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

**Avaliação da qualidade de sementes de cebola (*Allium cepa* L.) por
meio de análise de imagens**

Nayara Roberto Gonçalves

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutora em Ciências. Área de concentração:
Fitotecnia

**Piracicaba
2016**

Nayara Roberto Gonçalves
Engenheira Agrônoma

**Avaliação da qualidade de sementes de cebola (*Allium cepa* L.) por meio de
análise de imagens**

Orientador:
Prof. Dr. **SÍLVIO MOURE CÍCERO**

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutora em Ciências. Área de concentração:
Fitotecnia

Piracicaba
2016

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

Gonçalves, Nayara Roberto

Avaliação da qualidade de sementes de cebola (*Allium cepa* L.) por meio de análise de imagens / Nayara Roberto Gonçalves. - - Piracicaba, 2016.
76 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. Raios X 2. Morfologia interna 3. SVIS[®] 4. Potencial fisiológico I. Título

CDD 635.25
G635a

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

A Deus, que não me desamparou em nenhuma dificuldade encontrada e foi alicerce de cada vitória conquistada.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus, em primeiro lugar, por colocar pessoas especiais em meu caminho e permitir a conclusão desta etapa importante para a minha formação.

À CAPES e ao CNPq pela concessão de apoio financeiro.

À Empresa Sakata, sede de Bragança Paulista-SP, por ter fornecido as sementes para realização da pesquisa.

Ao Professor Dr. Silvio Moure Cicero, pela valiosa orientação, paciência, confiança e amizade durante o curso e a execução do trabalho.

Aos professores Julio Marcos Filho e Ana Dionisia L. C. Novembre do Setor de Sementes da ESALQ/USP, pelos conhecimentos transmitidos e principalmente pela oportunidade de troca de experiência atualizando e aprimorando assim nossos conhecimentos. Aos técnicos de laboratório, Helena Chamma e Francisco Guilhien Gomes Jr., pela amizade, atenção e suporte.

Aos meus pais, Luiz e Sônia, às minhas irmãs Nathalia e Natasha, ao meu namorado e amigo Rodrigo e à minha amiga Haynna pelo apoio incondicional. Sem vocês não seria possível chegar até aqui.

Aos colegas do doutorado Cesia, Cibeles, Clissia, Crislaine, Cristiane, Danielle, Denis, Felipe, Francisco, Henrique, Marcela, Maicon, Marcio, Marcos, Natalia, Patrícia, Renata, Roberta, Sibeles, Simone, Victor, pelo companheirismo e as horas agradáveis que passamos juntos.

Aos amigos Zirlane, Jamile, Alan, Rony e Rafaela pela parceria e momentos de descontração.

À todas aquelas pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

“Toda ação humana, quer se torne positiva ou negativa, precisa depender de motivação.”

Dalai Lama

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT	13
LISTA DE FIGURAS	15
LISTA DE TABELAS	17
1 INTRODUÇÃO.....	19
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1 A cultura da cebola	21
2.2 Teste de raios X.....	22
2.3 Análise computadorizada de imagens de plântulas (SVIS®).....	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 Ensaio I: imagens radiográficas e relação da morfologia interna de sementes de cebola com a germinação.	27
3.2 Ensaio II: análise computadorizada de imagens de plântulas (Seed Vigor Image System - SVIS®) como técnica de avaliação do vigor de sementes de cebola	29
3.3 Delineamento experimental	32
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1 Ensaio I: imagens radiográficas e relação da morfologia interna de sementes de cebola com a germinação.	35
4.2 Ensaio II: análise computadorizada de imagens de plântulas (Seed Vigor Image System - SVIS®) como técnica de avaliação do vigor de sementes de cebola.	39
5 CONCLUSÕES.....	59
REFERÊNCIAS.....	61
ANEXOS	71

RESUMO

Avaliação da qualidade de sementes de cebola (*Allium cepa* L.) por meio de análise de imagens

Para espécies de hortaliças há carência de informações a respeito de metodologias que forneçam, de forma rápida e segura, dados sobre a qualidade de sementes, haja visto a importância econômica e a alta tecnologia empregada na produção dessas espécies. Diversas técnicas têm sido propostas para avaliar a morfologia de sementes e outros parâmetros relacionados ao seu potencial fisiológico e, entre elas, pode-se citar o uso de imagens radiográficas e análises computadorizadas de imagens de plântulas. Com isso, objetivou-se com a presente pesquisa, estudar a relação entre a morfologia interna observada com auxílio de imagens radiográficas e a qualidade de sementes de cebola, além de verificar a possibilidade da utilização do sistema computadorizado de imagens de plântulas (SVIS[®] – Seed Vigor Image System) para detectar diferenças de vigor entre lotes de sementes e comparar com as informações fornecidas pelos testes de vigor tradicionalmente utilizados. Para isso, foram utilizadas sementes de dois cultivares de cebola, com cinco lotes cada. O estudo foi realizado em dois ensaios, em que o primeiro consistiu no estudo do teste de raios X e o segundo na utilização do SVIS[®] para análise de plântulas. As sementes do segundo estudo foram analisadas no decorrer de doze meses de armazenamento, com avaliações semestrais. Após a análise dos resultados, conclui-se que a morfologia de sementes de cebola dificulta a análises de imagens radiográficas, mas o uso dessas imagens permite a identificação de malformações, que estão relacionadas com plântulas anormais e/ou sementes mortas; o SVIS[®] é eficiente para identificar diferenças de vigor entre lotes de sementes de cebola; a avaliação com o SVIS[®] deve ser realizada aos cinco dias após a semeadura.

Palavras-chave: Raio-X; Morfologia interna; SVIS[®]; Potencial fisiológico

ABSTRACT

Assessment of onion (*Allium cepa* L.) seed quality by means of image analysis

For vegetables there is a lack of information about methodologies which provide, in a quick and safe way, data on seed quality, given the economic importance and the high technology used in the production of these species. Many techniques have been proposed to assess the morphology of seed and other parameters related to their physiologic potential and, among them, we can mention the use of radiographic imaging and computerized imaging analysis of seedlings. The aim of the present research was to study the relationship between the internal morphology observed with the aid of radiographic images and the quality of onion seeds, and to investigate the possibility of using the computerized system of seedling images (SVIS[®] - Seed Vigor Image System) to detect vigor differences among seed batches and to compare with the information provided by the vigor tests traditionally used. Five batches of two different varieties of onion seeds were used. The study was carried out in two trials, wherein the first essay consisted on the study of the radiographic images and the second one consisted of the use of SVIS[®] for seedling analysis. The seeds of the second essay were stored for twelve months and analyzed at each six months. It is concluded that the onion seed morphology impairs the analysis of the radiographic images, but the use of it allows to identify defects, which are related to abnormal seedlings and/or dead seeds; SVIS[®] is efficient to identify different levels of vigor among onion seed batches; the assessment using SVIS[®] must be done at the fifth day after sowing.

Keywords: X-ray; Internal morphology; SVIS[®]; Physiological potential

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Teste de raios X em sementes de cebola do cultivar A; (A) sementes dispostas em lâmina plástica transparente para aquisição das imagens radiográficas; (B) teste de germinação das sementes radiografadas28
- Figura 2 - Imagens escaneadas de plântulas de cebola aos cinco (A) e seis (B) dias após a semeadura do cultivar A.....30
- Figura 3 - Análise computadorizada de imagens de plântulas de cebola usando o *software* “Seed Vigor Imaging System” (SVIS[®]) seis dias após a semeadura; as plântulas analisadas são destacadas em vermelho; as sementes mortas são destacadas em verde; no quadro verde está indicado o índice de vigor e número de plântulas analisadas; o comprimento individual no quadro azul representa o comprimento individual da plântula destacada em azul; e no quadro laranja estão os índices de crescimento e de uniformidade31
- Figura 4 - Corte longitudinal (A) e transversal (B) de sementes de cebola. Legenda: tg – tegumento; end – endosperma; emb – embrião35
- Figura 5 - Sementes de cebola radiografadas (A e C) e respectivas plântulas normais (B e D) obtidas 6 dias após a semeadura. Destaque para o cotilédone (ct) e para o eixo hipocótilo-radícula (hp-rd) na figura A, e para a alça cotiledonar (ac) nas plântulas de cebola (B e D)36
- Figura 6 - Sementes de cebola radiografadas apresentando má formação (mf) (A e C), embrião estendido (ee) (E) e manchas escuras (me) (G) e a respectiva plântula anormal (B) e as sementes mortas (D, F e H)37
- Figura 7 - Exemplo de semente radiografada com dano mecânico (A) e respectiva semente morta (B).....38
- Figura 8 - Sementes de cebola vazias radiografadas (A e C) e respectivas sementes mortas (B e D).....38
- Figura 9 - Diagramas de dispersão e coeficientes de correlação (r) entre porcentagem de germinação (G) e os valores obtidos pelo SVIS e os valores obtidos pelo SVIS[®] para cinco lotes de sementes de duas cultivares de cebola, em três épocas de avaliação: comprimento de

plântula (CP), índice de vigor, índice de crescimento e índice de uniformidade aos 5 dias (A, C, E e G) e aos 6 dias (B, D, F e H) 49

Figura 10 - Diagramas de dispersão e coeficientes de correlação (r) entre a porcentagem de germinação obtida na primeira contagem (PC) e os valores obtidos pelo SVIS® e os valores obtidos pelo SVIS para cinco lotes de sementes de duas cultivares de cebola, em três épocas de avaliação: comprimento de plântula (CP), índice de vigor, índice de crescimento e índice de uniformidade aos 5 dias (A, C, E e G) e aos 6 dias (B, D, F e H)..... 50

Figura 11 - Diagramas de dispersão e coeficientes de correlação (r) entre porcentagem de emergência (E) e os valores obtidos pelo SVIS e os valores obtidos pelo SVIS® para cinco lotes de sementes de duas cultivares de cebola, em três épocas de avaliação: comprimento de plântula (CP), índice de vigor, índice de crescimento e índice de uniformidade aos 5 dias (A, C, E e G) e aos 6 dias (B, D, F e H) 51

Figura 12 - Diagramas de dispersão e coeficientes de correlação (r) entre índice de velocidade de emergência (IVE) e os valores obtidos pelo SVIS e os valores obtidos pelo SVIS® para cinco lotes de sementes de duas cultivares de cebola, em três épocas de avaliação: comprimento de plântula (CP), índice de vigor, índice de crescimento e índice de uniformidade aos 5 dias (A, C, E e G) e aos 6 dias (B, D, F e H)..... 52

Figura 13 - Diagramas de dispersão e coeficientes de correlação (r) entre porcentagem de germinação após envelhecimento acelerado (EA) e os valores obtidos pelo SVIS® para cinco lotes de sementes de duas cultivares de cebola, em três épocas de avaliação: comprimento de plântula (CP), índice de vigor, índice de crescimento e índice de uniformidade aos 5 dias (A, C, E e G) e aos 6 dias (B, D, F e H) 53

