F, G e H) semente cv. Piatã. (I, J, K e L), sementes cv. Xaraés.

Com as imagens radiografadas é possível destacar e selecionar pelos níveis de coloração acinzentada, regiões com maior integridade física nas sementes de braquiária (Fig. 7). A figura mostra a imagem original dos raios X e sua representação em 3D com variações nas tonalidades de cores de acordo com a integridade e densidade dos tecidos (Fig. 7). A utilização da técnica de histograma em 3D destaca regiões vigorosas com colorações quentes (Fig. 7A, C e E), dando origem a plântulas com melhor índice de desenvolvimento, enquanto regiões com menor qualidade fisiológica com cores frias (Fig. 7B, D e F), podem desencadear plântulas anormais e baixa porcentagem de germinação.

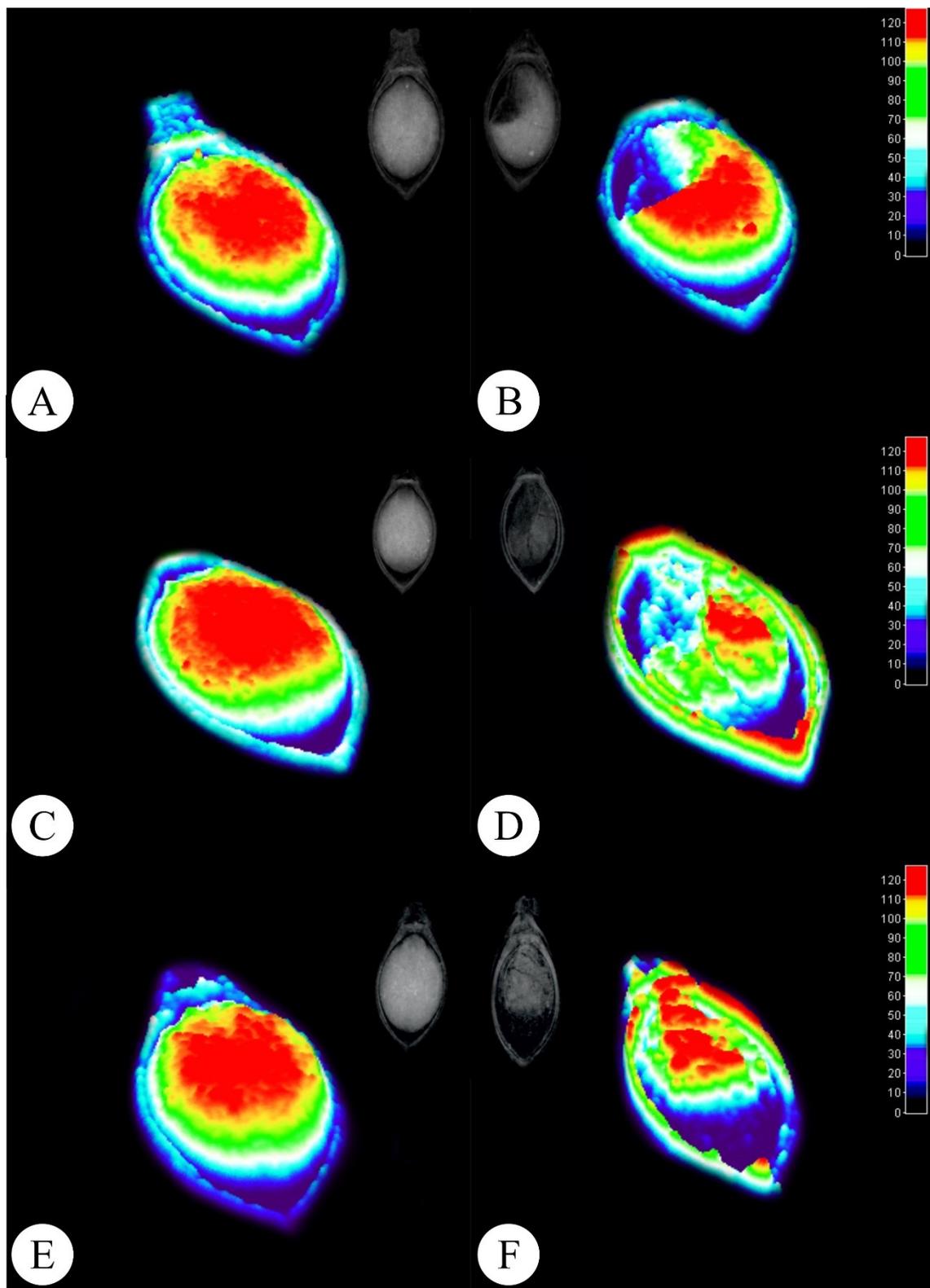


Fig. 7. Imagens radiográficas e seus histogramas em 3D de sementes *Brachiaria brizanthai*. (A e B) cv. Marandu. (C e D) Piatã. (E e F) Xaraés. Coluna esquerda, sementes com maior densidade dos tecidos. Coluna direita sementes com menor densidade dos tecidos.

