**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Avaliação do potencial fisiológico de sementes de pepino utilizando sistema computadorizado de análise de imagens de plântulas (SVIS[®]), em comparação com procedimentos tradicionais

Adrielle Aparecida Chiquito

**Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Fitotecnia**

**Piracicaba
2011**

Adrielle Aparecida Chiquito
Engenheiro Agrônomo

Avaliação do potencial fisiológico de sementes de pepino utilizando sistema computadorizado de análise de imagens de plântulas (SVIS[®]), em comparação com procedimentos tradicionais

Orientador:
Prof. Dr. JÚLIO MARCOS FILHO

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências. Área de concentração:
Fitotecnia

Piracicaba
2011

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - ESALQ/USP**

Chiquito, Adrielle Aparecida

Avaliação do potencial fisiológico de sementes de pepino utilizando sistema computadorizado de análise de imagens de plântulas (SVIS®), em comparação com procedimentos tradicionais / Adrielle Aparecida Chiquito. - - Piracicaba, 2011.

63 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2011.
Bibliografia.

1. Sementes - Fisiologia 2. Germinação 3. Pepino 4. Processamento de imagens I. Título

CDD 635.63
C541a

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

DEDICO

Aos meus pais João Geraldo e Marisete e para meu irmão Everton,
pelo enorme apoio, amor, dedicação que me ajudaram a cumprir essa etapa.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela força e motivação que me concedeu a cada dia.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (USP/ESALQ) pela oportunidade de realizar o curso de mestrado.

Ao professor Júlio Marcos Filho, pela orientação, paciência, amizade e pelo exemplo profissional.

Aos professores Ana Dionísia da Luz Coelho Novembre e Silvio Moure Cícero, pelos ensinamentos, amizade e incentivo.

À Eng. Agr. Helena M. C. Pescarin Chamma, pela amizade e auxílio nas análises do laboratório.

Aos secretários Rafael Rodrigues e Luciane Lopes, pelo auxílio prestado, amizade e companheirismo.

Aos funcionários do laboratório de sementes João Elias, Adilson, Claudinei, pela amizade e serviços prestados durante o curso.

À CASPES pela bolsa de estudo concedida durante os primeiros meses de curso e à FAPESP, pela concessão da bolsa de estudo durante o restante do curso e pelo apoio financeiro ao desenvolvimento do projeto.

À Sakata Seed Sudamerica Ltda, por ceder as sementes de pepino.

Aos colegas de curso Adilson, Cleucione, Vanessa, Mário, Fábio, Cris, Vitinho, Francisco, Thati, Renata, Carty, Denis, Juliana, Roberta e Simone, pelo companheirismo e convivência.

A todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT	11
1 INTRODUÇÃO	13
2 DESENVOLVIMENTO	15
2.1 Revisão Bibliográfica	15
2.1.1 Avaliação do potencial fisiológico de sementes	15
2.1.2 Análise de Imagens de plântulas (Software SVIS®)	19
2.2 Material e Métodos	21
2.2.1 Sementes	22
2.2.2 Avaliação do grau de umidade e do potencial fisiológico das sementes	22
2.2.4 Primeira contagem de germinação	23
2.2.5 Emergência de plântulas	23
2.2.6 Envelhecimento acelerado (procedimento tradicional)	23
2.2.7 Envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl (EASS)	24
2.2.8 Comprimento de plântulas	24
2.2.9 Estudo do procedimento para análise de imagens de plântulas (software SVIS®)	25
2.2.1.0 Procedimento estatístico	30
2.3 Resultados e Discussão	31
2.3.1 Primeira época de avaliação	31
2.3.1.1 Avaliação do potencial fisiológico das sementes	31
2.3.1.2 Análise de imagens de plântulas (software SVIS®)	36
2.3.1.3 Comparação da análise digital de imagens de plântulas (software SVIS®) com testes convencionais de vigor	40
2.3.2 Segunda época de avaliação	43
2.3.2.1 Avaliação do potencial fisiológico das sementes	43
2.3.2.2 Análise de imagens de plântulas (software SVIS®)	47
2.3.2.3 Comparação da análise digital de imagens de plântulas (software SVIS®) com testes convencionais de vigor	50
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	53
4 CONCLUSÃO	55

REFERÊNCIAS	57
-------------------	----

RESUMO

Avaliação do potencial fisiológico de sementes de pepino utilizando sistema computadorizado de análise de imagens de plântulas (SVIS[®]), em comparação com procedimentos tradicionais

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência do sistema de análise de imagens de plântulas (*Seedling Vigor Imaging System*[®] - SVIS[®]) na determinação do potencial fisiológico de sementes de pepino, em comparação com informações fornecidas por testes de vigor recomendados para essa espécie. O trabalho foi desenvolvido em três épocas de avaliação com intervalos aproximados de três meses. Em cada época, a avaliação do potencial fisiológico foi efetuada usando-se os testes de germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl, comprimento de plântulas e emergência de plântulas. Os resultados desses testes foram comparados com os dados obtidos com o uso do software *Seedling Vigor Imaging System* (SVIS[®]), que avaliou o desenvolvimento de plântulas escaneadas, mediante a obtenção de valores do comprimento da raiz primária, do hipocótilo e das plântulas, do índice de vigor e de uniformidade de desenvolvimento. Além disso, foram estudadas variações na proporção da participação do crescimento e da uniformidade de desenvolvimento das plântulas para o cálculo do índice de vigor no "software" SVIS[®], na tentativa de verificar possíveis variações na sensibilidade do sistema para detectar diferenças no potencial fisiológico dos lotes avaliados. Concluiu-se que a análise computadorizada de imagens de plântulas é uma alternativa consistente e promissora para avaliação do potencial fisiológico de sementes de pepino, com eficiência comprovada equivalente à verificada em testes tradicionais para determinação do vigor. As análises pelo SVIS[®] em plântulas com quatro dias de idade são mais precisas e a proporção crescimento/uniformidade para a composição do cálculo do índice de vigor não afeta a precisão da determinação do potencial fisiológico de sementes de pepino pela análise SVIS[®].

Palavras-chave: Potencial fisiológico; SVIS; Pepino; Análise de imagens; Vigor

ABSTRACT

Assessment of the physiological quality of cucumber seeds by an automated computer imaging system (SVIS[®]), compared to traditional procedures

This study aimed to evaluate the efficiency of seedling digital image analysis (*Seedling Vigor Imaging System*[®] - SVIS[®]) to determine the physiological quality of cucumber seed lots, compared to information provided by vigor tests recommended for this species. Research comprised three evaluation times with a three-month interval. Physiological quality determination comprised germination, germination first count, traditional and saturated salt accelerated aging, seedling length and seedling emergence tests. Results obtained were compared to data by the evaluation using the software *Seedling Vigor Imaging System* (SVIS[®]); in this system, seedlings were scanned and the image analysis made possible to obtain values of the primary root, hypocotyl and seedling lengths in addition to a vigor index and uniformity of seedling of development. It also studied the importance of the contribution of growth intensity and uniformity to compose the value of the vigor index calculated by the software. It was concluded that digital image analysis of seedlings is a consistent and promising alternative to provide reliable information of cucumber seed physiological quality, comparable to those from traditional tests. Analyses by SVIS[®] of four-day old seedlings are more accurate, and the proportion growth/uniformity in the composition of the vigor index does not affect the accuracy of determining the physiological quality of cucumber seeds by analyses SVIS[®].

Keywords: Physiological potential; SVIS; Cucumber; Image analysis

1 INTRODUÇÃO

Os testes de vigor constituem ferramentas de uso cada vez mais necessário para a determinação do potencial fisiológico de lotes de sementes destinadas à comercialização, constituindo parâmetros fundamentais na composição de programas de qualidade (MARCOS FILHO, 1999).

Por outro lado, embora o procedimento básico para a condução de vários testes de vigor esteja estabelecido e produza resultados confiáveis, sempre há espaço para a continuidade da pesquisa e aprimoramento de metodologia ou inclusão de alternativas inovadoras (MARCOS FILHO, 2009). Entretanto, vários testes consomem período de tempo relativamente longo e produzem resultados mais variáveis que os desejados, tanto entre laboratórios como entre analistas. Isto pode ocorrer porque a interpretação de alguns testes baseados no desempenho de plântulas é relativamente subjetiva, dependendo da experiência e sensibilidade do analista.

Diante dessa situação, tem sido verificada evolução favorável ao desenvolvimento de técnicas computadorizadas, mais sensíveis e precisas para a captação e o processamento de imagens e obtenção de informações úteis para a indústria de sementes. Nesse sentido, uma alternativa foi proposta por Sako et al. (2001) mediante a análise computadorizada de imagens de plântulas (*Seed Vigor Imaging System – SVIS[®]*) de alface, considerando a intensidade, a velocidade e a uniformidade de desenvolvimento. Esse sistema foi utilizado com sucesso para outras espécies, como soja (HOFFMASTER et al., 2003), milho (OTONI; MCDONALD, 2005), melão (MARCOS FILHO et al., 2006), permitindo o cálculo de índice de vigor, grau de uniformidade de desenvolvimento e avaliação do comprimento de plântulas ou de suas partes.

O método, consiste na captação de imagens digitais múltiplas, em escaner, de plântulas com três a quatro dias de idade; em seguida, as imagens são processadas em computador, gerando valores numéricos que, coletivamente, representam o potencial fisiológico das sementes, com base nos parâmetros preestabelecidos. Ainda não há disponibilidade de informações sobre a eficiência desse sistema para avaliação do potencial fisiológico de sementes de pepino.

Dentre os testes utilizados para avaliação do vigor de sementes de pepino, têm sido destacados o de envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl, (BHÉRING et al., 2000; ABDO et al., 2005) de deterioração controlada (PANDEY et al., 1990; ALSADON, 1995), de emergência de plântulas e comprimento de plântulas (LIMA; MARCOS FILHO, 2009). Esses testes têm sido avaliados de maneira eficiente em pesquisas com olerícolas; no entanto os resultados não têm sido comparados com os resultados da análise de imagens de sementes e/ou plântulas, justificando a condução desta pesquisa.

Diante do exposto, o presente trabalho foi conduzido com o objetivo de estudar o uso do “software” para análise computadorizada de imagens de plântulas (*Seedling Vigor Imaging System*[®] - *SVIS*[®]) para avaliação do potencial fisiológico de sementes de pepino, em comparação com informações fornecidas por testes de vigor reconhecidamente eficientes para sementes de pepino ou de outras espécies olerícolas.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão Bibliográfica

2.1.1 Avaliação do potencial fisiológico de sementes

As vantagens do uso de sementes com elevado potencial fisiológico, principalmente de hortaliças, incluem germinação rápida e uniforme, obtenção de plântulas com maior tolerância a adversidades ambientais, obtenção de estandes adequados e maturidade uniforme da cultura, com conseqüente aumento na rentabilidade (BENNETT, 2001). O potencial fisiológico de lotes de sementes é avaliado rotineiramente pelo teste de germinação, realizado sob condições controladas e favoráveis para a espécie considerada (LIMA; MARCOS FILHO, 2009). No entanto, quando se trata da utilização de lotes para a semeadura em campo ou durante o armazenamento, essa informação pode ser insuficiente, pois à medida que as condições ambientais se desviam das mais adequadas para o estabelecimento das plântulas ou para a conservação das sementes, é provável que a percentagem de emergência de plântulas seja inferior à da germinação determinada em laboratório (MARCOS FILHO, 1999a).