Figura 14 - Diagramas de dispersão e coeficientes de correlação (r) entre condutividade elétrica (CE) e os valores obtidos pelo SVIS® para cinco lotes de sementes de duas cultivares de cebola, em três épocas de avaliação: comprimento de plântula (CP), índice de vigor, índice de crescimento e índice de uniformidade aos 5 dias (A, C, E e G) e aos 6 dias (B, D, F e H)..... 54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Resultados do teste de germinação de acordo com as categorias de sementes e plântulas para cada uma das classes de defeitos observados no teste de raios X	37
Tabela 2 - Médias do teor de água de cinco lotes de sementes de cebola dos cultivares A e B.....	39
Tabela 3 - Médias da porcentagem de germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), porcentagem de emergência de plântulas (E), índice de velocidade de emergência de plântulas (IVE), envelhecimento acelerado (EA) e condutividade elétrica (CE), de cinco lotes de sementes de cebola do cultivar A nas três épocas de armazenamento.....	40
Tabela 4 - Médias dos índices de vigor (IV), de crescimento (IC), de uniformidade (IU) e comprimento das plântulas (CP), obtidos pelo <i>software</i> SVIS® com 5 e 6 dias após a semeadura, de cinco lotes de sementes de cebola do cultivar A nas três épocas de armazenamento.....	43
Tabela 5 - Médias da porcentagem de germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), condutividade elétrica (CE), porcentagem de emergência de plântulas (E), índice de velocidade de emergência de plântulas (IVE) e envelhecimento acelerado (EA) de cinco lotes de sementes de cebola do cultivar B nas três épocas de armazenamento.....	45
Tabela 6 - Médias dos índices de vigor (IV), de crescimento (IC), de uniformidade (IU) e comprimento das plântulas (CP), obtidos pelo <i>software</i> SVIS® com 5 e 6 dias após a semeadura, de cinco lotes de sementes de cebola do cultivar B nas três épocas de armazenamento.....	47
Tabela 7 - Comparação entre os desempenhos nos testes de vigor (A) e nos índices fornecidos pelo SVIS®, cinco (B) e seis (C) dias após a semeadura, e taxas de coincidência entre lotes em cada época	

(TC¹), entre cultivares (TC²) e geral (TCG) para sementes de cebola dos cultivares A e B, em três épocas de armazenamento 57

Tabela 8 - Ranqueamento das médias de porcentagem de germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), porcentagem de emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), envelhecimento acelerado (EA), condutividade elétrica (CE) e classificação estatística com pontuação por avaliação (P), pontuação geral (PG) e desempenho de cinco lotes de sementes de cebola do cultivar A em três épocas de armazenamento 73

Tabela 9 - Ranqueamento das médias, aos cinco e seis dias após a semeadura, para comprimento de plântula (CP), índice de vigor (IV), índice de crescimento (IC) e índice de uniformidade de crescimento (IU) e classificação estatística com pontuação por avaliação (P), pontuação geral (PG) e desempenho de cinco lotes de sementes de cebola do cultivar A em três épocas de armazenamento 74

Tabela 10 - Ranqueamento das médias de porcentagem de germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), porcentagem de emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), envelhecimento acelerado (EA), condutividade elétrica (CE) e classificação estatística com pontuação por avaliação (P), pontuação geral (PG) e desempenho de cinco lotes de sementes de cebola do cultivar B em três épocas de armazenamento 75

Tabela 11 - Ranqueamento das médias, aos cinco e seis dias após a semeadura, para comprimento de plântula (CP), índice de vigor (IV), índice de crescimento (IC) e índice de uniformidade de crescimento (IU) e classificação estatística com pontuação por avaliação (P), pontuação geral (PG) e desempenho de cinco lotes de sementes de cebola do cultivar B em três épocas de armazenamento 76

1 INTRODUÇÃO

A produção de sementes de hortaliças é normalmente realizada com nível tecnológico e infraestrutura elevada, para a produção de sementes com alto nível de qualidade, uma vez que o mercado está cada vez mais competitivo. Portanto, as sementes passam por rigoroso sistema de controle de qualidade, que envolve testes para estimar o seu potencial fisiológico, como o de germinação e de vigor, além de avaliações das características físicas das sementes que possam fornecer subsídio para a classificação das mesmas. A exigência cada vez mais intensa em agilidade na obtenção destas informações, abre campo para pesquisas e utilização de análise de imagens em sementes e plântulas, que além da agilidade tem como vantagem ser não destrutivo e eliminam a subjetividade do avaliador.

Uma das avaliações possíveis para verificar a qualidade de lotes de sementes é o teste de raios X, por meio do qual são analisadas as estruturas internas das sementes, o que permite a identificação das sementes bem formadas, das vazias, das que possuem danos mecânicos (GAGLIARDI; MARCOS FILHO, 2011) e daquelas que possuem danos causados por insetos (MELO et al., 2010).

A grande vantagem dessa técnica é que o teste de raios X é um método rápido, prático, não destrutivo e as sementes podem ser submetidas aos testes fisiológicos, possibilitando relacionar as anormalidades verificadas com os resultados dos testes de germinação e vigor (MELO et al., 2010). Além disso, é possível que essa avaliação seja automatizada, por meio de programas computacionais de análise de imagens (CARVALHO; ALVES; OLIVEIRA, 2010).

Nos últimos anos, vários estudos já foram realizados e verificaram a possibilidade de utilizar imagens radiográficas para prever a qualidade de sementes de grandes culturas, olerícolas e florestais. Contudo, para sementes de cebola, ainda não há informações na literatura.

O teste de germinação é o mais utilizado para estimar a qualidade de lotes de sementes, mas esse teste é realizado sob condições ótimas de temperatura, umidade, luminosidade e aeração, podendo superestimar a qualidade dos lotes de sementes em campo. Portanto, é necessário realizar outras determinações, a fim de classificar os lotes quanto ao nível de vigor e de modo a prever com maior precisão

o seu desempenho em campo (MARCOS FILHO, 2015) e, desta forma, complementar as informações obtidas com o teste de germinação (DIAS et al., 2006). Dentre os testes de vigor, os mais utilizados são os de desempenho de plântulas, em que se calcula a velocidade e a uniformidade de crescimento, além de aferições de partes das plântulas (SILVA; CÍCERO, 2014a).

Embora os testes de vigor comumente utilizados forneçam indicações do potencial fisiológico das sementes, ainda existem oportunidades para aprimorar esses procedimentos com a perspectiva de padronização, precisão, objetividade e confiabilidade dos resultados (MARCOS FILHO et al., 2006). Visando solucionar esses problemas, a análise computadorizada de imagens de plântulas apresenta-se como opção promissora para avaliação do vigor de sementes, fornecendo informações consistentes de forma rápida e sem a influência da subjetividade do analista de sementes (CHIQUITO, GOMES JUNIOR; MARCOS FILHO, 2012).

As primeiras análises de imagens de plântulas para avaliar o vigor de sementes foram propostas por McComark, Keefe e Draper (1990) e Howarth e Stanwood (1993), em sementes de alface e sorgo. Mais tarde, Sako et al. (2001) desenvolveram um sistema automatizado para avaliar o vigor de sementes de alface por meio da análise computadorizada de plântulas, o *Seed Vigor Imaging System* (SVIS[®]), que fornece informações como o comprimento de plântulas e índices de vigor, de crescimento e de uniformidade de crescimento. Esse software já foi testado com sucesso para outras espécies, dentre elas grandes culturas, hortaliças e florestais. No entanto, até o momento, não há informações sobre a utilização da análise computadorizada de imagens de plântulas para avaliar o vigor de sementes de cebola.

Dessa forma, a presente pesquisa foi realizada com o objetivo de verificar a possibilidade da utilização do *Seed Vigor Imaging System* (SVIS[®]) para detectar diferenças de vigor entre lotes de sementes de cebola e comparar com as informações obtidas com os testes de vigor tradicionalmente utilizados.

Objetivou-se relacionar a morfologia interna de sementes de cebola, observadas com auxílio de imagens radiográficas, com a germinação e verificar a possibilidade da utilização do sistema computadorizado de imagens de plântulas (SVIS[®]) para detectar diferenças de vigor entre lotes de sementes de cebola e comparar com as informações obtidas com os testes de vigor tradicionalmente utilizados.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A cultura da cebola

A cebola (*Allium cepa* L.) é a mais importante entre as espécies cultivadas da família Alliaceae e está posicionada entre as hortaliças mais importantes no mundo. A produção mundial de cebola em 2012 foi de 82,9 milhões de toneladas, cultivadas em uma área de 4,20 milhões de hectares, o que proporcionou uma produtividade média de 19,7 t ha⁻¹. Destacam-se como principais países produtores a China, a Índia e os Estados Unidos, estando o Brasil na nona colocação (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO, 2016). A produção brasileira em 2012 foi de 1,52 milhões de toneladas e uma área colhida de 61 mil ha (AGRIANUAL, 2013).

A produção de hortaliças envolve, frequentemente, vultosos investimentos, cujo retorno depende, em grande parte, da qualidade das sementes utilizadas (BITTENCOURT, 1991). A cebola é a segunda hortaliça em utilização de sementes, ficando atrás apenas do tomate, segundo dados da Associação Brasileira do Comércio de Sementes e Mudas, em 2009, sendo gastos, em média, R\$ 42,4 milhões com sementes para a produção dessa hortaliça (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO COMÉRCIO DE SEMENTES E MUDAS - ABCSEM, 2010).

A produção de sementes de hortaliças é normalmente realizada por empresas com nível tecnológico e infraestrutura elevada (NASCIMENTO, 2005), que almejam sempre a produção de sementes com alto nível de qualidade.

A cebola apresenta um longo período de florescimento, despendendo por volta de 25 a 30 dias entre a abertura da primeira e da última flor de uma mesma umbela. Esse longo período de florescimento acarreta em certa desuniformidade de maturação e a presença de sementes com diferentes estádios de desenvolvimento dentro da planta por ocasião da colheita (NASCIMENTO, 2009). Isso gera lotes com sementes que apresentam diferenças na morfologia interna, incluindo anormalidades no embrião, que podem estar diretamente relacionadas à germinação e ao vigor.

Para hortaliças de um modo geral, outro fator que torna as informações sobre potencial fisiológico ainda mais relevante, é o período de armazenamento, que para essas espécies geralmente é mais longo, além de apresentarem menores

quantidades de reservas armazenadas, que aumentam a propensão à deterioração após a maturidade fisiológica (MARCOS FILHO, 1999a), sendo esta outra razão que justifica estudos a respeito do vigor dessas sementes.

2.2 Teste de raios X

A avaliação do potencial fisiológico de sementes normalmente é realizada por meio do teste de germinação, porém este apresenta limitações por ser conduzido sob condições ideais, podendo fornecer resultados que superestimam o potencial das sementes. O sucesso de um sistema de produção depende do uso de sementes que germinem rápida e uniformemente, ou seja, com alto potencial fisiológico, sendo este responsável pelo desempenho das sementes em campo (MARCOS FILHO, 1999b).

O uso de técnicas eficientes para avaliação do vigor de sementes é de grande importância para a agricultura, pois permite a obtenção de estimativa mais segura do potencial fisiológico, com a identificação de diferenças significativas entre lotes com germinação semelhante (RODO, 2002). McDonald (1975) propôs uma classificação dos testes de vigor em testes físicos, fisiológicos, bioquímicos e de resistência, que vem sendo estudados para diversas culturas de interesse agrônomo. No entanto, poucas pesquisas vêm sendo desenvolvidas com o intuito de avaliar metodologias de testes de vigor para sementes de hortaliças (PANOBIANCO; MARCOS FILHO, 2001).

Metodologias que permitam a avaliação da morfologia interna das sementes e que apresentem alta correlação com a qualidade fisiológica das mesmas vêm sendo buscadas pela pesquisa. Esse é o caso da utilização de imagens radiográficas, relatado inicialmente na literatura por Simak e Gustafsson (1953) para estudo em espécies de coníferas.