Em relação a qualidade física das sementes extraídas das imagens radiografadas são apresentadas na tabela 4. A cultivar Marandu apresentou maior área e porcentagem de preenchimento, quando comparada a cultivar Piatã e Xaraés. A cultivar Piatã teve resultados similares com a cultivar Marandu na densidade relativa. Na classificação, a cultivar Xaraés demonstrou menor área, densidade relativa e porcentagem de preenchimento, em relação a cultivar Marandu e Piatã.

Tabela 4. Parâmetros físicos avaliados das imagens de raios X das sementes de braquiária, cultivares Marandu, Piatã e Xaraés, usando o programa ImageJ.

Cultivares	Área (mm <sup>2</sup> )	Circularidade	Densidade Relativa (cinza.pixel <sup>-1</sup> )	Preenchimento (%)
Marandu	8.33±0.07a	0.69±0.003b	70.73±0.69a	92±0.23a
Piatã	7.25±0.04b	0.76±0.003a	68.31±1.19a	89±0.58b
Xaraés	6.63±0.07c	0.68±0.004b	58.43±1.18b	84±0.57c

#### One-Way ANOVA

F (t-test)	193.83**	132.08**	38.86**	76.19**
<i>p</i>	0.00825	0.00000	0.00000	0.00000

Média ± EP (n = 4), Médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si a 1% (\*\*) de probabilidade pelo teste Scott Knott.

#### 4. 3.3 Teste de Germinação.

Para o índice de velocidade de germinação, porcentagem de germinação, plântulas normais e não germinadas, foi observada semelhança entre os resultados dos cultivares Marandu e Piatã e não houve diferenças significativas (Tabela 5). No entanto, o cultivar Xaraés, demonstra redução em todas as variáveis analisadas quando comparado com os cultivares Marandu e Piatã.

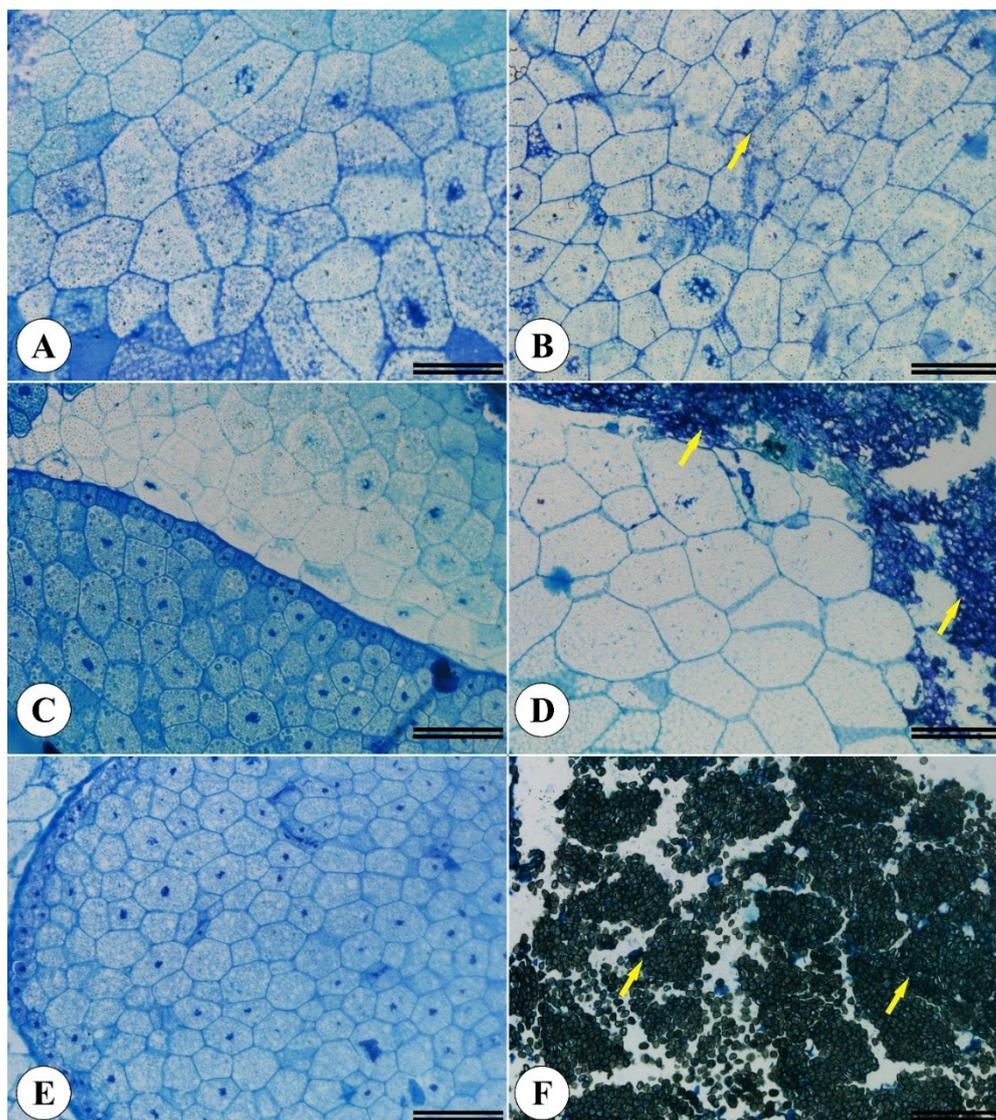
**Tabela 5. Índice de velocidade de germinação (IVG), porcentagem de germinação (%), plântulas normais, plântulas anormais e não germinada em sementes de três cultivares de braquiária após 13 dias do teste de germinação.**