Para Baalbaki et al. (2009) o vigor de sementes compreende um conjunto de características que determinam o potencial para emergência e o rápido desenvolvimento de plântulas normais, sob ampla diversidade de ambiente. Marcos Filho (1999a) relatou que os objetivos básicos dos testes de vigor são: identificação de diferenças do potencial fisiológico de lotes com germinação semelhante; distinguir, com segurança, lotes de alto e baixo vigor; classificar lotes em diferentes níveis de vigor, de maneira comparável à emergência das plântulas em campo, resistência ao transporte e potencial de armazenamento.

Frequentemente, observam-se que lotes de sementes apresentando germinação semelhante exibem comportamento distintos em campo e/ou armazenamento. As diferenças de vigor entre lotes podem ser explicadas pelo fato de que as primeiras alterações nos processos bioquímicos associados à deterioração ocorrem, geralmente, antes que se manifestem os declínios significativos na capacidade germinativa

(DELOUCHE; BASKIN, 1973). Por essa razão, o uso dos testes de vigor é de grande importância no monitoramento do potencial fisiológico das sementes, a partir da maturidade (DIAS; MARCOS FILHO, 1995).

Vieira e Carvalho (1994), consideraram que cada tipo de teste tem sua eficiência na avaliação do vigor de determinadas espécies, não existindo, até o momento, nenhum teste de vigor que possa ser recomendado como padrão para todas ou mesmo para uma única espécie, uma vez que o vigor reflete a manifestação de várias características. Baalbaki et al. (2009), enfatizaram a importância da precisão dos procedimentos utilizados para a condução de testes de vigor, ressaltando, que o principal desafio das pesquisas sobre testes de vigor está na identificação de parâmetros adequados, comuns à deterioração de sementes, de forma que, quanto mais próximo da maturidade fisiológica ou mais distante da perda da capacidade de germinação estiver o parâmetro avaliado, mais sensível deverá ser o teste, fornecendo informações complementares à obtidas no teste de germinação.

Como o vigor de sementes é um conjunto de características que determinam o potencial para emergência rápida e uniforme de plântulas normais em condições ambientais adversas (BAALBAKI et al., 2009), a utilização de um único teste de vigor, seja este fisiológico, bioquímico ou de resistência a estresse, pode fornecer informações incompletas, mesmo para uma única espécie, quando o objetivo é avaliar o potencial de desempenho das sementes sob diferentes condições ambientais (HAMPTON; COOLBEAR, 1990). Por esse motivo, segundo Marcos Filho (1999), a tendência predominante é a combinação de resultados de diferentes testes de vigor, considerando a finalidade do uso dos resultados e as limitações de cada teste.

Dentre os testes de vigor utilizados, os testes baseados no desempenho de plântulas são classificados como testes fisiológicos (MCDONALD, 1975), procurando determinar atividade fisiológica específica, cuja manifestação depende do vigor. Muitos desses testes podem ser conduzidos em campo, condição que dificulta a padronização, mas também podem ser conduzidos em laboratório, onde há maior possibilidade do controle de fatores como temperatura, umidade e luz, favorecendo, assim, a padronização (NAKAGAWA; VANZOLINI, 2007).

Entre esses testes, o de emergência de plântulas, permite a avaliação da velocidade de emergência associada diretamente ao vigor das sementes. Assim, lotes de sementes com percentagens de emergência semelhantes, podem apresentar diferenças na velocidade de emergência de plântulas (NAKAGAWA et al., 1999). Esse teste foi considerado eficiente para sementes de pepino por Barbedo et al. (1997) e Menezes (2009).

Outro teste, classificado como fisiológico é o teste de primeira contagem de germinação que avalia, indiretamente, a velocidade desse processo, de tal forma que, quanto maior o número de plântulas normais computado na primeira contagem do teste de germinação, maior será o vigor do lote (NAKAGAWA, 1999); a eficiência desse teste na diferenciação de lotes quanto ao vigor, foi verificada em sementes de cebola (MENDONÇA et al., 2000; RODO; MARCOS FILHO, 2003a), cenoura (TRIGO; TRIGO, 1995), melão (TORRES; MARCOS FILHO, 2003), pepino (TORRES; VIEIRA; MARCOS FILHO, 1999; BHERING et al., 2000) e alface (NASCIMENTO; PEREIRA, 2007).

Ainda em relação aos testes fisiológicos, destaca-se o teste de comprimento de plântulas. Nesse teste, é realizada a determinação do comprimento médio das plântulas normais ou de suas partes, tendo em vista que as amostras que apresentam os maiores valores médios são consideradas as mais vigorosas (NAKAGAWA, 1999). Essas considerações são válidas porque as sementes vigorosas originam plântulas com maior taxa de crescimento, em função de apresentarem maior capacidade de transformação e de suprimento de reservas dos tecidos de armazenamento e da maior incorporação destes pelo eixo embrionário (DAN et al., 1987).

Resultados satisfatórios para avaliação do potencial fisiológico com o uso do teste de comprimento de plântulas foram obtidos em sementes de milho doce (WANN, 1980; STYER; CANTLIFFE; HANNAH, 1980; STYER; CANTLIFFE, 1983) de brócolis (MENDONÇA et al., 2000), melão (BHERING et al., 2004) e pepino (BHERING et al., 2000; LIMA; MARCOS FILHO, 2009).

Apesar das vantagens apresentadas, os testes que se baseiam no desenvolvimento de plântulas, podem ser considerados menos sensíveis para detectar diferenças de vigor, quando comparados aos que avaliam a tolerância a estresses (MARCOS FILHO, 2005). Dentre estes, o teste de envelhecimento acelerado, há muito

tempo vem apresentando resultados satisfatórios para determinar o potencial fisiológico de sementes de várias espécies, quando submetidas à temperatura e umidade relativa elevadas (DELOUCHE; BASKIN, 1973). Esse teste tem sido incluído em programas de controle de qualidade conduzidos por empresas produtoras de sementes (HAMPTON; TEKRONY, 1995).

O princípio do teste baseia-se no aumento da taxa de deterioração das sementes, pela sua exposição a níveis elevados de temperatura e umidade relativa do ar, considerados os fatores ambientais de maior influência na intensidade e velocidade de deterioração (TEKRONY, 1995; MARCOS FILHO, 1999). Desta forma, são consideradas mais vigorosas as sementes que deterioram mais lentamente após serem submetidas ao envelhecimento acelerado. Estudos sobre o teste de envelhecimento acelerado incluem várias espécies de hortaliças, como rabanete (HAMPTON; TEKRONY, 1995), cebola (TEKRONY, 1995; RODO; MARCOS FILHO, 2003), cenoura (SPINOLA et al., 1998; RODO; PANOBIANCO; MARCOS FILHO, 2000), pimentão (TEKRONY, 1995; PANOBIANCO; MARCOS FILHO, 1998), tomate (RODO et al., 1998; PANOBIANCO; MARCOS FILHO, 2001), berinjela (BHERING et al., 2001), alface (TEKRONY, 1995; PEREIRA; NASCIMENTO, 2003), quiabo (TORRES; CARVALHO, 1998), brócolis (MELLO; SPINOLA; MINAMI, 1999), maxixe (TORRES; MARCOS FILHO, 2001), rúcula (RAMOS et al., 2004), ervilha (HAMPTON et al., 2004), couve-flor (MARCOS FILHO; KIKUTI, 2008) e melão (TORRES et al., 2009).

Alguns estudos conduzidos com espécies de sementes relativamente pequenas, como as hortaliças, têm apresentado resultados menos consistentes, devido às diferenças na velocidade e intensidade de absorção de água pelas sementes expostas a atmosfera úmida, podendo levar a variações acentuadas no grau de umidade das amostras após o período de envelhecimento. Powell (1995) observou variações acentuadas no grau de umidade, de 11,8 a 24,0%, em sementes de cebola, após o envelhecimento acelerado a 45°C/24h, a 100% de umidade relativa do ar, sendo que a germinação após o período do teste foi inversamente proporcional ao grau de umidade atingido.

Por esse motivo, foi sugerido por Jianhua e McDonald (1996), a exposição das sementes a soluções saturadas de sal durante a realização do teste, com a obtenção

de menor umidade relativa do ambiente no interior dos compartimentos individuais que no envelhecimento acelerado tradicional (NaCl - 76% UR, KCl - 87% UR ou NaBr - 55% UR), retardando a absorção de água pelas sementes. Assim, foi desenvolvido o teste de envelhecimento acelerado com uso de solução saturada de sal (EASS). A utilização de solução saturada de NaCl no teste de envelhecimento acelerado foi eficiente para avaliação do potencial fisiológico em sementes de pimentão (PANOBIANCO; MARCOS FILHO, 1998), cenoura (RODO; PANOBIANCO; MARCOS FILHO, 2000), tomate (PANOBIANCO; MARCOS FILHO, 2001), melão (TORRES; MARCOS FILHO, 2003), pepino (BHERING et al., 2000; ABDO et al., 2005), cebola (RODO, 2002), brócolis (MARTINS et al., 2002; FESSEL et al., 2005), rúcula (RAMOS et al., 2004), rabanete (ÁVILA; VILLELA; ÁVILA, 2006) e ervilha (NASCIMENTO et al., 2007).

2.1.2 Análise de Imagens de plântulas (Software SVIS[®])

A pesquisa sobre vigor de semente, visa dentre outros objetivos, desenvolver métodos que permitam distinguir lotes de acordo com o potencial fisiológico, cujos resultados estejam relacionados ao estabelecimento das plântulas em campo e ao potencial de armazenamento; além disso, os métodos devem ser simples, reproduzíveis e com rápida obtenção dos resultados.

Uma das possibilidades para conferir maior rapidez e consistência às informações obtidas sobre o vigor é o uso da análise de imagens, pois avaliações computadorizadas têm demonstrado possibilidade de obter resultados reproduzíveis, sem a interferência direta do analista.

Geneve e Kester (2001), na tentativa de aprimorar a avaliação do comprimento de plântulas, testaram o uso de um scanner para obtenção de imagens e demonstraram a eficiência da mensuração do comprimento de plântulas por meio da análise de imagens digitais, requerendo um tempo relativamente curto para sua execução. Além disso, no procedimento manual, foram detectadas diferenças entre os comprimentos das plântulas de um mesmo lote obtidas por analistas diferentes, evidenciando que o procedimento manual pode ser menos preciso que o computadorizado. Finch-Savage (1986) mensurou o crescimento de plântulas de couve-flor, alho-porro e cebola e

verificaram a existência de relação direta dos resultados com o vigor e subsequente desempenho das plântulas em campo.

No entanto, a maioria dos processos disponíveis avaliava apenas partes isoladas das plântulas, como área cotiledonar ou características das raízes (MARCOS FILHO, 2001). Diante desse quadro, McCormac et al. (1990), trabalhando com sementes de alface, propôs um método automatizado para avaliação do vigor, tomando como base o comprimento da raiz primária. Sako et al. (2001) desenvolveram um programa destinado à determinação do vigor de sementes de alface, mediante a análise computadorizada de imagens de plântulas (*Seed Vigor Imaging System – SVIS®*), com o objetivo de obter informações sobre o vigor, considerando também a velocidade e a uniformidade de desenvolvimento. Esse sistema após algumas adaptações foi utilizado com sucesso para outras espécies, como soja (HOFFMASTER et al., 2003; MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009), milho (HOFFMASTER et al., 2005; OTONI; MCDONALD, 2005), melão (MARCOS FILHO et al., 2006), feijão (GOMES JUNIOR; CHAMMA, 2008) e milho doce (GOMES JUNIOR, 2009).