O teste de raios X consiste na análise radiográfica da estrutura interna das sementes, através da exposição a uma fonte de baixa energia de raios X. Ao atravessarem as sementes, os raios permitem a formação de uma imagem caracterizada por diferentes níveis de cinza. O princípio do teste é definido pela absorção de raios X em diferentes quantidades pelos tecidos das sementes, em função de sua estrutura, composição e densidade, além do período de exposição à

radiação (INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION – ISTA, 2004). Embora os raios X sejam potencialmente nocivos às sementes, a baixa intensidade utilizada não causa mutações genéticas nas sementes e não afeta a germinação das mesmas (SIMAK; GUSTAFSSON, 1953).

É um método preciso, onde a semente pode ser examinada individualmente em imagens ampliadas, além de se tratar de um método não destrutivo, possibilitando a realização de testes fisiológicos com as sementes radiografadas e desse modo permitir o estabelecimento de relações de causa-efeito (CICERO; BANZATTO JUNIOR, 2003; van der BURG et al., 1994).

O teste de raios X é relativamente rápido e está padronizado pelas Regras Internacionais para Análise de Sementes (INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION – ISTA, 1996). A inclusão desse teste nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009b; INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION – ISTA, 1993) tem como objetivo básico a complementação das informações fornecidas pelo teste de germinação. Para tanto, sementes das amostras destinadas ao teste de germinação são previamente radiografadas e classificadas, de acordo com o perfil morfológico visualizado, em sementes cheias, vazias e danificadas, sendo comumente verificadas em sementes de espécies florestais.

Resultados satisfatórios com o uso do teste são relatados em pesquisas com várias espécies. A identificação de danos internos nas sementes foi realizada com eficiência em milho (CICERO et al., 1998; CICERO; BANZATTO JUNIOR, 2003), soja (FLOR et al., 2004; FORTI et al., 2013), feijão (FORTI; CICERO; PINTO, 2008), arroz (MENEZES et al., 2012), pimentão (DELL'AQUILA, 2007), acerola (NASSIF; CICERO, 2006), embaúba (PUPIM et al., 2008), cedro (MASETTO et al., 2008), ipê roxo (OLIVEIRA et al., 2004), canafístula (OLIVEIRA; CARVALHO; DAVIDE, 2003), sucupira preta (ALBUQUERQUE; GUIMARÃES, 2008), aroeira branca (MACHADO; CICERO, 2003), carvalho (GOODMAN; JACOBS; KARRFALT., 2009), abobora (CARVALHO et al., 2009), mamão (SANTOS et al., 2009), melão (FLOR; CARVALHO; COSTA, 2001), pinhão-manso (PINTO et al., 2009) e jacarandá (SOUZA et al., 2008).

A radiografia das sementes possibilita a visualização de injúrias mecânicas, danos por insetos e decorrentes de outros fatores de pré e pós-colheita (SIMAK, 1980; INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION – ISTA, 1993; POULSEN, PARRATT; GOSLING, 1998). Além disso, van der Burg et al. (1994) verificaram que

com o teste de raios X é possível prever o desempenho de plântulas e selecionar sementes com alta qualidade. Estes autores observaram uma alta correlação da morfologia de plântulas de tomate aos 14 dias da semeadura com o tamanho e a morfologia do embrião e a quantidade de endosperma e espaço livre interno das sementes.

Programas computacionais para avaliação de imagens de plântulas e sementes têm sido utilizados com êxito em pesquisas de avaliação do vigor e determinação de características de sementes de lentilha, pimentão, rabanete, cenoura, chicória e aspargo (DELL'AQUILA, 2004a, 2004b, 2005, 2007a), além de tomate (SILVA; CICERO; BENNETT, 2013), berinjela (SILVA; CICERO; BENNETT, 2012) e girassol (ROCHA; SILVA; CICERO, 2014).

2.3 Análise computadorizada de imagens de plântulas (SVIS®)

Segundo Dias et al. (2006) para uma análise completa da qualidade fisiológica de sementes, há necessidade de complementar as informações fornecidas pelo teste de germinação com testes de vigor, os quais possibilitam selecionar os melhores lotes para comercialização. Entre os testes tradicionalmente utilizados, alguns se baseiam em determinações da velocidade e da uniformidade de crescimento de plântulas ou em medidas manuais de partes das plântulas. No entanto, essas avaliações nem sempre são precisas, podendo ocorrer variações nos resultados entre analistas, dificultando a comparação entre os dados de laboratórios distintos.

Embora os testes de vigor comumente utilizados forneçam indicações do potencial fisiológico das sementes, ainda existem oportunidades para aprimorar esses procedimentos com a perspectiva de padronização, precisão, objetividade e confiabilidade dos resultados (MARCOS FILHO et al., 2006). O teste de análise computadorizada de imagens de plântulas é uma alternativa promissora para atingir esses objetivos.

Recentemente novas tecnologias que utilizam sistemas computadorizados vêm possibilitando resultados eficientes na avaliação da qualidade fisiológica de lotes de sementes. Estes sistemas permitem a análise das estruturas internas das sementes, o que confere maior confiabilidade ao processo de análise e gera

parâmetros objetivos na classificação das sementes segundo seu potencial fisiológico (DELL'AQUILA, 2007b). A principal vantagem da informatização das análises consiste na eliminação do erro humano durante as avaliações, permitindo alta confiabilidade dos dados para fins de comparação.

Diferentes sistemas de análise de imagens têm sido aplicados na avaliação do vigor de várias espécies, destacando-se o “Seed Vigor Imaging System” (SVIS[®]) como um *software* de análise de plântulas, desenvolvido pela “Ohio State University”, EUA (McDONALD et al., 2005).

O programa SVIS[®] tem sido utilizado na avaliação do vigor de sementes e resultados promissores foram verificados em sementes de melão (MARCOS FILHO et al., 2006), alface (SAKO et al., 2001), soja (HOFFMASTER et al., 2003), milho (OTONI; MCDONALD, 2005) e feijão (GOMES JUNIOR et al., 2014).

No sistema de análise computadorizada, no caso do SVIS[®], as imagens digitais de plântulas são capturadas em um escâner conectado em um computador e processadas, gerando valores numéricos que representam coletivamente a qualidade das sementes do lote, baseado em valores obtidos a partir das características morfológicas de plântulas, nesse caso, um índice de vigor. Os dados incluem os comprimentos de parte aérea, da raiz primária e de toda a plântula e, também, a velocidade e a uniformidade do desenvolvimento de plântulas (SAKO et al, 2001).

A análise de imagens computadorizada de plântulas é um método rápido com alto grau de precisão para avaliar a qualidade de sementes (DELL'AQUILA, 2006) e tem sido descrita como uma nova abordagem para o desenvolvimento de um rápido e automatizado teste de germinação (van der HEIJDEN et al., 1999). Por meio dessa técnica, é possível capturar uma sequência de imagens da germinação, permitindo a estimativa do tempo real da protrusão da raiz primária e medição do sistema radicular (DELL'AQUILA; van ECK; van der HEIJDEN, 2000).

A análise de imagens pode ser ainda uma alternativa para estudar a germinação de sementes individuais dentro de uma população de sementes (DELL'AQUILA, 2005). Ducournau (2004), trabalhando com sementes de girassol, constatou que a análise computadorizada de imagens apresenta como vantagem a realização da contagem da germinação em um menor intervalo de tempo com resultados mais confiáveis.

Outra abordagem é o monitoramento do processo de embebição baseado no volume das sementes, estudadas em sementes de couve-flor (McCORMAC; KEEF; DRAPE, 1990) e baseadas no aumento da área em sementes de repolho (DELL'AQUILA; van ECK; van der HEIJDEN, 2000), por meio da análise de imagens.

A avaliação de sementes e plântulas por meio de programas computadorizados é uma alternativa promissora para a indústria de sementes, bem como para laboratórios de análise, pois geram informações importantes para tomada de decisões (ZABOT et al., 2008), além de eliminar a subjetividade dos técnicos e tornar as análises mais rápidas.

São poucos os trabalhos científicos existentes sobre teste de raios X e análise computadorizada de imagens de plântulas na avaliação de sementes de hortaliças. É de grande importância o estudo dessas técnicas para a determinação do potencial fisiológico das sementes de cebola, por se tratar de uma hortaliça de elevado valor econômico.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado nos Laboratórios de Análise de Imagens e de Análise de Sementes, pertencentes ao Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (LPV/ESALQ/USP), em Piracicaba-SP.

Utilizaram-se dois cultivares de cebola, A e B, cedidos pela empresa Sakata Seed Suldamerica, representados por cinco lotes cada, com diferentes níveis de vigor.

Foram realizados dois ensaios, em que no primeiro se estudou a morfologia interna de sementes de cebola com o auxílio de imagens radiográficas e no segundo ensaio se avaliou a eficiência do uso de imagens computadorizadas de plântulas (Seed Vigor Image System - SVIS[®]) para identificar diferenças no vigor de lotes de sementes.

3.1 Ensaio I: imagens radiográficas e relação da morfologia interna de sementes de cebola com a germinação.

As análises relativas à morfologia interna das sementes foram realizadas utilizando oito amostras de 25 sementes para o lote A, que foram colocadas em lâmina plástica transparente, contendo fita adesiva dupla-face para fixação das sementes (Figura 1A). Estas foram numeradas de acordo com a ordem de ocupação na lâmina, de maneira que fossem identificadas nas determinações posteriores. A lâmina foi colocada no interior de um equipamento digital de raios X, Faxitron modelo MX-20 DC-12 acoplado a um computador Core 2 Duo (3.16 GHz, 2 GB de memória RAM, Disco Rígido de 160 GB) e monitor MultiSync (LCD1190SX de 17 polegadas), a 35 cm da fonte de raios X. A posição que as sementes ficaram na lâmina, foi ajustada de forma a proporcionar a visualização de todas as partes da semente de cebola. As imagens geradas foram salvas no disco rígido do computador para posterior análise. Em seguida, mantendo-se a mesma ordem em que estavam nas imagens de raios X, foi conduzido o teste de germinação, como descrito a seguir.

Figura 1 - Teste de raios X em sementes de cebola do cultivar A; (A) sementes dispostas em lâmina plástica transparente para aquisição das imagens radiográficas; (B) teste de germinação das sementes radiografadas

Teste de germinação: as sementes, de acordo com a numeração utilizada no teste de raios X, foram distribuídas em grupos de 25, sobre duas folhas de papel mata-borrão, um branco e outro azul (de forma espaçada no substrato, para permitir o desenvolvimento das plântulas de maneira individualizada) e cobertas com uma folha de papel toalha cortada do mesmo tamanho das demais (Figura 1B). O substrato foi previamente pesado e umedecido com água destilada na proporção de 1:2,5 (papel:água). As caixas plásticas foram colocadas de forma inclinada no germinador à 20 °C e a avaliação foi realizada no sexto dia após a semeadura (BRASIL, 2009b). As plântulas normais, anormais e as sementes mortas foram retiradas do substrato e fotografadas com câmera fotográfica digital acoplada ao computador. As imagens foram identificadas e salvas no disco rígido do computador para posterior análise.

A interpretação dos resultados foi realizada por meio da comparação das imagens de raios X com as respectivas imagens das plântulas normais, plântulas anormais e sementes mortas.

3.2 Ensaio II: análise computadorizada de imagens de plântulas (Seed Vigor Image System - SVIS[®]) como técnica de avaliação do vigor de sementes de cebola

A avaliação do potencial fisiológico de sementes de cebola com o auxílio de imagens computadorizadas de plântulas e dos testes tradicionalmente utilizados para análise de sementes de cebola foram realizados em três épocas, com intervalos de seis meses. Entre as avaliações, as sementes permaneceram acondicionadas em embalagens semipermeáveis e armazenadas em ambiente controlado (20 ± 1 °C e 45-50% UR).