<b>Cultivares</b>	<b>IVG</b>	<b>Germinação (%)</b>	<b>Anormais</b>	<b>Não Germinadas</b>
<b>Marandu</b>	<b>4.0±0.57a</b>	<b>70±4.55a</b>	<b>8±1.31a</b>	<b>22±1.60b</b>
<b>Piatã</b>	<b>4.3±0.07a</b>	<b>71±1.73a</b>	<b>12±4.86a</b>	<b>28±1.31b</b>
<b>Xaraés</b>	<b>2.3±0.21b</b>	<b>48±4.99b</b>	<b>14±1.93a</b>	<b>40±1.89a</b>
<b>One-Way ANOVA</b>				
<b>F (t-test)</b>	<b>30.3671**</b>	<b>10.9039 *</b>	<b>0.1614 ns</b>	<b>9.1294**</b>
<b>p</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>0.0039</b>	<b>0.8534</b>	<b>0.0068</b>

Média ± EP (n = 4), Médias seguidas de mesmas letras não diferem entre si a 5% (\*) e 1% (\*\*) de probabilidade pelo teste Scott Knott. (NS) não significativo.

#### 4.3.4. Caracterização anatômica das sementes

As diferenças de preenchimento das sementes promoveram alterações das células da região do endosperma de braquiária (Fig. 8B, D e F), quando comparadas as sementes sem alterações físicas (Fig. 8A, C, E).



**Fig. 8.** Estruturas morfoanatômicas das sementes de *Brachiaria brizantha*. Sementes sem alteração de preenchimento, (A, C e E) e com alterações de preenchimento (B, D e F), previamente selecionadas pelo teste de raios X. (A - B) semente cv. Marandu. (C - D) semente cv. Piatã. (E - F), sementes cv. Xarões. Foram analisadas 200 sementes de cada cultivar. Setas amarelas demonstram alterações celulares.

A aplicação da PCA nas variáveis de qualidade fisiológicas e nos dados quantitativos extraídos das imagens de raios X das sementes de braquiária demonstraram que a variância total capturada foi de 75,40%, sendo 60,20% e 15,20% para PC1 e PC2, respectivamente (Fig. 9). É possível observar a formação de três grupos de características, sendo: grupo I - amy, b-amy, Relative Density, Filling, TP, GSI, Area e G%, apresentam correlação positivamente entre si; grupo

II - PA% e circularidade, com correlação positiva entre si; e gupo II – composto por NG%, correlacionado positivamente com grupo II e negativamente com o grupo I. Em relação ao primeiro componente (PC1) as características de sementes NG%, PA% e circularidade apresentaram correlação negativa, sendo NG% com maior força. As demais características foram positivamente correlacionadas com PC1. Já para PC2, as características G% e Area, foram negativamente correlacionadas. De modo geral, todas as características apresentaram grande importância para formação dos PC, excetuando Relative Densidade e GSI. Em relação aos cultivares (Groups) de *Brachiaria brizantha* nota-se comportamentos distintos, sendo o cultivar Xaraés antagônica aos demais cultivares. Piatã e Marandu apresentam comportamentos similares.