O método consiste na captação de imagens digitais múltiplas em escaner, de plântulas com três a quatro dias de idade, seguidas pelo processamento das imagens com o uso de um programa de computação especialmente desenvolvido para esse fim; o processamento das imagens gera valores numéricos que, coletivamente, representam o potencial fisiológico das sementes, com base nos parâmetros preestabelecidos (MARCOS FILHO, 2005).

De acordo com Sako et al. (2001), com base no crescimento das plântulas, o “software”, calcula índices de crescimento e uniformidade, ambos variando de 0 a 1000; esses valores são diretamente proporcionais ao vigor das sementes. A uniformidade de desenvolvimento é um parâmetro avaliado pelo “software”, com base na comparação do crescimento das plântulas com o máximo crescimento esperado para cada espécie durante o período de duração do teste.

Por outro lado, a composição do índice de vigor compreende a combinação das avaliações do crescimento e uniformidade de desenvolvimento das plântulas. O “software” tem recursos que possibilitam a variação dessa proporção; as pesquisas iniciais já citadas foram conduzidas adotando-se a proporção 70:30, para crescimento

e uniformidade, Gomes Junior (2009) observou resultados mais consistentes, ao utilizar a proporção crescimento/uniformidade de 70:30 em comparação as proporções 30:70 e 50:50, na identificação de diferenças entre tratamentos de condicionamento fisiológico em sementes de milho. No entanto, há necessidade da continuidade da pesquisa, para verificar qual é realmente o procedimento mais adequado ou se deverá haver variações dessa proporção, dependendo da amostra ou espécie avaliada.

Além disso, o procedimento para avaliação do vigor de sementes por meio do *SVIS*[®] é simples e os resultados para uma amostra podem ser obtidos dentro de dois a três minutos (GOMES JUNIOR, 2009). Outras vantagens desse sistema incluem a eliminação do erro humano, aumentando a confiabilidade dos dados para fins de comparação, a possibilidade de arquivamento das imagens para análise posterior e o baixo custo que segundo Gomes Junior (2009), é equivalente ao custo para condução do teste de germinação.

Assim, o desenvolvimento de sistemas digitais para avaliação do potencial fisiológico de diferentes espécies pode constituir alternativa promissora na busca por métodos precisos e relativamente rápidos para avaliar o potencial fisiológico de sementes, que possam ser reproduzidos sem interferência humana, representando importante passo rumo à padronização.

2.2 Material e Métodos

A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Análise de Sementes e no Laboratório de Análise de Imagens do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, em Piracicaba – SP.

O período experimental incluiu avaliações do potencial fisiológico de sementes de pepino, em três épocas distintas, com intervalos aproximadamente trimestrais, de Novembro de 2009 a Julho de 2010. Os testes foram conduzidos em três épocas para verificar a consistência das informações obtidas.

2.2.1 Sementes

Foram utilizados dois cultivares de pepino, Supremo e Safira, representados por quatro lotes cada um, todos fornecidos pela empresa Sakata Seed Sudamerica. Os lotes do cv Safira disponibilizados pela empresa apresentaram potencial fisiológico distinto, o que não ocorreu com dois dos três lotes do cv Supremo; por esse motivo, foi necessário efetuar o envelhecimento artificial de parte das sementes recebidas, para obtenção de materiais deste cultivar com variações no vigor.

Desta maneira, para o cv Supremo, o lote 1 e o lote 2, permaneceram sem alterações. O lote 3 foi dividido em duas partes: uma não foi alterada e, a outra, foi envelhecida artificialmente a 41 °C durante 144h, constituindo o lote 4.

Em seguida, as sementes envelhecidas foram secadas no interior de uma câmara seca (20°C e 50% de umidade relativa do ar), onde foram distribuídas em camada única, uniforme e homogênea, até atingirem teores de água próximos aos iniciais (6%). Os lotes foram cuidadosamente homogeneizados manualmente e embalados em sacos de papel multifoliado e armazenados em câmara seca a 20°C com 50% de umidade relativa do ar, onde permaneceram durante todo período experimental.

2.2.2 Avaliação do grau de umidade e do potencial fisiológico das sementes

Determinação do grau de umidade

As determinações foram realizadas antes de cada teste de germinação, emergência das plântulas e antes e após o envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl, pelo método de estufa, a $105 \pm 3^\circ\text{C}$, por 24h, (BRASIL, 2009), utilizando-se duas amostras de sementes de 1,0g para cada lote. Os resultados foram expressos em percentagem (base úmida).

2.2.3 Germinação

Utilizaram-se quatro repetições de 50 sementes para cada lote, distribuídas em rolos de papel toalha a 25°C, umedecidos com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do substrato seco. As avaliações foram realizadas no quarto e oitavo dias após semeadura, de acordo com os critérios estabelecidos nas Regras para Análise de

Sementes (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em percentagem de plântulas normais para cada lote.

2.2.4 Primeira contagem de germinação

Constou do registro da percentagem média de plântulas normais para cada lote, no quarto dia após a semeadura do teste de germinação (item 2.2.3).

2.2.5 Emergência de plântulas

Para o teste de emergência de plântulas, utilizaram-se quatro repetições de 50 sementes para cada lote, distribuídas em bandejas de poliestileno com 200 células/bandeja, contendo substrato Plantmax[®]. Após a semeadura, as bandejas foram mantidas em ambiente protegido, sob temperatura média de 25°C. A percentagem de emergência de plântulas foi obtida no oitavo dias após semeadura.

Para a obtenção da velocidade de emergência, foram realizadas contagens diárias da emergência das plântulas, calculando-se o índice de acordo com fórmula proposta por Maguire (1962); e os resultados foram expressos em índice médio de velocidade de emergência para cada lote e cultivar

$$IVE = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \dots + \frac{G_n}{N_n}, \text{ onde:}$$

IVE: índice de velocidade de emergência

G1, G2,..., Gn = número de plântulas germinadas na primeira, segunda, até a última contagem N1, N2,..., Nn = número de dias desde a primeira, segunda, até a última contagem.

2.2.6 Envelhecimento acelerado (procedimento tradicional)

Utilizaram-se caixas de plástico (11x11x13cm) como compartimentos individuais, onde foram adicionado 40 ml de água destilada ao fundo de cada caixa, conforme descrito por Marcos Filho et al. (1999). As amostras de cada lote (contendo 6g cada) foram distribuídas de modo a formar camada única sobre superfície de tela metálica

suspensa no interior de caixa. As caixas foram tampadas e mantidas em câmara jaquetada de água, a 41°C, durante 96 horas, (LIMA; MARCOS FILHO, 2009). Após o envelhecimento, foi conduzido teste de germinação, conforme já descrito no item 2.2.3, computando-se as plântulas normais aos quatro dias após a semeadura. Foi determinado, também, o grau de umidade das sementes antes e após o período de envelhecimento acelerado, visando avaliação da uniformidade das condições do teste.

2.2.7 Envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl (EASS)

Foi conduzido conforme procedimentos descritos para o teste de envelhecimento acelerado tradicional (item 2.2.6); porém, substituiu-se o volume água adicionado às caixas por 40 ml de solução saturada de NaCl, visando proporcionar ambiente com 76% de umidade relativa, de acordo com metodologia proposta por Jianhua e McDonald (1996). A solução saturada de NaCl foi obtida adicionando-se 40g a 100 ml de água destilada. Após o envelhecimento acelerado, foi determinado o grau de umidade das sementes.

2.2.8 Comprimento de plântulas

Para avaliação do comprimento de plântulas, o substrato foi preparado da mesma forma para o teste de germinação (item 2.2.3), utilizando-se quatro repetições de 20 sementes por lote. Para orientar o crescimento das plântulas e facilitar a mensuração do comprimento, as sementes foram distribuídas no terço superior do papel-toalha, direcionando-se a micrópila para a base do substrato. O conjunto foi mantido no escuro, em germinador a 25 °C, por quatro dias. O comprimento da raiz primária, do hipocótilo e total das plântulas, foram obtidos com auxílio de uma régua graduada em milímetros. O comprimento médio das plântulas e de suas partes foram obtidos com a soma das medidas tomadas de cada plântula normal, em cada repetição, dividida pelo número total de sementes colocadas para germinar, para cada repetição (HAMPTON; TEKRONY, 1995). Os resultados foram expressos em comprimento médio (mm) por lote, com uma casa decimal (NAKAGAWA, 1999).

2.2.9 Estudo do procedimento para análise de imagens de plântulas (software SVIS[®])

Para a obtenção das plântulas para a análise de imagens, foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes para cada lote, colocadas para germinar em duas fileiras situadas no terço superior da superfície do papel-toalha umedecidos com quantidade de água equivalente a 2,0 vezes o peso do papel, durante 3 e 4 dias, mantidas em germinador, no escuro, a 25 °C. Em seguida, as imagens foram captadas em escaner HP Scanjet 2004, montado de maneira invertida no interior de uma caixa de alumínio com 60 cm x 50 cm x 12 cm e operado por *software* Photosmart, com resolução de 100 dpi.

As plântulas de cada repetição foram transferidas do papel-toalha para uma folha de cartolina preta com 30cm x 22cm (correspondente ao tamanho da área útil atingida pelo escaner), colocada sobre a plataforma interna da caixa metálica. As imagens escaneadas foram salvas em pasta específica do disco rígido e, em seguida, analisadas pelo sistema *Seed Vigor Imaging System (SVIS[®])* instalado em computador Pentium IV, com CPU de 2,0 GHz, 768 MB RAM e HD de 40Gb, operado por sistema Windows XP Profissional.

Nessa análise, o eixo raiz/hipocótilo de cada plântula é marcado em vermelho e, para a maioria das plântulas, o eixo é identificado corretamente; no entanto, pode haver necessidade de efetuar correções manuais de erros (com auxílio do "mouse").

Durante a análise, foram avaliadas variações da proporção crescimento/uniformidade de plântulas na composição do cálculo do índice de vigor, a fim de verificar qual proporção apresentaria melhores resultados (Figura 1). Assim, para a realização do teste pelo sistema *SVIS[®]* variaram o período de avaliação das plântulas (3 e 4 dias de idade) e as proporções de crescimento/uniformidade de plântulas para a composição do cálculo do índice de vigor, sendo estas: 70:30; 60:40; 75:25 e 80:20. O índice de vigor é resultante da combinação entre os índices de crescimento e de uniformidade, que podem variar de zero a 1000. Os dados para o tamanho máximo de plântulas foram estabelecidos preliminarmente, seis polegadas (15,24 cm) para plântulas com três dias de idade e nove polegadas (22,86 cm) para plântulas com quatro dias de idade. O registro desses valores no programa foi realizado clicando em

program parameters (Figura 1) e incluindo o tamanho máximo de plântulas e as combinações de crescimento e uniformidade avaliadas (Figura 2).