Para a análise computadorizada de imagens de plântulas, utilizaram-se dezesseis caixas tipo Gerbox[®] (11,0 x 11,0 x 3,5 cm) para cada cultivar, consistindo em oito repetições de 25 sementes para cada dia analisado, cinco e seis dias após a semeadura. Como substrato, foi utilizada uma folha de papel mata borrão branco e uma folha de papel mata borrão azul, previamente umedecidas com volume de água equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato seco. As sementes foram distribuídas sobre o papel azul (Figura 2), para que houvesse o contraste necessário entre a coloração do papel e as plântulas por ocasião da aquisição das imagens e, em seguida, foram mantidas em germinador a 20 °C (BRASIL, 2009b). A aquisição das imagens das plântulas, aos cinco e seis dias após a semeadura, foi realizada por meio de um escâner HP Scanjet 2004, montado de maneira invertida no interior de uma caixa de alumínio com 60 x 50 x 12 cm, gerenciado pelo *software* Photosmart, com resolução de 300 dpi.

A**B**

Figura 2 - Imagens escaneadas de plântulas de cebola aos cinco (A) e seis (B) dias após a semeadura do cultivar A

As imagens obtidas foram analisadas utilizando o *software* “Seed Vigor Imaging System” (SVIS®). Após o processamento das imagens no SVIS® foram obtidos os índices de vigor (IV), de uniformidade de crescimento (IU) e de crescimento (IC) de plântulas e o comprimento de plântulas (CP), conforme descrito por Hoffmaster et al. (2003). Para a obtenção do comprimento de plântulas, os dados foram convertidos de pixels para centímetros. Na Figura 3, é possível visualizar uma imagem, de plântulas de cebola, analisada por meio do *software* SVIS® e, como são capturados os dados referentes aos parâmetros que este *software* disponibiliza.

Figura 3 - Análise computadorizada de imagens de plântulas de cebola usando o *software* “Seed Vigor Imaging System” (SVIS[®]) seis dias após a semeadura; as plântulas analisadas são destacadas em vermelho; as sementes mortas são destacadas em verde; no quadro verde está indicado o índice de vigor e número de plântulas analisadas; o comprimento individual no quadro azul representa o comprimento individual da plântula destacada em azul; e no quadro laranja estão os índices de crescimento e de uniformidade

As determinações obtidas por meio da análise de imagens (SVIS[®]) foram comparadas aos testes tradicionalmente utilizados para avaliação do vigor de sementes de cebola, realizados conforme a descrição a seguir:

Teste de germinação: foi realizado utilizando-se quatro repetições de 50 sementes para cada lote (BRASIL, 2009b). As sementes foram distribuídas sobre duas folhas de papel mata borrão umedecido com água equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato seco e mantidas a 20 °C. A **primeira contagem** foi realizada ao sexto dia após a semeadura e a contagem final aos 12 dias após a semeadura, determinando-se a porcentagem de plântulas normais.

Envelhecimento acelerado: foram distribuídas uniformemente 3,0 g de sementes sobre uma tela de alumínio acoplada em caixa plástica adaptadas (tipo Gerbox[®]), contendo 40 mL de solução saturada de NaCl (40 g de NaCl em 100 mL de água), conforme metodologia proposta por Jianhua e McDonald (1996). As caixas tampadas foram levadas à câmara de envelhecimento (tipo B.O.D.), onde permaneceram a $41 \pm 0,3$ °C, por 72 horas, segundo recomendações de Rodo e

Marcos Filho (2003). Ao término desse período, quatro repetições de 50 sementes foram submetidas ao teste de germinação, sendo avaliadas após seis dias. Visando a verificação da uniformidade das condições do teste, foi determinado o grau de umidade das sementes antes e após o teste.

Condutividade elétrica de massa: foi realizado com quatro repetições de 50 sementes para cada lote, previamente pesadas em balança de precisão ($\pm 0,001$ g). As sementes foram imersas em 25 mL de água deionizada por 24 horas a 25 °C (DIAS et al., 2006), sendo realizada a leitura da condutividade elétrica da solução em condutivímetro da marca DIGIMED, modelo DM-31. Os valores das leituras foram divididos pela massa inicial, sendo os resultados expressos em $\mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$ de sementes.

Emergência de plântulas: foi realizado com quatro repetições de 50 sementes por lote, semeando-se em bandejas de isopor contendo substrato comercial utilizado para produção de mudas de olerícolas (Plantmax[®]). A irrigação foi realizada quando necessária e aos 15 dias foi realizada a contagem de plântulas emersas.

O teor de água das sementes foi monitorado durante a realização dos testes pelo método da estufa a 105 °C por 24 horas, conforme metodologia prescrita nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009b), utilizando-se duas repetições de 1,0 g para cada lote e de 0,5 g após o teste de envelhecimento acelerado; os resultados foram expressos em porcentagem (base úmida).

3.3 Delineamento experimental

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições para os testes tradicionais e oito repetições para a análise no SVIS[®].

Foram realizados testes de homogeneidade de variâncias e normalidade dos erros, sendo necessário a transformação dos dados de envelhecimento acelerado, obtidos na segunda e terceira época, utilizando a fórmula $\text{asen}(x/100+0,05)^{1/2}$. Essa transformação foi utilizada apenas para a comparação de médias, mas os valores apresentados nas tabelas são os originais.

Os resultados obtidos foram analisados por meio de comparação de médias pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Foi realizada a análise de correlação de Pearson para relacionar os testes tradicionais com os índices gerados pelo SVIS[®]. Para tanto, foram agrupados os cinco lotes dos dois cultivares, A e B, nas três épocas de avaliação.

Para facilitar a interpretação dos resultados obtidos nos testes tradicionais e sua comparação com os índices fornecidos pelo SVIS[®], utilizou-se a classificação dos lotes de acordo com o seu desempenho em cada uma das determinações realizadas, nas quais foram atribuídas pontuações positivas para os lotes estatisticamente superiores ao valor médio, pontuações negativas, para os lotes estatisticamente inferiores ao valor médio e pontuações nulas para os lotes que não diferiram estatisticamente do valor médio, de forma que o somatório das pontuações em cada determinação fosse igual a zero (CALIARI; SILVA, 2001). Posteriormente, calculou-se o somatório das pontuações atribuídas a cada lote em cada uma das determinações tradicionais, obtendo-se uma pontuação geral para cada um. Em seguida, os lotes que apresentaram pontuação geral positiva foram classificados como SM (desempenho superior ao médio), os lotes que apresentaram pontuação nula foram classificados como M (desempenho igual ao médio) e os lotes com pontuação geral negativa foram classificados como IM (desempenho inferior ao médio). O mesmo procedimento foi realizado para os índices fornecidos pelo SVIS[®] (análise de imagens de plântulas), aos cinco e seis dias após a semeadura. Com base nessa classificação, calculou-se a taxa de coincidência entre as determinações tradicionais e os índices obtidos pela análise computadorizada de plântulas, aos cinco e seis dias após a semeadura. Para tanto, calculou-se a razão entre o número de lotes que apresentavam a mesma classificação (SM, M ou IF) e o número total de comparações realizadas, esse resultado foi expresso em porcentagem. A taxa de coincidência foi calculada para cada cultivar separadamente, bem como para as duas cultivares juntas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Ensaio I: imagens radiográficas e relação da morfologia interna de sementes de cebola com a germinação.

A morfologia externa das sementes de cebola é irregular, no entanto as sementes apresentam uma das suas faces um pouco mais plana (Figura 4). Segundo Brasil (2009a), o embrião de sementes de cebola é descrito como imbricado, de forma axial curvado, onde a base do eixo hipocótilo-radícula recobre o ápice dos cotilédones e num corte transversal da semente o embrião é visto três vezes, conforme observado na Figura 4A, corte longitudinal, e na Figura 4B, corte transversal.

Figura 4 - Corte longitudinal (A) e transversal (B) de sementes de cebola. Legenda: tg – tegumento; end – endosperma; emb – embrião

A importância de se conhecer a morfologia da semente antes da aquisição e processamento das imagens é, justamente, usa-la como subsídio na instalação do teste e na interpretação de resultados. Para que fosse possível, durante a aquisição de imagem radiográfica de sementes de cebola, visualizar o eixo embrionário na forma como visualizamos no corte da Figura 4A, foi necessário que o lado plano da semente fosse posicionado para baixo, de forma a fixar na fita dupla-face.

Observam-se, na Figura 5, imagens radiográficas de sementes de cebola e as respectivas plântulas normais obtidas aos seis dias após a semeadura. É possível identificar nas radiografias (Figuras 5A e 5C) o embrião imbricado, em espiral, e os detalhes do cotilédone (ct) e do eixo hipocótilo-radícula (hp-rd). O espaço no entorno

do embrião é ocupado pelo endosperma, no entanto não foi possível identificar um padrão de coloração uniforme para esse tecido, o que pode ser devido à morfologia irregular das sementes, que conferem restrição à passagem dos raios X de forma desuniforme na área radiografada. Logo, as áreas com diferentes densidades observadas nas sementes radiografadas, não necessariamente estão ligadas à composição dos tecidos, à má formação ou à presença de áreas vazias nas sementes. Essa característica confere restrição à avaliação da área interna livre nas sementes de cebola, como foi anteriormente analisada em outras espécies como pimenta (DELL'AQUILA, 2007a), tomate (SILVA; CICERO; BENNETT, 2013), berinjela (SILVA; CICERO; BENNETT, 2012), girassol (ROCHA; SILVA; CICERO, 2014), dentre outros.

Figura 5 - Sementes de cebola radiografadas (A e C) e respectivas plântulas normais (B e D) obtidas 6 dias após a semeadura. Destaque para o cotilédone (ct) e para o eixo hipocótilo-radícula (hp-rd) na figura A, e para a alça cotiledonar (ac) nas plântulas de cebola (B e D)

Por se tratar de espécie monocotiledônea, nas imagens radiografadas (Figuras 5A e 5C) o embrião (cotilédone e eixo hipocótilo-radícula) foi visualizado de forma contínua, diferentemente das solanáceas que apresentam cotilédones separados (SILVA; CICERO; BENNETT, 2012, 2013). Nas Figuras 5B e 5D verificam-se plântulas normais com detalhe da alça cotiledonar.

A análise de imagens de raios X para sementes de cebola permitiu observar má formações e relacioná-las com a germinação. Na Tabela 1, verifica-se a relação entre a porcentagem de sementes analisadas dentro de cada categoria de defeitos das sementes de cebola e o resultado no teste de germinação (plântula normal, anormal ou semente morta). Constatou-se que 88,9% das sementes analisadas não apresentaram nenhuma má formação, sendo observada uma maior porcentagem destas classificadas como plântula normal no teste de germinação. Vários fatores podem contribuir para a redução da qualidade de sementes que não estão relacionados à morfologia e a presença de anormalidades do embrião.

Tabela 1 - Resultados do teste de germinação de acordo com as categorias de sementes e plântulas para cada uma das classes de defeitos observados no teste de raios X

Defeitos	Germinação (%)			
	Normal	Anormal	Mortas	Total
Sem defeitos	46,9	23,3	18,7	88,9
Malformada	2,2	3,5	2,8	8,5
Manchas escuras	0,2	0,1	0,5	0,8
Embrião estendido	0,1	0,9	0,7	1,7
Dano mecânico	0,0	0,0	0,1	0,1
Total	49,4	27,8	22,8	100,0

Verificou-se na Tabela 1, que o total de malformações nas amostras analisadas foi de 8,5%, sendo a maior parte delas relacionadas a plântulas anormais (3,5%) ou sementes mortas (2,8%) ao sexto dia após a semeadura. Foram encontradas as manchas escuras em 0,8% das sementes analisadas e embrião estendido, pouco imbricado, em 1,7%. Esses dois tipos de defeitos, assim como as malformações mencionadas anteriormente, originaram plântulas anormais ou sementes mortas no teste de germinação. Exemplos de malformações, manchas escuras e embrião estendido nas sementes de cebola podem ser observadas na Figura 6, bem como os respectivos resultados verificados após o teste de germinação.