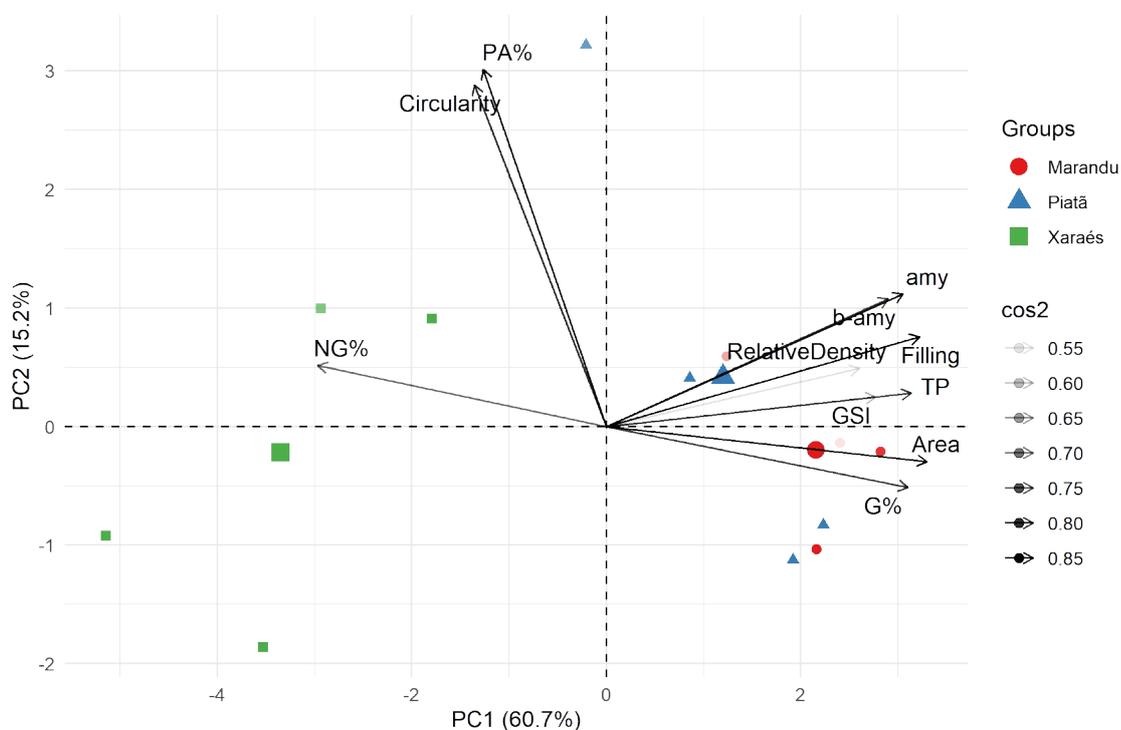


Fig. 9. Biplot dos componentes principais das variáveis de área, circularidade, densidade, porcentagem de preenchimento, índice de velocidade de germinação, porcentagem de germinação, PT – Proteínas totais, amy =  $\alpha$ -amy alpha amylase, b-amy =  $\beta$ -amy beta amylase, plântulas normais e anormais, não germinadas dos cultivares de *Brachiaria brizantha*. cos2 – importância da variável para definição do componente principal (PC); PC1 – primeiro componente principal; PC2 – segundo componente principal.

#### 4.4 DISCUSSÃO

A técnica de análise de imagem por raios X evidencia a estrutura física das sementes, por ser uma metodologia não destrutiva e sem subjetividade, é altamente desejado pela indústria de sementes (Mahajan et al., 2018). Essa metodologia permite identificar mudanças nas propriedades morfológicas das sementes de braquiária, ocasionados por diversos fatores como, alterações fisiológicas durante o processo de maturação, ataque de pragas, danos mecânicos no processo de colheita e armazenamento. O endosperma desempenha papel vital no apoio ao crescimento embrionário, fornecendo nutrientes, protegendo e controlando o crescimento do embrião, atuando como barreira mecânica durante o desenvolvimento e germinação da semente (Yan et al., 2014) Portanto, identificar de forma rápida e precisa a condição física do endosperma é importante para avaliar a qualidade de diferentes cultivares de semente.