Depois de computados esses valores, o cursor é posicionado sobre cada plântula e acionado, indicando automaticamente o valor correspondente ao comprimento da plântula demarcada, em milímetros (depois foram transformados em centímetros); esses valores são apresentados em janela situada abaixo das imagens das plântulas. Para obter os valores correspondentes aos comprimentos da raiz primária e do hipocótilo, o cursor foi posicionado sobre a plântula na região de interseção raiz/hipocótilo, deletando-se a parte correspondente à parte da plântula que não deveria ser medida; para tanto, após pressionar a tecla F, a região foi marcada em vermelho e, com auxílio do “mouse”, efetuada eliminação. Em seguida, essa operação foi repetida, para que fosse deletada a imagem marcada da outra parte a ser medida. O resultado correspondente a cada uma dessas mensurações é exposto na mesma janela onde é exibido o comprimento total de cada plântula. Após o processamento das imagens, foram obtidos valores médios do índice de vigor, uniformidade de desenvolvimento e comprimento de plântulas, da raiz primária e do hipocótilo, para cada lote e cultivar (HOFFMASTER et al., 2005; MARCOS FILHO et al., 2006); O período compreendido entre o escaneamento e o final da análise de cada repetição foi, geralmente, inferior a 5 minutos.

Figura 1 – Imagens analisadas por meio do SVIS[®], indicação do *ProgramParameters*, onde é ajustado o máximo da plântula e a proporção crescimento/uniformidade para o cálculo do índice de vigor

Figura 2 – Imagens analisadas por meio do SVIS[®], obtidas do lote 1, cultivar Safira, no período de 3 dias de idade. Valores do índice de vigor “Vigor Index”=960; crescimento= 961 e uniformidade= 960 e comprimento de plântulas, em mm,= 140,46

Figura 3 – Imagem analisada por meio do SVIS[®], obtida do lote 1, cultivar Safira, com 3 dias de idade. Marcação da primeira plântula (em azul), com mensuramento da região (97,03 mm)

Figura 4 – Imagem analisada por meio do SVIS[®], obtida do lote 1, cultivar Safira, com 3 dias de idade, marcação do hipocótilo da primeira plântula (em azul), com mensuramento da região (43,94mm)

2.2.1.0 Procedimento estatístico

Os dados obtidos em cada época foram analisados separadamente para cada teste e cultivar. Para todos os testes realizados foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado.

Tabela 1- Esquema da análise de variância dos testes realizados

Causas de variação	GL
Lotes	3
Resíduo	12
Total	15

2.3 Resultados e Discussão

Embora tenham sido conduzidas três épocas experimentais de avaliação, foram apresentados os resultados referentes à primeira e terceira épocas de avaliação, uma vez que na segunda época de avaliação, houve problemas na condução dos testes em germinador, comprometendo a consistência dos resultados.

2.3.1 Primeira época de avaliação

2.3.1.1 Avaliação do potencial fisiológico das sementes

Na Tabela 2, estão os valores médios referentes ao teor de água, germinação, primeira contagem de germinação, comprimento da raiz primária, do hipocótilo e de plântulas (raiz primária/hipocótilo) e, na Tabela 3, os referentes aos testes de porcentagem e índice de velocidade de emergência de plântulas e aos teores de água antes e após os testes de envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl, para os cultivares Supremo e Safira.

Nesta época, as sementes apresentaram teor de água inicial entre 5,6 a 6,8% cv Supremo, e entre 5,1 a 5,7%, cv Safira. Com relação ao teste de envelhecimento acelerado tradicional, os teores de água antes do teste para o cv Supremo foram de 4,3% a 5,3% e, para o cv Safira, 4,7% a 5,0%; após o teste, os teores variaram de 22,0% a 23,1% e de 21,6% a 23,4%, respectivamente, para o cv Supremo e Safira. Para o teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl, os teores de água antes do teste variaram de 4,7% a 6,5% cv Supremo, e de 4,7% a 4,9% cv Safira, os teores de água após o teste variaram de 8,4% a 10,2% cv Supremo, e de 8,1% a 8,5% cv Safira (Tabela 3).

Os valores dos graus de umidade depois do envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl, mantiveram-se inferior ao limite tolerável indicado na literatura (dois pontos percentuais), sendo este um indicador da uniformidade das condições do teste de envelhecimento acelerado (MARCOS FILHO, 1999).

Em relação ao cv Supremo, a germinação das sementes na primeira época de avaliação foi semelhante, entre os lotes 1, 2 e 3 (Tabela 2), que revelaram melhor desempenho em relação ao lote 4. Mesmo assim, o lote 4 apresentou valor de

germinação de 85%, sendo superior ao mínimo (80%) estabelecido para comercialização de sementes de pepino.

Ainda em relação ao cv Supremo, nos testes de primeira contagem de germinação, comprimento de raiz primária e comprimento de plântulas (raiz primária+hipocótilo), os resultados observados foram semelhantes ao do teste de germinação (Tabela 2). No entanto, apesar do lote 1 não apresentar diferença estatística dos lotes 2 e 3 nos testes citados anteriormente, no teste de comprimento do hipocótilo, foi observada inferioridade no potencial fisiológico do lote 1 e do lote 4 em relação aos demais.

Quanto à percentagem de emergência de plântulas, não houve diferença estatística entre os lotes; isto se justifica, uma vez que o teste foi conduzido em ambiente protegido, em condições de ambiente favorável à germinação das sementes. No entanto, os valores médios para o índice de velocidade de emergência (Tabela 3), indicaram os lotes 1 e 4 com vigor inferior aos demais, demonstrando a menor velocidade de emergência das plântulas; assim, mesmo lotes apresentando semelhanças nas percentagens de emergência de plântulas, podem mostrar diferenças na velocidade de emergência, indicando possíveis diferenças no vigor (NAKAGAWA, 1999)

Em relação ao teste de envelhecimento acelerado tradicional, os lotes 2 e 3 apresentaram potencial fisiológico superior ao dos lotes 1 e 4, enquanto, no envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl, o lote 4 foi considerado de menor potencial fisiológico que os demais. Essa diferença existente entre os testes de envelhecimento acelerado, ocorre porque no envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl, a redução da velocidade de captação de água e da intensidade de deterioração provoca efeitos menos drásticos sobre as sementes e resultados em menos variáveis (PANOBIANCO; MARCOS FILHO, 2001), o que não acontece no envelhecimento acelerado tradicional.

Para o cv Safira, os quatro lotes estudados não apresentaram diferenças quanto à germinação, primeira contagem de germinação, percentagem e índice de velocidade de emergência de plântulas (Tabelas 2 e 3); isto é interessante, pois um dos objetivos básicos dos testes de vigor é avaliar ou detectar diferenças significativas no potencial

fisiológico dos lotes com germinação semelhante, complementando as informações pelo teste de germinação (MARCOS FILHO, 1999).

Analizando os resultados do comprimento da raiz primária, do hipocótilo e das plântulas (raiz primária+hipocótilo) do cv Safira, verificou-se que os lotes não diferiram estatisticamente entre si, confirmando informações fornecidas pelo teste de germinação; porém, observou-se uma tendência à inferioridade para o lote 7 (Tabela 2). Essa observação foi confirmada pelo teste de envelhecimento acelerado tradicional. Nesse caso, o teste também acusou o lote 8 como de potencial fisiológico inferior aos lotes 5 e 6, que apresentaram maior vigor. Este fato foi confirmado pelo teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl, que também identificou o lote 8 como de menor vigor e o lote 5 como o mais vigoroso; os lotes 6 e 7 foram classificados como de vigor intermediário.

Tabela 2 – Dados médios referentes ao teor de água (TA), primeira contagem de germinação, porcentagem de germinação, comprimentos da raiz primária; hipocótilo e raiz/hipocótilo em lotes de sementes dos cultivares Supremo e Safira, na primeira época de avaliação. Piracicaba –SP

Cultivar	Lotes	TA %	1ª Cont %	Germinação %	Comp. Raiz primária (cm)	Comp. Hipócotilo cm	Comp. Raiz/ Hipocótilo cm
Supremo	1	5,6	96 a*	99 a	9,70 a	3,95 b	14,00 ab
	2	6,8	97 a	98 a	12,05 a	5,50 a	17,75 a
	3	5,7	98 a	99 a	11,25 a	5,35 a	16,50 a
	4	6,6	85 b	88 b	6,50 b	3,50 b	10,25 b
	c.v (%)		4,33	3,04	12,42	10,56	12,25
Safira	5	5,7	94 a	100 a	11,25 a	6,50 a	17,50 a
	6	5,6	94 a	100 a	11,87 a	6,75 a	18,50 a
	7	5,1	97 a	100 a	10,40 a	5,50 a	15,95 a
	8	5,7	88 a	97 a	11 75 a	6,00 a	17,75 a
	c.v (%)		5,04	1,88	8,1	10,17	7,26

* Comparação das médias em cada coluna (Tukey, $p \leq 0,05$), separadamente para cada cultivar

TA: teor de água

1ª Cont.: média dos valores do teste de primeira contagem de germinação.

Tabela 3 – Dados médios referentes ao teor de água inicial; porcentagem e velocidade de emergência de plântulas (índice), envelhecimento acelerado tradicional e envelhecimento acelerado com solução salina de NaCl para lotes dos cultivares Supremo e Safira, na primeira época de avaliação. Piracicaba-SP

Cultivar	Lotes	Emergência de Plântulas	IVE	E.A.T.	E.A.S.S
		%		%	%
Supremo	1	100 a	12,76 b	61 b	91 a
	2	94 a	15,08 a	85 a	98 a
	3	96 a	15,63 a	90 a	95 a
	4	93 a	13,82 b	48 b	78 b
c.v (%)		3,29	3,64	10,12	4,54
Safira	5	96 a	15,14 a	97 a	100 a
	6	98 a	15,22 a	98 a	98 ab
	7	99 a	16,27 a	60 c	98 ab
	8	100 a	15,65 a	67 b	96 b
c.v (%)		3,02	3,81	3,97	2,00

Comparação das médias em cada coluna (Tukey, $p \leq 0,05$), separadamente para cada cultivar

TA: teor de água

IVE: índice de velocidade de emergência de plântulas.

EAT: envelhecimento acelerado tradicional

EASS: envelhecimento acelerado com solução salina de NaCl

2.3.1.2 Análise de imagens de plântulas (*Software SVIS[®]*)

Os resultados da avaliação do potencial fisiológico para plântulas obtidas após três e quatro dias de idade e analisadas pelo sistema *SVIS[®]* estão apresentados nas Tabelas 4 e 5, para os cv Supremo e Safira na primeira época de avaliação.

Para análise pelo *SVIS[®]* em plântulas com três dias de idade para o cv Supremo, o comprimento do hipocótilo e a uniformidade de desenvolvimento não identificaram diferenças entre os lotes estudados. Porém, o lote 4 revelou-se como de menor vigor, no comprimento da raiz primária, comprimento de plântulas (raiz primária+hipocótilo), crescimento e índice de vigor para as variações usadas (60:40; 70:30; 75:25; 80:20), e os lotes 1, 2 e 3 como os de maior vigor (Tabela 4).