Figura 6 - Sementes de cebola radiografadas apresentando má formação (mf) (A e C), embrião estendido (ee) (E) e manchas escuras (me) (G) e a respectiva plântula anormal (B) e as sementes mortas (D, F e H)

Na Figura 7A, é possível observar uma semente de cebola com dano mecânico, com rachadura larga que vai do tegumento da semente até atingir o eixo embrionário, seccionando-o ao meio. Verifica-se ainda que a área central da semente, que engloba o eixo embrionário e o endosperma, apresenta coloração desuniforme com grande variação nos tons de cinza, mostrando um tecido mecanicamente danificado em vários pontos. A consequência destes danos foi a obtenção de uma semente morta ao final do teste de germinação (Figura 7B). O dano mecânico foi o menos observado nas amostras analisadas, estando presente em apenas 0,1%.

Figura 7 - Exemplo de semente radiografada com dano mecânico (A) e respectiva semente morta (B)

Foi possível verificar por meio de imagens radiográficas a presença de sementes aparentemente vazias (Figura 8) nos lotes de sementes de cebola avaliados, que foram contabilizadas juntamente com as sementes malformadas. O do teste de germinação, nesses casos, foi a verificação de sementes mortas (Figuras 8B e 8D).

Figura 8 - Sementes de cebola vazias radiografadas (A e C) e respectivas sementes mortas (B e D)

4.2 Ensaio II: análise computadorizada de imagens de plântulas (Seed Vigor Image System - SVIS®) como técnica de avaliação do vigor de sementes de cebola.

O teor de água inicial dos lotes de sementes de cebola dos cultivares A e B variaram de 8,2 a 9,4% e de 9,2 a 9,3%, respectivamente, na primeira época de avaliação (Tabela 2). Na segunda época, após seis meses de armazenamento, o teor de água variou de 8,9 a 9,9% para o cultivar A e de 9,7 a 9,9% para o cultivar B. Já na terceira época de avaliação, após doze meses de armazenamento, o teor de água das sementes dos cultivares A e B variaram de 8,5 a 9,2% e de 9,3 a 9,5%, respectivamente. As mudanças no teor de água das sementes entre as épocas de armazenamento foram devido ao tipo de embalagem utilizada, semipermeável, no entanto, essa variação manteve-se dentro dos valores esperados para o equilíbrio higroscópico no ambiente de armazenamento (BACCHI, 1959; HARRINGTON, 1959 apud PESKE; VILLELA; LABBÉ-BAUDET, 2009).

Tabela 2 - Médias do teor de água de cinco lotes de sementes de cebola dos cultivares A e B

Cultivar	Lotes	Épocas		
		Primeira	Segunda	Terceira
A	1	8,8	9,7	9,0
	2	8,7	9,4	8,8
	3	8,9	9,5	9,0
	4	8,2	8,9	8,5
	5	9,4	9,9	9,2
B	1	9,3	9,9	9,5
	2	9,3	9,8	9,4
	3	9,2	9,9	9,6
	4	9,2	9,7	9,3
	5	9,2	9,9	9,5

É importante avaliar o teor de água das sementes quando se comparam lotes, pois grandes variações podem comprometer a interpretação dos resultados obtidos em testes de vigor, principalmente quando as diferenças são superiores a 2% (MARCOS FILHO, 1999a). Assim, pode-se afirmar que as diferenças observadas nos testes realizados não foram influenciadas pelas variações dos teores de água

das sementes utilizadas, já que a maior diferença encontrada foi de 1,2%, para o cultivar A, na primeira época (Tabela 2).

Na primeira época de avaliação, observou-se que, para o cultivar A, não houve efeito significativo de lotes para a primeira contagem e para a porcentagem de germinação, com valores no intervalo entre 91% a 97% e 86% a 93%, respectivamente para os dois testes (Tabela 3). A porcentagem de germinação semelhante é sempre almejada quando o objetivo é avaliar testes de vigor de sementes, pois permite analisar a acurácia e sensibilidade dos mesmos em diferenciar lotes (MARCOS FILHO, 1999b).

Tabela 3 - Médias da porcentagem de germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), porcentagem de emergência de plântulas (E), índice de velocidade de emergência de plântulas (IVE), envelhecimento acelerado (EA) e condutividade elétrica (CE), de cinco lotes de sementes de cebola do cultivar A nas três épocas de armazenamento

Época	Lote	G	PC	E	IVE	EA	CE
Primeira	1	91 a	91 a	93 a	6,04 a	47 b	287,02 b
	2	93 a	93 a	93 a	6,37 a	55 b	270,55 c
	3	92 a	92 a	95 a	6,28 a	54 b	279,23 b
	4	96 a	86 a	92 a	5,94 a	85 a	258,65 c
	5	97 a	88 a	87 b	5,44 b	54 b	333,72 a
CV (%)		3,34	4,16	3,44	5,47	10,81	2,89
Segunda	1	89 a	77 a	91 a	5,19 a	6 c	372,58 b
	2	90 a	84 a	94 a	5,38 a	15 b	352,07 b
	3	94 a	85 a	96 a	5,68 a	11 c	370,23 b
	4	91 a	65 b	87 a	4,89 b	55 a	337,01 b
	5	91 a	61 b	88 a	4,78 b	20 b	420,26 a
CV (%)		4,57	9,47	5,09	6,37	13,25	7,39
Terceira	1	88 a	74 a	88 a	5,08 a	0 b	445,14 a
	2	95 a	88 a	89 a	5,25 a	0 b	409,67 b
	3	91 a	76 a	90 a	5,39 a	0 b	417,22 b
	4	93 a	81 a	94 a	5,93 a	16 a	377,47 b
	5	89 a	53 b	86 a	4,74 a	1 b	477,97 a
CV (%)		4,45	10,67	6,82	8,55	15,10	6,30

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Já para porcentagem e índice de velocidade de emergência, o lote 5 apresentou desempenho inferior aos demais lotes, que não diferiram significativamente entre si, com valores de 87% e 5,44 respectivamente, enquanto que o menor valor para os demais lotes foi de 93% e 6,16 (Tabela 3).

O teste de envelhecimento acelerado, por sua vez, possibilitou classificar o lote 4 como o de maior desempenho quando comparado aos demais lotes, que não

diferiram entre si, com valor de 85% para o lote 4 e média de 53% para os demais lotes.

Pelo teste de condutividade elétrica (Tabela 3), foi detectado comportamento similar aos testes anteriores quanto à classificação do lote 5 como de menor desempenho, em que se verificou o maior valor ($333,72 \mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$), assim como o lote 4 como o de melhor vigor ($258,65 \mu\text{S cm}^{-1} \text{ g}^{-1}$). Nesta primeira época, a condutividade elétrica permitiu estratificar os lotes em mais níveis de vigor do que os outros testes realizados, podendo ser explicado pela característica avaliada, integridade do sistema de membranas, que é uma das primeiras alterações que ocorre nas sementes durante o processo de deterioração (DELOUCHE; BASKIN, 1973; PANOBIANCO; VIEIRA, 2007).

Na segunda época de avaliação, seis meses após a primeira (Tabela 3), não foi observada diferença significativa entre lotes quanto à porcentagem de germinação e de emergência, apresentando médias de 91% em ambas as variáveis.

Considerando os resultados obtidos na primeira contagem de germinação e no índice de velocidade de emergência, os lotes 1, 2 e 3 foram classificados como os mais vigorosos, diferindo dos demais. Por outro lado, para o envelhecimento acelerado observou-se que o lote 4 apresentou desempenho superior, mostrando-se como o de maior potencial de armazenamento, enquanto os lotes 1 e 3 apresentaram menor vigor. Já no teste de condutividade elétrica, o lote 5 foi classificado como de menor potencial fisiológico e entre os demais lotes não houve diferença significativa (Tabela 3).

Na terceira época de avaliação, realizada após doze meses de armazenamento, não foi verificada diferença significativa entre lotes para as variáveis porcentagem de germinação, porcentagem e índice de velocidade de emergência, que apresentaram médias de 91%, 89% e 5,28, respectivamente (Tabela 3).

Na primeira contagem de germinação observou-se que o lote 5 foi classificado como o lote de menor vigor, diferindo dos demais lotes e corroborando com a classificação nas demais épocas de armazenamento (Tabela 3).

Por outro lado, pelo teste de envelhecimento acelerado, o lote 4 foi novamente classificado como o de maior potencial de armazenamento, enquanto os demais não diferiram entre si (Tabela 3).

Pelo teste de condutividade elétrica, os lotes 5 e 1 foram classificados com menor vigor e os lotes 2, 3 e 4 com maior vigor (Tabela 3).

Ao analisar os testes de vigor, foram encontrados resultados diferentes na classificação de alguns lotes, o que se deve ao fato de que cada teste avaliar aspectos diferentes das sementes, como no caso do teste de envelhecimento acelerado, que expressa o desempenho das sementes após um período sob alta temperatura e umidade relativa (TORRES; MARCOS FILHO, 2003), podendo-se inferir sobre o potencial de armazenamento dos lotes. Já o teste de condutividade elétrica, que avalia a capacidade de reorganização do sistema de membranas celulares, é inversamente proporcional ao vigor da semente, ou seja, quanto mais avançado estiver o processo deteriorativo, mais lenta é a reestruturação das membranas durante a embebição, o que permite maior lixiviação de solutos e provoca o aumento da condutividade elétrica da solução de embebição (PANOBIANCO; VIEIRA; PERECIN, 2007). Assim, lotes com diferentes níveis de vigor podem ser classificados de forma diferenciada por esses testes, tendo em vista que os lotes podem ter sido submetidos a diferentes condições edafoclimáticas, pragas e doenças, tempo e condição de armazenamento, dentre outros fatores, que podem modificar de diversas maneiras os atributos de qualidade das sementes durante o processo de deterioração.

A análise computadorizada de imagens de plântulas surge no intuito de fornecer informações sobre desempenho de plântulas de forma rápida e prática, demandando menos tempo para a obtenção de resultados e excluindo a subjetividade da avaliação (PINTO et al., 2015). Já para as determinações de primeira contagem de germinação, porcentagem e índice de velocidade de emergência, é avaliado o desempenho de plântulas de forma mais abrangente, todavia são testes mais laboriosos e demandam mais tempo.

Quanto aos dados fornecidos pela análise computadorizada de imagens de plântulas, na primeira época de avaliação, observou-se que pelo comprimento de plântulas, cinco dias após a semeadura, os lotes foram separados em mais classes de vigor do que aos seis dias (Tabela 4). Esse mesmo comportamento também foi observado para os índices de vigor e de crescimento.

Alguns fatores podem estar associados a essa diferenciação entre os dias de avaliação. As sementes menos vigorosas demandam mais tempo para a organização do sistema de membrana celular e mitocondrial. Logo, as sementes

mais vigorosas iniciam a translocação de reservas e as demais etapas da germinação primeiro e, portanto, tem mais tempo para se desenvolver. Então, quanto antes a avaliação for realizada, é possível que seja encontrada maior desuniformidade.