As sementes de braquiária com maior densidade, porcentagem de preenchimento e integridade celular apresentaram maior qualidade fisiológica. Essa informação é de grande importância para o setor sementeiro, uma vez que a rápida identificação de sementes de boa e má qualidade contribui para a otimização do processamento e controle da qualidade da produção de sementes (Medeiros *et al.*, 2020b; Rahman and Cho, 2016). Em estudos com brócolis (Abu, 2018) e leucena (Medeiros *et al.*, 2018), evidenciaram que a determinação da densidade tecidual das sementes obtidos a partir de imagens de raios X é promissora e apresenta forte correlação com a qualidade fisiológica das sementes. Sementes com maiores densidades são correlacionadas com maior porcentagem de germinação e formação de plântulas normais.

As sementes com alterações na qualidade fisiológica podem apresentar mudanças bioquímicas importantes, como exsudação do conteúdo de carboidratos (He *et al.*, 2019), além da oxidação, acarretando no afrouxamento da parede de membranas, como resultados, as proteínas internas perdem sua elasticidade, aumentando a fragilidade dos tecidos celulares, como formação de rachaduras dos cotilédones (Jyoti e Malik, 2013), os cotilédones terão forma irregular, bem como, rachaduras. Além disso, como evidenciado neste estudo, as alterações na qualidade

fisiológica das sementes podem estar diretamente relacionadas com a formação das sementes, principalmente no que tange a aspectos relacionados a desestruturações celulares em sementes com baixa densidade e porcentagem de preenchimento.

Pesquisas recentes têm apresentado dados de parâmetros físicos internos avaliados por imagens de raios X de sementes, com eficácia na correlação com atributos de germinação e vigor (Abud *et al.*, 2018). Estudando o aprendizado de máquinas para classificação de sementes de *Brachiaria brizantha*, Medeiros *et al.* (2020b) evidenciou que a ferramenta IJCropSeed desenvolvidas pelos pesquisadores tem alta eficiência na seleção de lotes de sementes com maior qualidade. Neste estudo, trabalhando com diferentes cultivares da espécie foi possível constatar que essa relação, possivelmente, estende-se para sementes com características físicas semelhantes.

A aplicação do teste de raios X em sementes de diferentes cultivares de braquiária também demonstrou relação entre a morfologia interna das sementes e a qualidade fisiológica. Essa técnica possibilita caracterizar a morfologia interna das sementes, como identificação de sementes cheias e sementes malformadas, danos por predação por insetos, injúrias mecânicas no ato da colheita, transporte e/ou armazenagem e porcentagem de área interna vazia (Arruda *et al.*, 2016; Al-Turki e Baskin, 2017).

O uso da técnica de raios X é vantajoso na redução de custos de armazenamento de sementes por possibilitar a separação das sementes, contribuindo para a formação de lotes com sementes mais vigorosas (Medeiros *et al.*, 2020c). Além de ser uma técnica valiosa de forma rápida, precisa e não destrutiva relacionadas ao desempenho da semente. Os resultados obtidos na PCA corroboram com essas afirmações, uma vez que, características de qualidade da semente e vigor estão intimamente relacionadas com parâmetros mensurados via técnica de raios X, por exemplo, Area, TP, Filling, amy e G%. Outro ponto é o comportamento contrário de NG% com as demais citadas acima.

A atividades das enzimas alfa e beta amilase estão diretamente ligadas a qualidade das sementes. Essas variáveis podem ser associadas à rápida hidrólise do amido, resultando em maior energia disponível para o crescimento inicial das plântulas (Oliveira *et al.*, 2013; Medeiros *et al.*, 2021). Portanto, as análises de amilase também apresentam potencial para auxiliar na seleção de lotes de sementes de braquiária com maior qualidade. Neste sentido, os resultados

indicaram que as sementes com maior densidade, Filling, TP e amy formam plântulas normais. Em adição, o comportamento das cultivares (Xaraés em relação à Piatã e Marandu) evidencia o potencial de utilização da técnica de raios X para seleção de lotes de sementes e cultivares.