Em plântulas obtidas com quatro dias de idade e analisadas pelo *SVIS[®]* do cv Supremo, o lote 4 foi identificado com desempenho inferior ao demais lotes (Tabela 5). O lote 1 apresentou valor intermediário, exceto na uniformidade de desenvolvimento que foi semelhante aos lotes 2 e 3. No comprimento da raiz primária e comprimento do hipocótilo, o lote 2 apresentou desempenho superior; porém, nos outros parâmetros obtidos pelo *SVIS[®]* os lotes 2 e 3 foram superiores.

O período de quatro dias adotado para avaliar as plântulas para o cv Supremo permitiu separar os lotes em diferentes níveis de vigor de modo mais eficaz que o período de três dias, sendo eficiente para demonstrar que os lotes 2 e 3 foram superiores, o lote 1 intermediário e o lote 4 inferior.

Para o cv Safira, a análise de plântulas com três dias de idade pelo *SVIS[®]*, não foi sensível para identificar diferenças no potencial fisiológico dos lotes, para as variações usadas (60:40; 70:30; 75:25; 80:20), porém, o lote 8 apresentou inferioridade nos resultados, detectada pelo comprimento da raiz primária (Tabela 4), onde esse lote foi o menos vigoroso, o lote 7 apresentou vigor intermediário e os lotes 5 e 6 foram os mais vigorosos.

Não houve diferenças estatísticas entre os lotes, para os índices de comprimento do hipocótilo, comprimento de plântulas (raiz primária + hipocótilo), crescimento e uniformidade de desenvolvimento.

Em plântulas com quatro dias de idade, o *SVIS[®]* indicou, com eficiência, o lote 7 como de potencial fisiológico inferior ao demais, quando analisadas as variações

(60:40; 70:30; 75:25; 80:20); o mesmo resultado foi obtido nas avaliações do comprimento da raiz primária, do hipocótilo, de plântulas (raiz primária+hipocótilo) e para o índice de crescimento, onde o lote 8 mostrou vigor intermediário, e os lotes 5 e 6 maior vigor (Tabela 5). O índice de uniformidade mostrou o lote 8 como de menor vigor, o lote 7 com vigor intermediário e os lotes 5 e 6 como os de maior vigor.

Em relação ao período de germinação das plântulas, para ambos os cultivares, o período de quatro dias mostrou ser mais eficiente, já que as plântulas tiveram tempo suficiente para se estabelecer e, dessa forma, houve possibilidade de diferenciar de forma mais clara o potencial fisiológico dos lotes. Quanto às variações utilizadas (60:40; 70:30; 75:25; 80:20), todas diferenciaram o potencial fisiológico dos lotes, de forma coerente com outros testes avaliados, de modo que a proporção 70:30, habitualmente utilizada para avaliações em outras espécies, pode ser adotada com sucesso para a condução de análises *SVIS*[®] em plântulas de pepino.

Tabela 4 – Avaliação de lotes de sementes de pepino cv. Supremo e cv. Safira, pelo *software SVIS®* em plântulas de 3 dias obtidas a 25°C, na primeira época de avaliação. Piracicaba-SP

Cultivar	Lotes	3 dias de germinação								
		Comp. Raiz	Comp. Hipocótilo	Comp. Raiz/Hipocótilo	C	U	Índices de vigor			
		cm	cm	cm	Índices		60:40	70:30	75:25	80:20
Supremo	1	9,00 a	2,25 a	11,00 a	836 a	920 a	869 a	860 a	851 a	852 a
	2	8,00 ab	2,25 a	10,25 a	892 a	935 a	927 a	926 a	925 a	924 a
	3	7,75 ab	2,00 a	9,75 a	834 a	931 a	872 a	863 a	858 a	853 a
	4	4,75 ab	1,65 a	6,25 a	605 b	911 a	727 b	696 b	681 b	666 b
c.v (%)		24,6	40,5	25,61	12,52	1,55	7,38	8,69	9,06	10
Safira	5	8,00 a	3,00 a	10,75 a	688 a	945 a	943 a	943 a	942 a	942 a
	6	8,04 a	2,75,a	14,75 a	674 a	939 a	935 a	935 a	934 a	934 a
	7	7,75 ab	2,98 a	10,25 a	650 a	951 a	918 a	912 a	909 a	907 a
	8	7,25 b	2,75 a	10,00 a	651 a	924 a	904 a	901 a	899 a	897 a
c.v (%)		4,59	12,32	36,07	4,05	1,74	2,71	3,1	3,29	3,5

Comparação das médias em cada coluna (Tukey, $p \leq 0,05$), separadamente para cada cultivar.

Comp. Raiz: média dos valores do comprimento de raiz primária em cm.

Comp. Hipocótilo: média dos valores do comprimento do hipocótilo em cm.

C: índice de crescimento.

U: índice de uniformidade de desenvolvimento.

Tabela 5 - Avaliação de lotes de sementes de pepino cv. Supremo e cv. Safira, pelo *software SVIS®* em plântulas de 4 dias obtidas a 25°C, na primeira época de avaliação. Piracicaba-SP

Cultivar	Lotes	4 dias de germinação								
		Comp. Raiz	Comp. Hipocótilo	Comp. Raiz/Hipocótilo	C	U	Índices de vigor			
		cm	cm	cm	Índices		60:40	70:30	75:25	80:20
Supremo	1	8,75 bc	3,00 bc	11,75 b	688,5 b	948,3 a	784,8 b	761,0 b	749,2 b	737,8 b
	2	11,25 a	4,25 a	15,75 a	917,3 a	947,5 a	929,3 a	926,3 a	924,3 a	923,3 a
	3	10,50 ab	3,75 ab	14,75 a	836,3 a	938,3 a	876,8 a	866,5 a	861,5 a	856,3 a
	4	7,00 c	2,75 c	9,25 c	582,5 c	901,8 a	709,8 c	677,8 c	661,8 c	653,3 b
c.v (%)		12,51	12,6	9,24	6,68	2,47	3,85	4,49	4,83	5,45
Safira	5	10,64 a	5,75 a	16,25 ab	969,7 a	953,8 a	962,8 a	964,5 a	965,3 a	965,8 a
	6	11,00 a	6,25 a	17,24 a	968,5 a	954,0 a	962,5 a	963,8 a	964,5 a	965,3 a
	7	9,13 b	4,25 b	13,85 c	793,3 c	942,8 ab	852,8 c	837,5 c	830,3 c	822,5 c
	8	9,72 ab	5,25 ab	15,25 bc	900,0 b	936,8 b	914,5 b	910,8 b	909,0 b	907,0 b
c.v (%)		6,05	9,3	5,27	3,07	0,57	1,9	2,21	2,33	2,49

Comparação das médias em cada coluna (Tukey, $p \leq 0,05$), separadamente para cada cultivar.

Comp. Raiz: média dos valores do comprimento de raiz primária em cm.

Comp. Hipocótilo: média dos valores do comprimento do hipocótilo em cm.

C: índice de crescimento.

U: índice de uniformidade de desenvolvimento.

2.3.1.3 Comparação da análise digital de imagens de plântulas (*software SVIS®*) com testes convencionais de vigor

A análise de plântulas com três dias de idade pelo *SVIS®*, indicou para o cv Supremo, o lote 1 como de maior vigor e os lotes 2, 3 com vigor intermediário, demonstrando inferioridade do lote 4 em relação aos demais, no comprimento da raiz primária. Esse resultado se confirmou nas variações (60:40; 70:30; 75:25 e 80:20) e no índice de crescimento plântulas (Tabela 4) analisadas pelo *SVIS®*, assim como nos testes de germinação, primeira contagem de germinação, comprimento da raiz primária, comprimento de plântulas (raiz primária+hipocótilo) e envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl (Tabelas 2 e 3), onde o lote 4 foi o menos vigoroso que os lotes 1, 2 e 3 (Tabelas 2 e 3).

Ainda para o cv Supremo, os valores médios obtidos na análise pelo *SVIS®*, para a uniformidade de desenvolvimento não indicaram diferenças significativas entre os lotes, assim como comprimento do hipocótilo e das plântulas (raiz primária+hipocótilo), confirmando os resultados apresentados na percentagem de emergência de plântulas (Tabela 3), segundo Nakagawa (1999) e Vanzolini et al. (2007), os resultados dos testes de comprimento de plântulas ou de suas partes, podem apresentar estreita relação com a emergência de plântulas.

No entanto, para os testes de vigor, como o comprimento do hipocótilo, envelhecimento acelerado tradicional e para o índice de velocidade de emergência de plântulas (Tabelas 2 e 3), os valores médios obtidos condizem em parte com os valores obtidos pelo *SVIS®*.

Dessa forma, o vigor das plântulas foi identificado de maneira coerente pelas variações utilizadas pelo *SVIS®*, se assemelhando aos resultados obtidos pelos testes tradicionais para avaliação do vigor.

Em plântulas com quatro dias de idade, os resultados obtidos, para o cv Supremo, nas variações usadas pelo *SVIS®* (60:40; 70:30; 75:25 e 80:20), para o índice de crescimento de plântulas, para os comprimentos da raiz primária, do hipocótilo e de plântulas (raiz primária+hipocótilo) (Tabela 5), foram semelhantes aos obtidos nos testes de comprimento do hipocótilo, índice de velocidade de emergência de plântulas e envelhecimento acelerado tradicional, Marcos Filho et al. (2006) trabalhando com

melão, verificou que o vigor das sementes, avaliados pelo *SVIS*[®], apresentava valores consistentes em comparação à velocidade de germinação, ao envelhecimento acelerado e à percentagem de emergência de plântulas.

A uniformidade de desenvolvimento determinada pelo *SVIS*[®], não indicou diferenças entre os lotes, assim como no teste de emergência de plântulas (Tabelas 3 e 5); isto se deve ao fato, das sementes possuírem potencial germinativo elevado, o que favoreceu o desenvolvimento das plântulas, já que os testes são realizados em condições favoráveis de ambiente.

Com relação aos testes de vigor, como primeira contagem de germinação, comprimento da raiz primária e de plântulas (raiz primária+hipocótilo) e envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl (Tabelas 2 e 3), o potencial fisiológico dos lotes foram separados com eficiência, identificando o lote 4 como menos vigoroso que os demais. No entanto, a sensibilidade do *SVIS*[®], para identificar diferenças no potencial fisiológico das sementes foi mais eficaz, uma vez que foi detectada, além da inferioridade de vigor do lote 4, também a do lote 1. Isso se deve, ao fato, de que um dos mais importantes parâmetros para a avaliação do vigor de lotes de sementes é a velocidade e uniformidade de crescimento, enfatizada pelo próprio conceito de vigor (MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009).

Todas as variações usadas para análise pelo *SVIS*[®] foram eficientes para diferenciar os lotes quanto ao potencial fisiológico; no entanto, o período de quatro dias foi mais preciso e coerente na classificação do vigor, quanto comparado com os testes de vigor tradicionais utilizados para o pepino.

Para o cv Safira, em plântulas com três dias, as variações avaliadas nas proporções crescimento/uniformidade (60:40; 70:30; 75:25 e 80:20), não contribuíram para aprimorar a identificação de diferenças entre os lotes; estas também não foram detectadas nas avaliações do comprimento do hipocótilo e de plântulas (raiz primária+hipocótilo) e do índice de crescimento e uniformidade de desenvolvimento. Esses resultados confirmam os obtidos nos testes de germinação, comprimento da raiz primária, do hipocótilo e de plântulas (raiz primária+hipocótilo), além da percentagem e do índice de velocidade de emergência de plântulas. Essa ausência de diferenças entre

os lotes, não foi surpreendente, pois as sementes possuíam poder germinativo elevado e as condições do ambiente foram muito favoráveis durante esses testes.