Tabela 4 - Médias dos índices de vigor (IV), de crescimento (IC), de uniformidade (IU) e comprimento das plântulas (CP), obtidos pelo *software* SVIS[®] com 5 e 6 dias após a semeadura, de cinco lotes de sementes de cebola do cultivar A nas três épocas de armazenamento

Época	Lote	5 dias				6 dias			
		CP	IV	IC	IU	CP	IV	IC	IU
Primeira	1	1,11 b	869 a	874 a	861 a	1,53 b	785 b	749 b	869 a
	2	1,23 a	916 a	929 a	887 a	1,88 a	895 a	892 a	904 a
	3	1,18 a	895 a	886 a	887 a	1,82 a	878 a	876 a	884 a
	4	0,98 c	801 b	783 b	843 b	1,70 a	862 a	847 a	868 a
	5	0,83 d	738 c	703 c	821 b	1,44 b	776 b	757 b	823 b
CV (%)		9,13	4,91	6,37	3,71	10,35	6,24	8,00	3,91
Segunda	1	1,06 a	836 a	822 a	871 a	1,68 a	823 a	804 a	869 b
	2	1,09 a	845 a	825 a	893 a	1,84 a	872 a	863 a	895 a
	3	1,00 b	798 a	763 b	882 a	1,74 a	846 a	829 a	888 a
	4	0,91 c	773 a	742 b	845 b	1,66 a	838 a	828 a	861 b
	5	0,59 d	604 b	531 c	783 c	1,26 b	694 b	639 b	827 c
CV (%)		7,85	5,47	7,93	3,90	8,28	5,22	7,05	3,10
Terceira	1	0,56 b	600 b	513 a	807 a	1,13 b	670 c	590 c	858 b
	2	0,66 a	653 a	572 a	843 a	1,25 b	715 b	652 b	864 b
	3	0,64 a	640 a	549 a	852 a	1,46 a	793 a	752 a	889 a
	4	0,65 a	660 a	588 a	830 a	1,22 b	711 b	651 b	852 b
	5	0,29 c	441 c	314 b	744 b	0,90 c	603 d	508 c	825 c
CV (%)		15,05	7,43	11,22	4,57	13,68	8,51	12,99	3,17

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

De forma geral, verificou-se que aos cinco dias após a semeadura, os lotes 1, 2 e 3 apresentaram maior vigor e o lote 5 o menor. Contudo, na avaliação aos seis dias, constatou-se que os lotes 2, 3 e 4 expressaram melhor desempenho do que os lotes 1 e 5 (Tabela 4).

O índice de uniformidade aos cinco dias após a semeadura classificou o lote 4 como de baixo vigor, não diferindo do lote 5, enquanto que aos seis dias após a semeadura ele foi classificado como de alto vigor, não diferindo dos lotes 1, 2 e 3 (Tabela 4).

Na segunda época de avaliação, observou-se que aos cinco dias após a semeadura foi possível classificar os lotes em mais níveis de vigor do que na avaliação aos seis dias. De forma geral, verificou-se que os lotes 1, 2, 3 e 4 apresentaram as maiores médias, mesmo havendo algumas diferenças

significativas. Já o lote 5, apresentou o menor desempenho em todas as variáveis nos dois dias avaliados (Tabela 4).

Aos cinco dias após a semeadura, as médias para o comprimento de plântulas dos lotes 1 e 2 foram superiores aos demais lotes com 1,06 cm e 1,09 cm, não diferindo entre si. A menor média de comprimento foi observada para o lote 5, com 0,59 cm, e os lotes 3 e 4 apresentaram comprimento intermediário, mas diferiram estatisticamente entre si, com médias 1,00 cm e 0,91 cm (Tabela 4).

Para o índice de vigor o mesmo padrão de classificação dos lotes foi verificado aos cinco e seis dias após a semeadura, em que o lote 5 apresentou as menores médias, diferindo estatisticamente dos demais lotes (Tabela 4).

No índice de crescimento, a avaliação aos cinco dias após a semeadura separou os lotes em três níveis distintos, ranqueando os lotes 1 e 2 com alto vigor, os lotes 3 e 4 com vigor intermediário e o lote 5 com vigor baixo. Já aos seis dias após a semeadura, os lotes foram divididos em duas classes, em que os lotes 1, 2, 3 e 4 apresentaram alto vigor e o lote 5 baixo vigor (Tabela 4).

Quanto ao índice de uniformidade, observou-se que aos cinco dias os lotes 1, 2 e 3 foram agrupados como lotes vigorosos, o lote 4 com vigor intermediário e o lote 5 de baixo vigor. Aos seis dias após a semeadura, foi observado o mesmo padrão aos cinco dias, exceto o lote 1, que passou a ser classificado com vigor intermediário (Tabela 4).

Após doze meses de armazenamento, verificaram-se resultados similares nos dois dias avaliados, para todas as determinações obtidas pelo SVIS®. Os lotes 1, 2, 3 e 4 apresentaram maior vigor e o lote 5 menor vigor. No entanto, aos seis dias após a semeadura, os lotes foram separados em mais classes de vigor, sendo que o lote 3 foi o que apresentou o melhor desempenho, para todas as variáveis analisadas. Apenas para o índice de crescimento ao sexto dia, o lote 1 não diferiu estatisticamente do lote 5 (Tabela 4).

Visando ter uma maior confiabilidade ao utilizar a análise computadorizada de imagens de plântulas na avaliação do vigor de sementes de cebola, foram realizados os mesmos testes com sementes do cultivar B (Tabela 5).

Tabela 5 - Médias da porcentagem de germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), condutividade elétrica (CE), porcentagem de emergência de plântulas (E), índice de velocidade de emergência de plântulas (IVE) e envelhecimento acelerado (EA) de cinco lotes de sementes de cebola do cultivar B nas três épocas de armazenamento

Época	Lote	G	PC	E	IVE	EA	CE
Primeira	1	71 c	71 b	80 a	4,99 a	40 d	424,79 a
	2	84 b	64 b	80 a	4,88 a	53 c	310,04 b
	3	95 a	85 a	94 a	6,12 a	80 a	253,64 b
	4	91 a	88 a	90 a	5,78 a	81 a	260,95 b
	5	92 a	72 b	89 a	5,51 a	66 b	279,02 b
CV (%)		4,04	7,90	9,05	11,63	10,63	9,05
Segunda	1	79 b	51 b	83 b	4,55 b	21 d	443,76 a
	2	84 b	37 c	81 b	4,30 b	18 d	344,34 b
	3	96 a	55 b	89 a	4,93 a	47 b	293,21 c
	4	94 a	76 a	94 a	5,39 a	71 a	285,29 c
	5	87 b	45 c	92 a	5,00 a	36 c	313,54 c
CV (%)		6,75	13,50	5,88	7,88	12,26	6,84
Terceira	1	81 b	46 c	63 b	3,47 c	2 b	489,26 a
	2	84 b	31 d	68 b	3,64 c	5 b	396,07 b
	3	94 a	59 b	94 a	5,33 b	14 a	364,61 b
	4	93 a	76 a	95 a	6,06 a	19 a	354,33 b
	5	92 a	53 b	87 a	4,80 b	8 b	379,09 b
CV (%)		5,54	13,16	10,07	11,95	17,78	9,00

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Inicialmente, verificou-se que os lotes com maiores porcentagens de germinação foram o 3, 4 e 5, que não diferiram entre si e apresentaram porcentagens de germinação acima de 91% (Tabela 5). O lote 2 teve germinação de 84%, diferindo dos demais, mas mantendo-se dentro dos padrões para comercialização de sementes de cebola, que é de 80% para sementes certificadas e não certificadas (BRASIL, 1986). Já o lote 1, apresentou a menor média, quando comparado aos demais lotes, com 71% de germinação.

A avaliação da primeira contagem de germinação e do teste de envelhecimento acelerado, na primeira época (Tabela 5), permitiu classificar os lotes 3 e 4, do cultivar B, como os de maior vigor. Os demais lotes apresentaram menor vigor e, para o envelhecimento acelerado, diferiram estatisticamente entre si, destacando o lote 1 com a menor média, de 40%.

A porcentagem e o índice de velocidade de emergência de plântulas não possibilitaram diferenciar os lotes quanto ao vigor, enquanto que o teste de condutividade elétrica permitiu classificar o lote 1 como o de menor vigor, diferindo dos demais lotes (Tabela 5).

Seis meses após a primeira avaliação, observou-se para a porcentagem de germinação que os lotes 3 e 4 permaneceram com as maiores médias e diferindo

dos demais lotes. Já na primeira contagem de germinação o lote 4 apresentou o melhor desempenho, seguido pelos lotes 1 e 3, com vigor intermediário, e pelos lotes 2 e 5, os menos vigorosos (Tabela 5).

Pela porcentagem e índice de velocidade de emergência constatou-se que os lotes 3, 4 e 5 apresentaram melhor desempenho de plântulas, sendo classificados como os mais vigorosos, e os lotes 1 e 2 com menor vigor. Por sua vez, o teste de condutividade elétrica apresentou a mesma tendência, mas por ser um teste mais sensível, os lotes 1 e 2 foram classificados em níveis de vigor diferentes (Tabela 5).

O teste de envelhecimento acelerado, permitiu ranquear os lotes de forma mais detalhada, em que o lote 4 apresentou maior potencial de armazenamento, com 71% de germinação ao final do teste. Os lotes 1 e 2 apresentaram menor vigor, com médias 21% e 18%. Já os lotes 3 e 5 foram classificados com vigor intermediário e médias de 47% e 36%, diferindo entre si (Tabela 5).

Para a terceira época de avaliação, doze meses após a primeira, foi possível verificar que o lote 4 comportou-se como o de maior vigor para todos os testes utilizados (Tabela 5).

Na porcentagem de germinação e de emergência os lotes 3, 4 e 5 apresentaram as maiores médias, não diferindo entre si, enquanto os lotes 1 e 2 expressaram os menores resultados. Comportamento similar foi verificado para a primeira contagem de germinação e para o índice de velocidade de emergência, no entanto, estes classificaram os lotes em mais níveis de vigor, sendo o lote 4 o de maior potencial fisiológico (Tabela 5).

Por meio do teste de envelhecimento acelerado foi possível agrupar os lotes 3 e 4 como os lotes de maior vigor, diferindo dos lotes 1, 2 e 5. Já no teste de condutividade elétrica, apenas o lote 1 diferiu dos demais, apresentando-se como o de menor vigor (Tabela 5).

As determinações obtidas pela análise computadorizada de imagens de plântulas, nas duas primeiras épocas de avaliação, inicial e após seis meses de armazenamento, foi possível distinguir os lotes 3 e 4 como os de maior vigor e o lote 2 como o de menor vigor, tanto aos cinco como aos seis dias após a semeadura (Tabela 6). Esses dados estão de acordo com aqueles obtidos pelos testes tradicionais, primeira contagem de germinação e envelhecimento acelerado, que mostraram classificação semelhante (Tabela 5).