#### 4.5 CONCLUSÃO

As análises de imagem de raios X podem ser correlacionadas com a qualidade fisiológica e bioquímica das sementes de braquiária. Essa técnica é eficiente na seleção de cultivares com maior qualidade, e pode auxiliar na tomada de decisão de empresas e produtores de sementes em todo o mundo. No entanto, apesar de ter interação com a qualidade fisiológica das sementes a técnica de imagem e raios X não demonstra danos químicos ou outro dano não físico, como efeitos genéticos.

#### 4.6 REFERÊNCIAS

ABUD, HF; CICERO, SM; GOMES JUNIOR, FG Imagens radiográficas e relação da morfologia interna e potencial fisiológico de sementes de brócolis. *Acta Scientiarum: Agronomy*, 40 (1): 1-9, 2018.

Ahmed, M.R., Yasmin, J., Collins, W., Cho, B.K., 2018. X-ray CT image analysis for morphology of muskmelon seed in relation to germination. *Biosystems Engineering*. 175, 183-193. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2018.09.015>.

Al-Turki, T.A., Baskin, C.C., 2017. Determination of seed viability of eight wild Saudi

Ambrose, A., Lohumi, S., Lee, W.H., Cho, B.K., 2016. Comparative nondestructive measurement of corn seed viability using Fourier transform near-infrared (FT-NIR) and Raman spectroscopy. *Sens. Actuators, B Chem.* 224, 500–506. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.10.082>.

approach for physical purity, viability and vigour testing of soybean seeds (*Glycine max*). *J. Food Sci. Technol.* <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3320-x>.

Arabian species by germination and X-ray tests. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 24, 822-829. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.06.009>.

- Arruda, N., Cicero, S.M., Gomes-Junior, F.G. Análise radiográfica para avaliar a estrutura da semente de *Crotalaria juncea* L. *Journal of Seed Science*, 38 (2): 161-168, 2016. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v38n2155116>.
- Bosi, C., Sentelhas, P.C., Huth, N.I., Pezzopane, J.R.M., Andreucci, M.P., Santos, P.M., 2020. APSIM-Tropical Pasture: A model for simulating perennial tropical grass growth and its parameterisation for palisade grass (*Brachiaria brizantha*). *Agricultural Systems*. 184, 102917. <https://doi.org/10.1016/j.agry.2020.102917>.
- Brasil, 2009. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, Coordenação de Laboratório Vegetal. Regras para análise de sementes. Brasília, 2009. ISBN 978-85-99851-70-8.
- Crusciol, C.A.C., Nascente, A.S., Borghi, E., Soratto, R.P., Martins, P.O., 2015. Improving soil fertility and crop yield in a tropical region with palisadegrass cover crops. *Agron. J.* 107, 2271–2280. <https://doi.org/10.2134/agronj14.0603>.
- Ferreira, DF, 2008. Estatística multivariada. Lavras: Editora Ufla, 662p.
- Foley, J. A., et al. 2011. Solutions for a cultivated planet. *Nature* 478: 337-342.
- Franzluebbers, A.J., Castilhos, A.M., 2016. Sidedress nitrogen application rates to Goldewijk, K.K., Beusen, A., Doelman, J., Stehfest, E., 2017. New anthropogenic land use estimates for the Holocene: HYDE 3.2. *Earth Syst. Sci. Data* 9, 927–953. <https://doi.org/10.5194/essd-2016-58>.
- He, X., Feng, X., Sun, D., Liu, F., Bao, Y., He, Y., 2019. Rapid and nondestructive measurement of rice seed vitality of different years using near-infrared hyperspectral imaging. *Molecules* 24. <https://doi.org/10.3390/molecules24122227>.  
<https://doi.org/10.2134/agronj2015.0236>.
- International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research, 2 (3) (2013), pp. 374-385
- Jensen, WA, 1962. Botanical histochemistry: principles and practice. San Francisco: WH Freeman. 408p.
- Jyoti, C.P. Malik. Seed deterioration: A review
- Karnovsky, MJ, 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron-microscopy. *Journal of Cell Biology*, 27, 137-138A.
- Low, S., 2015. Signal grass (*Brachiaria decumbens*) toxicity in grazing ruminants. *Agric. For.* 5, 971–990.
- Mahajan, S., Mittal, S.K., Das, A., 2018. Machine vision based alternative testing
- Mateus, G.P., Crusciol, C.A.C., Pariz, C.M., Borghi, E., Costa, C., Martello, J.M.,

Medeiros, A.D., Martins, M.S., Silvia, L.J., Pereira, M.D., León, M.J.Z., Dias, D.C.F.S., 2020c. X-ray imaging and digital processing application in non-destructive assessing of melon seed quality. *Journal of Seed Science*, v.42, e202042005, <http://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v42229761>.