Os resultados obtidos com o uso do *SVIS*[®], indicaram o lote 8 como o de menor potencial fisiológico que os demais, confirmando os resultados do teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl. Dessa forma, a análise *SVIS*[®] se mostrou consistente, já que o teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl é considerado eficiente para determinação do vigor de sementes de pepino (LIMA; MARCOS FILHO, 2009) e para soja (MARCOS FILHO et al., 1999).

O comprimento da raiz primária, analisado pelo *SVIS*[®], mostrou tendência à inferioridade de vigor do lote 7, confirmando o teste de envelhecimento acelerado tradicional (Tabelas 3 e 4).

Para plântulas do cv Safira, com quatro dias de idade, o *SVIS*[®], foi eficiente para identificar o menor potencial fisiológico do lote 7, nas variações (60:40; 70:30; 75:25 e 80:20), no índice de crescimento e comprimento da raiz primária, do hipocótilo e de plântulas (raiz primária+hipocótilo), confirmando esses valores com os apresentados nos testes de envelhecimento acelerado tradicional. Para a uniformidade de desenvolvimento, o lote 8 apresentou vigor mais baixo, de maneira semelhante à verificada no teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl.

Ainda no cv Safira, para primeira contagem de germinação, comprimentos da raiz primária, do hipocótilo e de plântulas (raiz primária+hipocótilo), além da percentagem e do índice de velocidade de emergência de plântulas, não houve diferenças estatísticas entre os lotes, provavelmente devido ao elevado potencial fisiológico das sementes.

Assim, a eficiência das análises do *SVIS*[®] foi semelhante para ambos os cultivares. Com relação ao período para a avaliação pelo *SVIS*[®] plântulas com quatro dias de idade, mostraram resultados mais precisos e confiáveis, pois, apesar de se perder em mais um dia no período para avaliação, ganha-se na avaliação reproduzível e objetiva. Estudos com a técnica já ocorreram com alface (SAKO et al., 2001), milho (HOFFMASTER et al., 2005; OTONI; McDONALD, 2005), melão (MARCOS FILHO et al., 2006), algodão (OTONI; McDONALD; TAY, 2008), soja (MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009) e milho doce (GOMES JUNIOR, 2009).

2.3.2 Segunda época de avaliação

2.3.2.1 Avaliação do potencial fisiológico das sementes

Estão apresentados nas Tabelas 6 e 7, os dados referentes ao grau de umidade e aos testes de germinação, comprimento da raiz primária, do hipocótilo e de plântulas (raiz primária+hipocótilo), percentagem e índice de velocidade de emergência de plântulas, envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl, para os cultivares Supremo e Safira.

Os resultados dos teores de água dos cultivares Supremo e Safira estão apresentados na Tabela 6. As sementes apresentaram teor de água inicial de 6,2% a 6,7% para o cv Supremo e de 6,0% a 6,5% para o cv Safira. Em relação ao teste de envelhecimento acelerado tradicional, o teor de água inicial das sementes foi de 6,0% a 6,6% para o cv Supremo e 6,2% a 6,6% para o cv Safira; após o teste, os teores variaram de 23,0% a 24,5% cv Supremo e 22,7% a 24,2% para o cv Safira. Para o teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl, o teor de água inicial variou de 6,4% a 6,9% para o cv Supremo e 6,1% a 6,4% para o cv Safira; o teor de água das sementes após o teste variaram entre 8,0% a 8,5% cv Supremo e 7,9% a 8,3% para o cv Safira, não afetando o comportamento das sementes durante a realização dos testes conduzidos.

Nos testes de primeira contagem e de germinação, o lote 4 foi o menos vigoroso o lote 2, o mais vigoroso. Nos testes de comprimento da raiz primária, do hipocótilo e de plântulas (raiz primária+hipocótilo), os lotes 1 e 4 apresentaram vigor inferior aos lotes 2 e 3 (Tabela 6), se assemelhando ao verificado na primeira época de avaliação. (WOODSTOCK, 1969; STEINER, 1990; NAKAGAWA, 1999), relataram que a determinação do potencial fisiológico de sementes mediante o crescimento de plântulas ou de suas partes é um procedimento de eficiência comprovada. Em relação à percentagem de emergência de plântulas, envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl, o menor desempenho fisiológico foi identificado no lote 4 e o melhor nos lotes 1, 2 e 3. No entanto, no índice de velocidade de emergência, o menor vigor foi constatado no lote 1 e, os lotes 2 e 3, vigor superior. Para o cv Safira, não houve diferenças significativas entre os lotes nos testes de primeira contagem e de germinação. O mesmo ocorreu para o teste de comprimento da raiz primária, mas os

testes de comprimento do hipocótilo e de plântulas (raiz primária+hipocótilo), indicaram o vigor inferior do lote 5 e o melhor desempenho de vigor do lote 6, não condizendo com primeira época de avaliação.

Para a percentagem e índice de velocidade de emergência, os lotes não diferiram entre si (Tabela 7); resultados elevados de percentagem de emergência de plântulas e de germinação não significam necessariamente que os lotes possuem alto vigor, uma vez que o teste de emergência de plântulas foi conduzido em condições favoráveis de temperatura, umidade e luminosidade, permitindo ao lote expressar o potencial máximo para produzir plântulas normais (MARCOS FILHO, 1999). Resultados semelhantes ocorreram no teste de envelhecimento acelerado tradicional, diferindo da primeira época de avaliação e no teste de envelhecimento acelerado com solução saturada de NaCl.

Tabela 6 - Dados médios referentes ao teor de água (TA), primeira contagem de germinação, porcentagem de germinação, comprimentos da raiz primária; do hipocótilo e raiz/hipocótilo em lotes de sementes dos cultivares Supremo e Safira, na segunda época de avaliação. Piracicaba – SP

Cultivar	Lotes	TA %	1ª Cont %	Germinação %	Comp. Raiz primária (cm)	Comp. Hipocotilo cm	Comp. Raiz/ Hipocótilo cm
Supremo	1	6,2	96 ab	98 ab	8,25 b	3,00 b	11,25 b
	2	6,5	100 a	100 a	12,25 a	4,75 a	16,50 a
	3	6,6	98 ab	98 ab	11,75 a	4,25 a	15,50 a
	4	6,7	92 b	93 b	7,00 b	3,00 b	9,75 b
c.v (%)		----	3,67	3,2	10,3	9,43	8,00
Safira	5	6,3	99 a	100 a	10,50 a	4,00 b	14,50 b
	6	6,4	99 a	99 a	12,50 a	5,25 a	18,00 a
	7	6,0	93 a	98 a	12,00 a	5,00 ab	17,00 ab
	8	6,5	98 a	98 a	10,75 a	5,00 ab	15,75 ab
c.v (%)		----	4,01	1,83	10,33	9,95	9,97

Comparação das médias em cada coluna (Tukey, $p \leq 0,05$), separadamente para cada cultivar.

TA: teor de água

1ª Cont.: média dos valores do teste de primeira contagem de germinação

Tabela 7 - Dados médios referentes ao teor de água inicial; porcentagem e velocidade de emergência de plântulas (índice), envelhecimento acelerado tradicional e envelhecimento acelerado com solução salina de NaCl para lotes dos cultivares Supremo e Safira, na segunda época de avaliação. Piracicaba-SP

Cultivar	Lotes	Emergência de Plântulas	IVE	E.A.T.	E.A.S.S
		%		%	%
Supremo	1	94 ab	10,50 c	88 a	93 a
	2	99 a	13,00 a	83 a	91 a
	3	98 a	13,00 a	95 a	93 a
	4	92 b	11,50 b	52 b	53 b
c.v (%)		2,38	3,4	9,22	7,80
Safira	5	99 a	14,00 a	94 a	95 a
	6	99 a	13,75 a	90 a	90 a
	7	100 a	14,00 a	88 a	96 a
	8	98 a	14,25 a	89 a	93 a
c.v (%)		1,98	5,65	7,13	4,82

Comparação das médias em cada coluna (Tukey, $p \leq 0,05$), separadamente para cada cultivar

TA: teor de água

IVE: índice de velocidade de emergência de plântulas.

EAT: envelhecimento acelerado tradicional

EASS: envelhecimento acelerado com solução salina de NaCl.

2.3.2.2 Análise de imagens de plântulas (*Software SVIS®*)

Estão apresentados nas Tabelas 8 e 9, os resultados da avaliação do potencial fisiológico das plântulas dos cultivares Supremo e Safira, com três e quatro dias de idade através do *SVIS®*.

Para o cv Supremo, em plântulas com três dias de idade, os lotes 1 e 4 apresentaram menor potencial fisiológico para as variações avaliadas (60:40; 70:30; 75:25 e 80:20), para comprimento da raiz primária, de plântulas (raiz primária+hipocótilo) e para o índice de crescimento, condizendo com a primeira época de avaliação (Tabela 8). Para a uniformidade de desenvolvimento e comprimento do hipocótilo, não foram identificadas diferenças entre os lotes.

Em plântulas com quatro dias de idade para o cv Supremo, o *SVIS®* identificou o lote 4 com o de menor potencial fisiológico para os comprimentos da raiz primária, do hipocótilo e de plântulas (raiz primária+hipocótilo). Para o índice de uniformidade, não houve diferenças entre os lotes; para as variações avaliadas (60:40; 70:30; 75:25 e 80:20) e para o índice de crescimento (Tabela 9), os lotes 2 e 3 foram os mais vigorosos, e o lote 4 o de menor vigor e o lote 1.

Em plântulas com três dias para o cv Safira, os lotes não diferiram estatisticamente entre si e apresentaram vigor elevado. A única diferença ocorrida foi para comprimento do hipocótilo onde o lote 5 foi o mais vigoroso que os lotes 6, 7 e 8 (Tabela 8). Nos índices de vigor avaliados (60:40; 70:30; 75:25 e 80:20), os resultados apresentados pelo *SVIS®* foram compatíveis com os ocorridos na primeira época de avaliação, não havendo diferenças entre os lotes de sementes.

Com relação ao cv Safira, as plântulas com quatro dias de idade, não apresentaram diferença estatística entre os lotes nos comprimentos de raiz primária, de plântulas (raiz primária+hipocótilo) e do hipocótilo através do *SVIS®*; a única diferença detectada pelo sistema foi no índice de uniformidade, onde o lote 7 foi o menor vigoroso e, o lote 8, vigor superior. Com relação à proporção uniformidade/crescimento, o sistema não identificou diferenças no potencial fisiológico entre os lotes testados. De maneira geral, esses valores condizem com os obtidos na primeira época de avaliação.