Tabela 6 - Médias dos índices de vigor (IV), de crescimento (IC), de uniformidade (IU) e comprimento das plântulas (CP), obtidos pelo *software* SVIS® com 5 e 6 dias após a semeadura, de cinco lotes de sementes de cebola do cultivar B nas três épocas de armazenamento

Época	Lote	----- 5 dias -----				----- 6 dias -----			
		CP	IV	IC	IU	CP	IV	IC	IU
Primeira	1	0,79 b	721 b	687 a	802 b	1,42 b	753 b	721 b	830 b
	2	0,50 d	590 d	535 c	721 c	1,09 c	667 c	619 c	784 c
	3	0,92 a	770 a	738 a	845 a	1,64 a	813 a	793 a	862 a
	4	0,92 a	773 a	732 a	870 a	1,66 a	818 a	795 a	875 a
	5	0,70 c	673 c	624 b	801 b	1,40 b	747 b	712 b	831 b
CV (%)		9,63	5,45	9,06	4,72	11,13	6,29	8,13	4,53
Segunda	1	0,63 b	627 b	559 b	793 b	1,21 b	710 b	668 b	810 b
	2	0,47 c	550 c	475 c	728 c	0,94 c	603 c	529 d	779 c
	3	0,73 a	668 a	600 a	829 a	1,58 a	789 a	753 a	875 a
	4	0,77 a	693 a	628 a	848 a	1,56 a	791 a	755 a	878 a
	5	0,57 b	605 b	534 b	771 b	1,24 b	690 b	629 c	834 b
CV (%)		16,51	8,30	11,74	6,31	9,53	5,54	7,67	4,51
Terceira	1	0,46 c	567 b	490 b	751 b	0,74 c	549 c	459 c	761 b
	2	0,22 d	415 c	328 c	617 c	0,70 c	558 c	492 c	715 c
	3	0,57 b	626 a	557 a	789 a	1,07 b	656 b	581 b	832 a
	4	0,66 a	660 a	588 a	830 a	1,28 a	746 a	705 a	844 a
	5	0,41 c	539 b	461 b	723 b	1,13 b	693 b	645 a	805 a
CV (%)		18,53	9,73	15,09	6,49	16,00	8,75	13,14	5,00

*Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas, para cada cultivar, não diferem entre si pelo teste de Skott-Knott a 5% de probabilidade.

Na terceira época de avaliação, aos cinco dias após a semeadura, verificou-se o mesmo padrão das duas épocas anteriores, em que os lotes 3 e 4 mantiveram-se como os mais vigorosos e o lote 2 com menor vigor. Contudo, pelo comprimento de plântula, foi possível estratificar os lotes em mais níveis de vigor, com destaque para o lote 4 que apresentou a maior média (Tabela 6). Aos seis dias, o lote 4 se destacou como o mais vigoroso, para as determinações de comprimento de plântula e índice de vigor, nas quais os lotes 1 e 2 foram classificados como os menos vigorosos.

Quanto ao índice de crescimento, o lote 5 não diferiu do lote 4, apresentando as maiores médias e seguidos pelo lote 3 e pelos lotes 1 e 2, que não diferiram entre si. O lote 5 possui qualidade intermediária, ora sendo classificado como de alto vigor, ora como de baixo vigor (Tabela 6).

O índice de uniformidade classificou os lotes 3, 4 e 5 como sendo os mais uniformes, enquanto que o lote 2 como o menos uniforme, diferindo do lote 1 (Tabela 6).

Uma tendência observada durante a classificação dos lotes 1 e 2 do cultivar B, na segunda e terceira época de avaliação dos testes tradicionais e em todas as épocas do SVIS®, foi que para a primeira contagem de germinação e para as

determinações do SVIS[®], o lote 1 foi superior ao lote 2, enquanto que para a condutividade elétrica ocorreu o inverso. Esse comportamento pode ter acontecido devido aos testes avaliarem características distintas relacionadas à qualidade fisiológica das sementes e a porcentagem de germinação dos lotes serem similares, o que permitiu o ranqueamento muito próximo desses dois lotes. Este comportamento demonstrou ainda, que a análise do SVIS[®] corrobora com os testes tradicionais de vigor de sementes de cebola.

Os testes de vigor tradicionalmente utilizados, bem como as determinações obtidas pela análise computadorizada de imagens de plântulas possibilitaram a estratificação dos lotes de sementes de cebola em diferentes níveis de vigor. Contudo, a correlação entre os testes tradicionais e a análise de imagens é essencial para a adequação da metodologia avaliada, principalmente quando se pretende determinar a melhor idade de plântulas para realizar a análise.

A fim de verificar quais as determinações obtidas pela análise computadorizada de imagens de plântulas apresentam melhor correlação com os testes de vigor tradicionais, abaixo estão apresentados os diagramas de correlação (Figuras 9 a 14), para cinco e seis dias após a semeadura.

Não foi encontrada correlação significativa entre comprimento de plântula e os índices de vigor e crescimento obtidos pelo SVIS[®] com a germinação, aos cinco dias após a semeadura (Figuras 9A, 9C e 9E), já para o índice de uniformidade a correlação com a germinação foi significativa (Figura 9G). Aos seis dias após a semeadura as correlações das quatro determinações do SVIS[®] foram significativas (Figuras 9B, 9D, 9F e 9H), no entanto, os valores dos coeficientes foram baixos para os dois dias avaliados, com valores entre 0,44 e 0,54. Esse comportamento era esperado pelo fato do teste de germinação ser realizado sob condições ideais e, portanto, não avaliar o vigor das sementes, como se propõe a análise no SVIS[®]. Caldeira et al. (2014), em sementes de girassol, também não observaram correlação significativa entre a germinação e as determinações do SVIS[®].

Figura 9 - Diagramas de dispersão e coeficientes de correlação (r) entre porcentagem de germinação (G) e os valores obtidos pelo SVIS e os valores obtidos pelo SVIS[®] para cinco lotes de sementes de duas cultivares de cebola, em três épocas de avaliação: comprimento de plântula (CP), índice de vigor, índice de crescimento e índice de uniformidade aos 5 dias (A, C, E e G) e aos 6 dias (B, D, F e H)

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t.

Figura 10 - Diagramas de dispersão e coeficientes de correlação (r) entre a porcentagem de germinação obtida na primeira contagem (PC) e os valores obtidos pelo SVIS[®] e os valores obtidos pelo SVIS para cinco lotes de sementes de duas cultivares de cebola, em três épocas de avaliação: comprimento de plântula (CP), índice de vigor, índice de crescimento e índice de uniformidade aos 5 dias (A, C, E e G) e aos 6 dias (B, D, F e H)

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t.

Figura 11 - Diagramas de dispersão e coeficientes de correlação (r) entre porcentagem de emergência (E) e os valores obtidos pelo SVIS e os valores obtidos pelo SVIS® para cinco lotes de sementes de duas cultivares de cebola, em três épocas de avaliação: comprimento de plântula (CP), índice de vigor, índice de crescimento e índice de uniformidade aos 5 dias (A, C, E e G) e aos 6 dias (B, D, F e H)

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t.

Figura 12 - Diagramas de dispersão e coeficientes de correlação (r) entre índice de velocidade de emergência (IVE) e os valores obtidos pelo SVIS e os valores obtidos pelo SVIS® para cinco lotes de sementes de duas cultivares de cebola, em três épocas de avaliação: comprimento de plântula (CP), índice de vigor, índice de crescimento e índice de uniformidade aos 5 dias (A, C, E e G) e aos 6 dias (B, D, F e H)

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t.

Figura 13 - Diagramas de dispersão e coeficientes de correlação (r) entre porcentagem de germinação após envelhecimento acelerado (EA) e os valores obtidos pelo SVIS[®] para cinco lotes de sementes de duas cultivares de cebola, em três épocas de avaliação: comprimento de plântula (CP), índice de vigor, índice de crescimento e índice de uniformidade aos 5 dias (A, C, E e G) e aos 6 dias (B, D, F e H)

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t.

Figura 14 - Diagramas de dispersão e coeficientes de correlação (r) entre condutividade elétrica (CE) e os valores obtidos pelo SVIS[®] para cinco lotes de sementes de duas cultivares de cebola, em três épocas de avaliação: comprimento de plântula (CP), índice de vigor, índice de crescimento e índice de uniformidade aos 5 dias (A, C, E e G) e aos 6 dias (B, D, F e H)

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t.

A correlação entre a primeira contagem de germinação e as determinações obtidas pelo SVIS[®] foram todas significativas (Figura 10), apresentando coeficientes de correlação acima de 0,77. Observou-se que a correlação aos cinco dias após a semeadura foi superior do que aos seis dias. Da mesma forma, para a porcentagem e para o índice de velocidade de emergência, as correlações foram significativas e os coeficientes de correlação aos seis dias foram maiores do que aos cinco dias, com valores acima de 0,71 para a maior parte dos índices (Figuras 11 e 12).

A interpretação da magnitude dos coeficientes ainda é considerada complexa, tendo em vista que, os padrões de referência são subjetivos, não existindo ainda para essas correlações valores definidos. No entanto, há um consenso de que quanto mais próximo de -1 ou 1, mais forte é a dependência de uma variável com relação à outra. Figueiredo Filho e Silva Junior (2009) citam que um coeficiente de correlação entre 0,1 e 0,3 é considerado fraco, entre 0,4 e 0,6, moderado e acima de 0,7, forte.

As correlações entre os testes de envelhecimento acelerado e de condutividade elétrica e os índices fornecidos pelo SVIS[®] foram significativos (Figuras 13 e 14), no entanto os coeficientes foram fracos ou moderados, entre 0,34 e 0,63, para as duas variáveis analisadas.

Os testes de primeira contagem de germinação, porcentagem e índice de velocidade de emergência apresentaram correlação forte com os índices gerados pelo SVIS[®] por também avaliarem o desempenho de plântulas, enquanto que os testes de germinação, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica avaliam outros aspectos relacionados à qualidade fisiológica das sementes. Além disso, a análise de correlação possibilita avaliar a relação de dependência entre as variáveis estudadas e o uso desse procedimento pode resultar em interpretações incompletas ou equivocadas (BERKEY, 1993; MARCOS FILHO et al., 1984).

Quando a correlação é significativa, pode-se afirmar que há proporcionalidade entre as variáveis, no entanto isso não denota que os lotes analisados tenham sido classificados na mesma sequência de desempenho (TEKRONY; EGLI, 1977; MOLINA; IRIGON; ZONTA, 1987). Desta forma, deve-se adotar uma abordagem diferente, visando verificar também a coincidência entre a classificação dos lotes.

Caliari e Silva (2001) descreveram uma metodologia para ranquear os lotes quanto ao nível de desempenho e verificar a coincidência de classificação entre as determinações realizadas. Esta metodologia foi aplicada com o intuito de comparar o

desempenho geral entre os testes de vigor tradicionais (ANEXOS – Tabelas 8 e 10) e as determinações obtidas pelo SVIS[®] (ANEXOS – Tabelas 9 e 11) para os dois cultivares estudados, classificando os lotes como superior, igual ou inferior à média.

Descrever o desempenho para cada variável individualmente nos colocaria na mesma condição das análises anteriores e dificultaria a determinação dos lotes mais vigorosos. Desta forma, a comparação entre os lotes foi realizada por grupos, a saber: grupo A, testes tradicionais de vigor; grupo B, determinações do SVIS[®] cinco dias após a semeadura; e grupo C, determinações do SVIS[®] seis dias após a semeadura. O cálculo da taxa de coincidência foi realizado entre os grupos A e B e grupos A e C (Tabela 7).

A taxa de coincidência entre os testes tradicionais e as determinações aos cinco e seis dias após a semeadura foram de 80%, na primeira época de avaliação para o cultivar A (Tabela 7).

Na segunda época houve 100% de coincidência na comparação aos cinco dias e 80% aos seis dias, enquanto que na terceira época, verificou-se redução na taxa de coincidência, com 80% e 60%, para cinco e seis dias após a semeadura. Considerando-se as três épocas verificou-se uma média de 86,7% e 73,3% de coincidência entre os testes tradicionais de vigor e o SVIS[®], aos cinco e seis dias (Tabela 7).

Para o cultivar B, observou-se 60% de coincidência na primeira e segunda época de avaliação e aos cinco e seis dias. Já na terceira época a taxa de coincidência aumentou, obtendo-se 80% de coincidência aos cinco dias e 100% aos seis dias. Em média, para esse cultivar, verificou-se 66,7% e 73,3% de coincidência (Tabela 7).