Medeiros, A.D., SILVA, L.J., Pereira, M.D., Oliveira, A.M.S., Dias, D.C.F.S., 2019. Highthroughput Phenotyping of Brachiaria Grass Seeds Using Free Access Tool for Analyzing X-ray Images. *An. Acad. Bras. Cienc.*

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. <https://doi.org/10.1590/1413-70542018426023318>.

Medeiros, A.D., Silva, L.J., Ribeiro, J.P.O.R., Ferreira, K.C., Rosas, J.T.F., Santos, A.A., Silva, C.B., 2020b. Machine Learning for Seed Quality Classification: An Advanced Approach Using Merger Data from FT-NIR Spectroscopy and X-ray Imaging. *Sensors*, 20, 4319. <https://doi:10.3390/s20154319>.

Medeiros, A.D., Silva, L.J., Silva, J.M., Dias, D.C.F.S., Pereira, M.D., 2020a. IJCropSeed: An open-access tool for high-throughput analysis of crop seed radiographs. *Computers and Electronics in Agriculture*. 175, 105555. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2020.105555>.

O'brien, TP, Feder, N, Mccully, ME, 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* 59, 368–373.

O'brien, TP, Mccully, ME, 1981. The study of plant structure principles and selected methods. *Termarcaphi Pty. Ltda, Melbourne*.

Rahman, A., Cho, B.-K., 2016. Assessment of seed quality using non-destructive measurement techniques: a review. *Seed Sci. Res.* 26, 285–305. <https://doi.org/10.1017/S0960258516000234>.

Sorghum intercropped with tropical perennial grasses. *Agron. J.* 108, 433–447.

Xia, Y., Xu, Y., Li, J., Zhang, C., Fan, S., 2019. Recent advances in emerging techniques for non-destructive detection of seed viability: a review. *Artif. Intell. Agric.* 1, 35–47. <https://doi.org/10.1016/j.aiia.2019.05.001>.

Oliveira GE, Von PRG, de Andrade T et al (2013) Physiological quality and amylase enzyme expression in maize seeds. *Ciência Agrotec* 37:40–48. <https://doi.org/10.1590/s1413-70542013000100005>.

Medeiros, J.C., Sales, J.F., Zuchi, J., Nascimento, K.J.T., Silva, F.H.L., Castro, S.T., Costa, A.C., Rodrigues, A.A., 2021. A multivariate approach to the physical and physiological quality of hybrid corn seeds affected by Molicutes and MRFV. *Euphytica*. 217:96. <https://doi.org/10.1007/s10681-021-02827-7>.

Bradford M.N., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analyt. Biochem.* 72, 248-254.

Bernfeld, P., 1955. Amylases  $\alpha$  and  $\beta$  In: *Methods in Enzymology* Vol. 1 12, 149–152.

Tárrago, J.F., Nicolás, G., 1976. Starch Degradation in the Cotyledons of Germinating Lentils. *Plant Physiol.* 58, 618–621. <https://doi.org/10.1104/pp.58.5.618>.

Kishorekumar, A., Jaleel, C.A., Manivannan, P., Sankar, B., Sridharan, R., Panneerselvam, R., 2007. Comparative effects of different triazole compounds on growth, photosynthetic pigments and carbohydrate metabolism of *Solenostemon rotundifolius*. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 60, 207–212. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2007.06.008>.

## 5. CONCLUSÃO GERAL

O uso do revestimento em sementes de *Urochloa brizantha* não altera a qualidade fisiológica, tal efeito foi observado em função da profundidade de semeadura. É primordial levar em consideração tanto a profundidade quanto o revestimento das sementes ao realizar a semeadura dessa espécie. O uso do revestimento em sementes influenciou negativamente o índice de emergência e a massa seca da parte aérea. As análises de imagem de raios X podem ser correlacionadas com a qualidade fisiológica e bioquímica das sementes de braquiária. A técnica de raios X mostrou ser eficiente na seleção de sementes com maior qualidade.