Tabela 8 - Avaliação de lotes de sementes de pepino cv. Supremo e Safira, através do *software SVIS®* em plântulas com 3 dias de germinação obtidas a 25 °C, na segunda época de avaliação. Piracicaba-SP

Cultivar	Lotes	3 dias de germinação								
		Comp. Raiz	Comp. Hipocótilo	Comp. Raiz/Hipocótilo	Crescimento	Uniformidade	Índices de vigor			
		cm	cm	cm	Índices	60:40	70:30	75:25	80:20	
Supremo	1	5,75 b	2,00 a	7,25 b	662 b	922 a	766 b	740 b	727 b	714 b
	2	8,26 a	2,00 a	10,00 a	914 a	943 a	925 a	922 a	921 a	919 a
	3	8,25 a	2,12 a	10,25 a	893 a	943 a	913 a	908 a	905 a	903 a
	4	5,42 b	2,00 a	7,00 b	652 b	917 a	753 b	727 b	715 b	702 b
c.v (%)		11,1	5,91	9,17	4,74	1,92	2,92	3,31	3,52	3,79
Safira	5	8,25 a	3,00 a	10,75 a	932 a	908 a	922 a	924 a	926 a	927 a
	6	8,00 a	2,00 b	10,50 a	940 a	933 a	937 a	937 a	938 a	936 a
	7	7,25 a	2,03 b	9,25 a	864 a	923 a	887 a	857 a	879 a	876 a
	8	8,25 a	2,25 b	10,25 a	963 a	931 a	950 a	953 a	954 a	956 a
c.v (%)		6,93	10,84	8,62	5,88	3,36	4,8	4,99	5,2	5,27

Comparação das médias em cada coluna (Tukey, $p \leq 0,05$), separadamente para cada cultivar.

Comp. Raiz: média dos valores do comprimento de raiz primária em cm.

Comp. Hipocótilo: média dos valores do comprimento do hipocótilo em cm.

C: índice de crescimento.

U: índice de uniformidade

Tabela 9 - Avaliação de lotes de sementes de pepino cv. Supremo e Safira, através do *software SVIS®* em plântulas com 4 dias de germinação obtidas a 25°C, na segunda época de avaliação. Piracicaba-SP

Cultivar	Lotes	4 dias de germinação								
		Comp. Raiz	Comp. Hipocótilo	Comp. Raiz/Hipocótilo	C	U	Índices de vigor			
		cm	cm	cm	Índices		60:40	70:30	75:25	80:20
Supremo	1	10,00 a	4,00 a	14,00 a	815 ab	917 a	856 ab	845 ab	840 ab	835 ab
	2	10,77 a	4,00 a	15,00 a	931 a	903 a	920 a	922 a	922 a	925 a
	3	11,25 a	3,83 a	15,25 a	913 a	918 a	914 a	914 a	914 a	913 a
	4	6,67 b	2,75 b	9,50 b	700 b	885 a	774 b	755 b	746 b	737 b
c.v (%)		11,25	10,38	11,32	8,36	2,46	5,77	6,41	6,7	7,04
Safira	5	11,25 a	5,50 a	16,50 a	939 a	908 ab	926 a	929 a	931 a	933 a
	6	11,84 a	5,50 a	17,25 a	965 a	913 ab	943 a	949 a	951 a	954 a
	7	10,75 a	4,99 a	15,75 a	899 a	890 b	895 a	897 a	897 a	897 a
	8	11,69 a	5,50 a	17,00 a	1000 a	963 a	985 a	989 a	991 a	992 a
c.v (%)		6,46	9,31	7,47	6,10	3,35	4,9	5,19	5,33	5,45

Comparação das médias em cada coluna (Tukey, $p \leq 0,05$), separadamente para cada cultivar.

Comp. Raiz: média dos valores do comprimento de raiz primária em cm.

Comp. Hipocótilo: média dos valores do comprimento do hipocótilo em cm.

C: índice de crescimento.

U: índice de uniformidade.

2.3.2.3 Comparação da análise digital de imagens de plântulas (software SVIS®) com testes convencionais de vigor

Para o cv Supremo, em plântulas com três dias de idade, os valores médios encontrados pelo *SVIS®*, para as proporções analisadas (60:40; 70:30; 75:25 e 80:20), para os comprimento da raiz primária, de plântulas (raiz primária+hipocótilo) e para o índice de crescimento (Tabela 8) foram condizentes com os resultados apresentados nos testes realizados na primeira época de avaliação. Esse fato comprova que o *SVIS®*, foi eficaz na diferenciação dos lotes, uma vez que para Nakagawa (1999), o teste de comprimento de plântulas ou de suas partes tem sido considerado eficiente para detecção de diferenças no potencial fisiológico.

Nos testes de primeira contagem de germinação, percentagem de emergência de plântulas, envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl, o lote 4 foi o menos vigoroso. Porém, para o índice de velocidade de emergência de plântulas, os lotes 1 e 4 foram os menos vigorosos, confirmando os valores obtidos pelo *SVIS®*.

A uniformidade de desenvolvimento e o comprimento do hipocótilo, não apresentaram diferenças estatísticas entre os lotes na análise pelo *SVIS®*.

Para o cv Supremo, no teste de germinação, teste de primeira contagem de germinação, comprimento da raiz primária, do hipocótilo e das plântulas (raiz primária+hipocótilo) Tabela 6, confirmaram os valores apresentados pela análise do *SVIS®* em plântulas com quatro dias, tanto nas variáveis analisadas (60:40; 70:30; 75:25 e 80:20) quanto nos índices de crescimento e uniformidade de desenvolvimento (Tabelas 8 e 9). O mesmo ocorreu para o índice de velocidade de emergência de plântulas e para percentagem de emergência de plântulas e envelhecimento acelerado tradicional e com solução saturada de NaCl, que condizem com os valores médios apresentados pelo *SVIS®*, em comprimento da raiz primária, do hipocótilo e de plântulas (raiz primária+hipocótilo).

Com relação ao cv Safira, não houve diferenças entre os lotes, em plântulas com três dias de idade, para a maioria dos testes (Tabelas 6 e 7); esse fato se confirmou nas análises realizadas pelo *SVIS®*, com exceção do comprimento do hipocótilo, que indicou o lote 1 como o mais vigoroso, enquanto que para os testes de

comprimento do hipocótilo e de plântulas (raiz primária+hipocótilo), indicaram o lote 1 com o menor potencial fisiológico.

Para o cv Safira, em plântulas com quatro dias, o *SVIS*[®] identificou diferenças apenas para a uniformidade de desenvolvimento, pois, para os outros parâmetros, como comprimento da raiz primária, do hipocótilo, de plântulas, índice de crescimento e das variáveis analisadas (60:40; 70:30; 75:25 e 80:20) Tabela 9, não houve diferenças estatísticas entre os lotes, o mesmo ocorrendo para os testes de vigor (Tabelas 6 e 7), com exceção do testes de comprimento do hipocótilo e de plântulas.

De maneira geral, devido ao elevado potencial fisiológico do cv Safira, foi observada dificuldade em diferenciar os lotes quanto ao vigor; no entanto, o *SVIS*[®], conseguiu detectar e diferenciar os lotes com mais eficácia em plântulas com quatro dias, uma vez que após esse período as plântulas já estão mais desenvolvidas, propiciando melhor análise das imagens. Para o cv Supremo, a separação dos lotes através do *SVIS*[®], foi satisfatória, pois os valores dos testes de vigor condizem com os obtidos pelo software.

Com relação as variáveis analisadas (60:40; 70:30; 75:25 e 80:20), para os dois cultivares, não houve distinção de qual é melhor para a utilização em sementes de pepino, sendo todas cabíveis de utilização.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação do vigor, embora ainda não envolva a utilização de procedimentos considerados totalmente padronizados para justificar sua inclusão em Regras para Análise de Sementes editadas no Brasil, constituem ferramentas indispensáveis para a composição de programas internos de controle de qualidade. Por esse motivo, esses testes são utilizados em larga escala por empresas produtoras de sementes de várias espécies, procurando fornecer aos seus clientes informações complementares às obtidas em testes de germinação.

De um modo geral, o objetivo dos testes de vigor é separar, com segurança, os lotes com alto potencial de desempenho daqueles com menor probabilidade de proporcionar o estabelecimento adequado do estande após a semeadura ou de apresentar alto nível de desempenho durante o armazenamento.

Diante desse objetivo, a eficiência dos procedimentos utilizados para a determinação do vigor é avaliada, com maior segurança, com adoção da análise estatística baseada em testes de comparação de médias. Somente dessa forma é possível identificar diferenças entre lotes ou amostras de um mesmo cultivar (reduzindo a interferência inevitável do genótipo) e classificar (ou ranquear) lotes com diferentes níveis de vigor, com a sensibilidade desejada.

A utilização de análises de correlação pode ou não complementar essas informações, mas sua eficiência é limitada porque indica apenas as tendências de variações entre os dados; altos índices de correlação não estão necessariamente associados à identificação sensível de diferenças importantes no potencial fisiológico das amostras avaliadas nem ao ranqueamento das amostras analisadas.

É certo, porém, que as informações proporcionadas por diferentes testes podem ser aparentemente contraditórias e, em certos casos, amostras consideradas mais vigorosas quando se conduz determinado teste, podem ser identificadas como menos vigorosas em outro(s) teste(s).

Isto é explicável, pois o vigor compreende um conjunto de características cuja manifestação depende da situação à qual a semente foi exposta. Assim, os resultados de um teste em que as amostras são expostas a determinado(s) tipo(s) de estresse podem ser completamente diferentes daqueles obtidos em um teste para

avaliação do desempenho de plântulas (comprimento, massa seca, velocidade de germinação, etc).

Por esse motivo, sempre é recomendável a condução de vários (pelo menos três) testes de vigor e a interpretação cuidadosa dos resultados, tendo em mente o uso objetivo da informação. Desta maneira, testes destinados à identificação do potencial de desempenho após a semeadura nem sempre são os mesmos e mais adequados para avaliar a armazenabilidade.

Embora haja vários métodos considerados eficientes para o uso em larga escala, a avaliação do vigor sempre reserva espaço para evolução. É o caso atual da análise de imagens, que vem sendo utilizada com sucesso para amostras de sementes de várias espécies.

O *SVIS*[®] utilizado nesta pesquisa tem eficiência comprovada. Trata-se de software desenvolvido e patenteado pela Ohio State University, com permissão de uso pela Universidade de São Paulo/ESALQ, que não oferece restrição ao acesso de pesquisadores.

Os resultados aqui obtidos não tem a intenção de preconizar o uso do *SVIS*[®] como única alternativa para determinação do vigor de sementes mediante a análise computadorizada de plântulas. Tem como objetivo divulgar a eficiência e objetividade da avaliação do vigor com a utilização dos princípios envolvidos nesse sistema, pois com base nessa metodologia há possibilidade consistente do desenvolvimento de outros métodos usando esses princípios e a evolução para sua utilização rotineira.

4 CONCLUSÃO

A análise dos dados e a interpretação dos resultados do presente trabalho permitiram concluir que:

- A análise computadorizada de imagens de plântulas é uma alternativa consistente e promissora para a avaliação do vigor de sementes de pepino, com eficiência equivalente à verificada em testes tradicionais para determinação do vigor.

- As análises com o *SVIS*[®] são mais precisas em plântulas de pepino com quatro dias de idade.

- A proporção crescimento/uniformidade para a composição do cálculo do índice de vigor não afeta a precisão da determinação do potencial fisiológico de sementes de pepino pela análise *SVIS*[®].

REFERÊNCIAS

ABDO, M.T.V.N.; PIMENTA, R.S.; PANOBIANCO, M.; VIEIRA, R.D. Testes de vigor para avaliação de sementes de pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 27, n. 1, p. 195-198, 2005.

ALSADON, A.; YULE, L.J.; POWELL, A.A. Influence of seed ageing on the germination, vigour and emergence in module trays of tomato and cucumber seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 23, p. 665-672, 1995.

ÁVILA, P.F.V.; VILLELA, F.A.; ÁVILA, M.S.V. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico em sementes de rabanete. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, n. 3, p. 52-58, 2006.

BAALBAKI, R.; ELIAS, S.; MARCOS FILHO, J.; MCDONALD, M.B. Association of official seed analysts. **Seed vigor testing handbook**. Ithaca, 2009. 341 p. (Contribution, 32).

BARBEDO, A.S.C.; ZANIN, A.C.W.; BARBEDO, C.J.; NAKAGAWA, J. Qualidade fisiológica de sementes de pepino cv Pérola, em função da idade e do tempo de repouso pós-colheita dos frutos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 9, p. 14-18, 1997.

BENNETT, M.A. ; EVANS, A.F.; GRASSBAUCH, E.M. Saturated salt accelerated aging (SSAA) tests for assessing and comparing sh2 and se sweet corn seedlots. International Seed Testing Association. **Proceedings of the International Seed Testing Association**, Zurich, v. 26, p. 11, 2001.

BHERING, M.C.; BARROS, D.I.; DIAS, D.C.F.S.; NUNES, H.V. Testes para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de berinjela. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 11, n. 2, p. 203, 2001.

BHERING, M.C.; DIAS, D.C.F.S.; GOMES, J.M.; BARROS, D.I. Métodos para avaliação do vigor de sementes de pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 171-175, 2000.

BHERING, M.C.; DIAS, D.C.F.S.; TOKUHISA, D.; DIAS, L.A.S. Avaliação do vigor de sementes de melão pelo teste de deterioração controlada. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 125-129, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 399 p.

DAN, E.L.; MELLO, V.D.C; WETZEL, C.T.; POPININGS, F.; SOUZA, E.P. Transferência de matéria seca como método de avaliação do vigor de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 9, n. 3, p. 45-55, 1987.

DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, n. 3, p. 427-452, 1973.

DIAS, D.C.F.S.; MARCOS FILHO, J. Testes de vigor baseados na permeabilidade das membranas celulares: I. Condutividade elétrica. **Informativo Abrates**, Londrina, v. 5, n. 1, p. 26-36, 1995.

FESSEL, S.A.; SILVA, L.J.R.; GALLI, J.A.; SADER, R. Uso de solução salina (NaCl) no teste de envelhecimento acelerado em sementes de brócolis (*Brassica oleracea* L. var. *itálica* Plenk). **Científica**, Jaboticabal, v. 33, n. 1, p. 27-34, 2005.

FINCH-SAVAGE, W.E. A study of the relation-ship between seedling characters and rate of germination within a seed lot. **Annals of Applied Biology**, v. 198, p. 441-444, 1986.

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

GOMES JUNIOR, F.C. **Injúrias mecânicas em sementes de milho doce**. 2009. 129 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

GOMES JUNIOR, F.G.; CHAMA, H.M.C.P. Eficiência de um sistema computadorizado de processamento de imagens para avaliação do vigor de sementes de feijão. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 9., 2008, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas, 2008. p. 685-688.

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

HAMPTON, J.G.; TEKRONY, D.M. Accelerated ageing test. In: HAMPTON, J.G.; TEKRONY, D.M. (Ed.). **Handbook of vigour test methods**. 3rd ed. Zürich: ISTA, 1995. p. 35-50.

HAMPTON, J.G.; BRUNTON, B.J.; PEMBERTON, G.M.; ROWARTH, J.S. Temperature and a times variables for accelerated ageing testing of pea (*Pisum sativum* L.) seed. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 32, n. 1, p. 261-264, 2004.

HOFFMASTER, A.L.; FUJIMURA, K.; MCDONALD, M.B.; BENNET, M.A. An automated system for vigor testing three-day-old soybean seedlings. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 31, n. 3, p. 701-713, 2003.

HOFFMASTER, A.L.; XU, L.; FUJIMURA, K.; MCDONALD, M.B.; BENNET, M.A.; EVANS, A.F. The Ohio State University seed vigor imaging system (SVIS) for soybean and corn seedlings. **Seed Technology**, Lansing, v. 27, n. 1, p. 7-26, 2005.

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

LIMA, L.B.; MARCOS FILHO, J. Condicionamento fisiológico de sementes de pepino e relação com desempenho das plantas em campo. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 27-37, 2009.

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

MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed) **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999a. p 1.1-1.24.

_____. Teste de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999b. cap. 1, p.1.1-1.21.

_____. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 495 p.

_____. Pesquisa sobre vigor de sementes de hortaliças. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 11, n. 3, p. 63-75, 2001.

MARCOS FILHO, J.; KIKUTI, A.L.P. Condicionamento fisiológico de sementes de couve-flor e desempenho das plantas em campo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 2, p. 165-169, 2008.

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

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

MARCOS FILHO, J.; BENNETT, M.A.; MCDONALD, M.B.; EVANS, A.F. GRASSBAUGH, E.M. Assessment of melon seed vigour by an automated computer imaging system compared to traditional procedures. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 34, n. 2, p. 485-497, 2006.

MARTINS, C.C.; MARTINELLE-SENEME, A.; CASTRO, M.M.; MARTINS, C.C.; NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, C. Comparação entre métodos para avaliação do vigor de lotes de sementes de couve-brócolos (*Brassica oleracea* L. var. *itálica* Plenck). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 24, n. 2, p. 96-101, 2002.

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

McDONALD, M.B. A review and evaluation of seed vigor tests. **Proceedings of the Association Official Seed Analysts**, Zurich, v. 65, p. 109-139, 1975.

MELLO, S.C.; SPINOLA, M.C.M.; MINAMI, K. Métodos de avaliação da qualidade fisiológica de sementes de brócolos. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 3, p. 1151-1155, 1999.

MENDONÇA, E.A.F.; RAMOS, N.P.; FESSEL, S.A.; SADER, R. Teste de deterioração controlada em sementes de brocoli (*Brassica oleraceae* L. var. *itálica*). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 280-287, 2000.

MENEZES, V.O. **Inoculação de *Fusarium moniliforme* (Sheld.) em sementes de duas cultivares de pepino através da técnica da restrição hídrica e sua influência sobre a qualidade fisiológica**. 2009. 85 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

NAKAGAWA, J.; VANZOLINI, S. Testes de vigor baseados no desenvolvimento de plântulas. **Informativo ABRATES**, Brasília, v. 17, n. 1/3, p. 76-83, 2007.

NAKAGAWA, J.; FELTRAN, J.C.; OLIVEIRA, R.L. Maturação de sementes de azevém-anual (*Lolium multiflorum* Lam.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 21, n. 1, p. 174-182, 1999.

NASCIMENTO, W.M.; PEREIRA, R.S. Testes para avaliação do potencial fisiológico de sementes de alface. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 3, p. 175-179, 2007.

NASCIMENTO, W.M.; FREITAS, R.A.; GOMES, E.M.L.G.; SOARES, A.S. Metodologia para o teste de envelhecimento acelerado em sementes de ervilha. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 205-209, 2007.

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

OTONI, R.R.; McDONALD, M.B.; TAY, D. The use of X-Rays for seed vigor classification of cotton seeds. **Seed Technology**, 2008 (submetido).

PANDEY, P.K.; GOYAL, R.D.; PRAKASH, V.; JATIVER, R.P.; SINGH. Association between laboratory vigour tests and fields emergence in cucurbits. **Seed Research**, New York, v. 18, p. 40-43, 1990.

PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Comparação de métodos para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de pimentão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 306-310, 1998.

_____. Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de tomate. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 3, p. 525-531, 2001.

PEREIRA, R.S.; NASCIMENTO, W.M. Testes para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de alface. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 13, n. 3, p. 248, 2003.

POWELL, A.A. The controlled deterioration test. In: INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **Seed vigour testing seminar**. Zurich, 1995, p. 73-87.

RAMOS, N.P.; FLOR, E.P.O.; MENDONÇA, E.A.F.; MINAMI, K. Envelhecimento acelerado em sementes de rúcula (*Eruca sativa* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 26, n. 1, p. 98-103, 2004.

RODO, A.B. **Avaliação do potencial fisiológico de sementes de cebola e sua relação com o desempenho das plântulas em campo**. 2002. 123 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

RODO, M.A.B.; MARCOS FILHO, J. Onion seed vigor in relation to plant growth and yield. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 220-226, 2003.

RODO, A.B.; PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Metodologia alternativa do teste de envelhecimento acelerado para sementes de cenoura. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 2, p. 289-292, 2000.

RODO, A.B.; TILLMANN, M.A.A.; VILLELA, F.A.; SAMPAIO, N.V. Teste de condutividade elétrica em sementes de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 29-38, 1998.

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

SPINOLA, M.C.M.; CALIARI, M.F.; MARTINS, L; TESSAROLI NETO, J. Comparação entre métodos para avaliação do vigor de sementes de cenoura. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 301- 395, 1998.

STEINER, J.J. Seedling rate of development index: indicator of vigor and seedling growth response. **Crop Science**, Madison, v. 30, n.6, p. 1264-1271, 1990.

STYER, R.C.; CANTLIFFE, D.J. Changes in seed structure and composition during development and their effects on leakage in two endosperm mutants of sweet corn. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 108, n. 5, p. 721-728, 1983.

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

TeKRONY, D.M. Accelerated aging. In: VAN DER VENTER, H.A. (Ed.). **Seeds vigor testing seminar**. Copenhagen: The International Seed Testing Association, 1995. p. 53-72.

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

TORRES, S.B.; CARVALHO, I.M.S. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de quiabo (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 1, p. 209-211, 1998.

TORRES, S.B.; MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de maxixe (*Cucumis anguria* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 108-112, 2001.

_____. Accelerated aging of melon seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 1, p. 77-82, 2003.

TORRES, S.B.; VIEIRA, E.L.; MARCOS FILHO, J. Efeitos do estresse hídrico na germinação e no desenvolvimento de plântulas de pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 59-63, 1999.

TORRES, S.B.; OLIVEIRA, F.N. de; OLIVEIRA, A.K. de; BENEDITO, C. P.; MARINHO, J.C. Envelhecimento acelerado para avaliação do potencial fisiológico de sementes de melão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 70-75, 2009.

TRIGO, M.F.O.O.; TRIGO, L.F.N. Determinação da qualidade fisiológica em sementes de cenoura. **Informativo Abrates**, Curitiba, v. 5, n. 2, p. 134, 1995.

VANZOLINI, S.; ARAKI, C.A.S.; SILVA, A.C.T.M.; NAKAGAWA, J. Testes de comprimento de plântulas na avaliação da qualidade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 90-96, 2007.

VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. de. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 164 p.

WANN, E.V. Seed vigor and respiration of maize kernels with different endosperm genotypes. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 105, n. 1, p. 31-34, 1980.

WOODSTOCK, L.W. Seedling growth as a measure of seed vigor. **Proceedings of International Seed Testing Association**, Zurich, v. 34, n. 2, p. 273-280, 1969.