Considerando-se os dois cultivares e as três épocas de avaliação, calculou-se a taxa de coincidência geral de 76,7% aos cinco dias após a semeadura e de 73,3% na avaliação ao sexto dia (Tabela 7).

Neste trabalho, foi constatada uma boa coincidência entre a classificação entre os testes de vigor tradicionais e o SVIS[®], visto que Silva (2012), realizando trabalho similar, para sementes de tomate observou taxa média de coincidência de 45%, sendo o valor máximo encontrado de 70%. Já para berinjela, esse mesmo autor encontrou uma taxa de coincidência média de 72%, com máximo de 90%.

Tabela 7 - Comparação entre os desempenhos nos testes de vigor (A) e nos índices fornecidos pelo SVIS[®], cinco (B) e seis (C) dias após a semeadura, e taxas de coincidência entre lotes em cada época (TC¹), entre cultivares (TC²) e geral (TCG) para sementes de cebola dos cultivares A e B, em três épocas de armazenamento

Cultivar	Época	Lote	A	B	A/B	C	A/C
A	Primeira	1	SM	SM	1	IM	0
		2	SM	SM	1	SM	1
		3	SM	SM	1	SM	1
		4	SM	IM	0	SM	1
		5	IM	IM	1	IM	1
	TC ¹ (%)				80,0	TC ¹ (%)	80,0
	Segunda	1	SM	SM	1	SM	1
		2	SM	SM	1	SM	1
		3	SM	SM	1	SM	1
		4	IM	IM	1	SM	0
		5	IM	IM	1	IM	1
	TC ¹ (%)				100,0	TC ¹ (%)	80,0
	Terceira	1	IM	SM	0	IM	1
		2	SM	SM	1	M	0
		3	SM	SM	1	SM	1
		4	SM	SM	1	M	0
		5	IM	IM	1	IM	1
	TC ¹ (%)				80	TC ¹ (%)	60
	TC ² (%)				86,7	TC ² (%)	73,3
B	Primeira	1	IM	SM	0	M	0
		2	IM	IM	1	IM	1
		3	SM	SM	1	SM	1
		4	SM	SM	1	SM	1
		5	SM	IM	0	M	0
	TC ¹ (%)				60,0	TC ¹ (%)	60,0
	Segunda	1	IM	M	0	SM	0
		2	IM	IM	1	IM	1
		3	SM	SM	1	SM	1
		4	SM	SM	1	SM	1
		5	SM	M	0	IM	0
	TC ¹ (%)				60,0	TC ¹ (%)	60,0
	Terceira	1	IM	IM	1	IM	1
		2	IM	IM	1	IM	1
		3	SM	SM	1	SM	1
		4	SM	SM	1	SM	1
		5	SM	IM	0	SM	1
TC ¹ (%)				80	TC ¹ (%)	100	
TC ² (%)				66,7	TC ² (%)	73,3	
TCG (%)				76,7	TCG (%)	73,3	

5 CONCLUSÕES

A morfologia de sementes de cebola dificulta a análises de imagens radiográficas, mas o uso dessas imagens permite a identificação de malformações, que estão relacionadas com plântulas anormais e/ou sementes mortas.

O SVIS[®] é eficiente para identificar diferenças de vigor entre lotes de sementes de cebola e avaliação deve ser realizada aos cinco dias após a semeadura.

REFERÊNCIAS

ABCSEM. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO COMÉRCIO DE SEMENTES E MUDAS. Pesquisa de mercado de sementes de hortaliças 2009. Disponível em: <<http://www.abcsem.com.br/dadosdosegmento.php>>. Acesso em: 8 Jan 2016.

AGRIANUAL. AGRIANUAL 2013: Anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP Consultoria, 2013. 458p.

ALBUQUERQUE, K.S.; GUIMARAES, R.M. Avaliação da qualidade de sementes sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.) pelo teste de raios X. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 6, p. 1713-1718, 2008.

ALVARENGA, R.O.; MARCOS FILHO, J.; GOMES JUNIOR, F.G. Avaliação do vigor de sementes de milho por meio da análise computadorizada de imagens de plântulas. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 488-494, 2012.

BACCHI, O. Equilíbrio higroscópico das sementes de café, fumo e várias hortaliças. **Bragantia**, Campinas, v. 18, n. 15, p. 225-232, 1959.

BERKEY, D.A. Industry perspective of vigour testing. **Journal of Seed Technology**, Lansing, v. 17, n. 2, p. 127-133, 1993.

BITTENCOURT, M.L.C. **Qualidade das sementes e avaliação das progênes de meios-irmãos de cenoura (*Daucus carota* L.) 'Brasília'**. 1991. 77p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1991.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Glossário ilustrado de morfologia**. / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009a. 406p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 1986. Portaria nº 457, 18 de dezembro de 1986. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 dez. p.19653.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: MAPA/ACS, 2009b. 395p.

CALDEIRA, C.M.; CARVALHO, M.L.M.; OLIVEIRA, J.A.; COELHO, S.V.B.; KATAOKA, V. Y. Vigor de sementes de girassol pela análise computadorizada de plântulas. **Científica**, Jaboticabal, v. 42, n. 4, p.346-353, 2014.

CALIARI, M.F.; SILVA, W.R. Interpretação de dados de testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 239-251, 2001.

CARVALHO, M.L.M.; ALVES, R.A.; OLIVEIRA, L.M. Radiographic analysis in castor bean seeds (*Ricinus communis* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 170-175, 2010.

CARVALHO, M.L.M.; SILVA, C.D.; OLIVEIRA, L.M.; SILVA, D.G.; CALDEIRA, C. M. Teste de raios x na avaliação da qualidade de sementes de abóbora. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 221-227, 2009.

CHIKUITO, A.A.; GOMES JUNIOR, F.G.; MARCOS FILHO, J. Assessment of physiological potential of cucumber seeds using the software Seedling Vigor Imaging System[®] (SVIS[®]). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 255-263, 2012.

CICERO, S.M.; BANZATTO JUNIOR, H.L. Avaliação do relacionamento entre danos mecânicos e vigor, em sementes de milho, por meio da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 29-36, 2003.

CICERO, S.M.; van der HEIJDEN, G.W.A.M.; van der BURG, W.J.; BINO, R.J. Evaluation of mechanical damage in seeds of maize (*Zea mays* L.) by X-ray and digital imaging. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 26, p. 603-612, 1998.

DELL'AQUILA, A. Cabbage, lentil, pepper and tomato seed germination monitored by an image analysis system. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 32, n. 1, p. 225-229, 2004b.

DELL'AQUILA, A. Pepper seed germination assessed by combined X-radiography and computer-aided imaging analysis. **Biologia Plantarum**, Praga, v. 51, n. 4, p. 777-781, 2007a.

DELL'AQUILA, A. Red-Green-Blue (RGB) colour density as a non-destructive marker in sorting deteriorated lentil (*Lens culinaris*) seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 34, n. 3, p. 609-619, 2006.

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

DELL'AQUILA, A., van ECK, J. W.; van der HEIJDEN, G.W.A.M. The application of image analysis in monitoring the imbibitions process of white cabbage (*Brassica oleracea* L.) seeds. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 10, p. 163-169, 2000.

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

DELL'AQUILA, A. The use of image analysis to monitor the germination of seeds of broccoli (*Brassica oleracea*) and radish (*Raphanus sativus*). **Annals of Applied Biology**, Wellesbourne, v. 146, p. 545-550, 2005.

DELOUCHE, J.C.; BASKIN, C.C. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability seed lots. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, n. 2, p. 427-252, 1973.

DIAS, D.C.F.S.; BHERING, M.C.; TOKUHISA, D.; HILST, P.C. Teste de condutividade elétrica para avaliação do vigor de sementes de cebola. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 154-162, 2006.

DUCOURNAU, S.; FEUTRY, A.; PLAINCHAULT, P.; REVOLLON, P.; VIGOUROUX, B.; WAGNER, M. H. An image acquisition system for automated monitoring of the germination rate of sunflower seeds. **Computers and Electronics in Agriculture**, Amsterdam, v. 44, n. 3, p. 189-202, 2004.

FIGUEIREDO FILHO, D.B; SILVA JUNIOR, J.A. Desvendando os mistérios do coeficiente de correlação de Pearson (r). **Revista Política Hoje**, Recife, v. 18, n. 1, p. 115-146, 2009.

FLOR, E.P.O.; CARVALHO, M.L.M.; COSTA, P.S.C. Utilização de raios-X na avaliação da qualidade fisiológica em sementes de melão (*Cucumis melo*). In: Congresso Brasileiro de Sementes, 1999, Curitiba. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 11, p.236, 2001.

FLOR, E.P.O.; CICERO, S.M.; FRANÇA NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C. Avaliação de danos mecânicos em sementes de soja por meio da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 26, n. 1, p. 68-76, 2004.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. Agriculture. Disponível em: <<http://faostat.fao.org>>. Acesso em: 05 jan 2016.

FORTI, V.A.; CARVALHO, C.; TANAKA, F.A.O.; CICERO, S.M. Weathering damage in soybean seeds: assessment, seed anatomy and seed physiological potential. **Seed Technology**, Washington, v. 35, n. 2, p. 213-224, 2013.

FORTI, V.A.; CICERO, S.M.; PINTO, T.L.F. Análise de imagens na avaliação de danos mecânicos e causados por percevejos em sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 1, p. 121-130, 2008.

GAGLIARDI, B.; MARCOS FILHO, J. Relationship between germination and bell pepper seed structure assessed by the X-ray test. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 68, n. 4, p. 411-416, 2011.

GOMES JUNIOR, F.G.; CHAMMA, H.M.C.P.; CICERO, S.M. Automated image analysis of seedling for vigor evaluation of common bean seeds. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 36, n. 2, p. 195-200, 2014.

GOODMAN, R.C.; JACOBS, D.F.; KARRFALT, R.P. Evaluating desiccation sensitivity of *Quercus rubra* acorns using X ray image analysis. **Canadian Journal Forest Research**, Ottawa, v. 35, p. 2823-2831, 2009.

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

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION - ISTA. **International Rules for Seed Testing**. Switzerland, 1996. 323p. Supplement.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION – ISTA. **International Rules for Seed Testing**. 2004. 180p.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION – ISTA. Seed vigour testing. In: ISTA, **International Rules for Seed Testing**. Seed Science and Technology, v.21, p.393, 1993. Supplement.

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

MACHADO, C.F.; CICERO, S.M. Aroeira-branca (*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. Anacardiaceae) seed quality evaluation by the X-ray test. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 2, p. 393-397, 2003.

MARCOS FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 72, n. 4, p. 365-374, 2015.

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. cap. 3, p. 1-24.

MARCOS FILHO, J. Testes 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. 1-1.24.

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.

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.; PESCARIN, H.M.C.; KOMATSU, Y.H.; DEMÉTRIO, C.G.B.; FANCELLI, A. L. Testes para a avaliação do vigor de sementes de soja e suas relações com a emergência das plântulas em campo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 5, p. 605-613, 1984.

MASETTO, T.E.; FARIA, J.M.R.; QUEIROZ, S.E. Avaliação da qualidade de sementes de cedro (*Cedrella fissilis*—Meliaceae) pelo teste de raios X. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 6, p. 1-7, 2008.

McCORMAC, A.C.; KEEFE, P.D.; DRAPER, S.R. Cauliflower seed vigor: imbibitions effects. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 41, n. 4, p. 893-899, 1990.

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

McDONALD, M.B.; FUJIMURA, K.; BENNET, M.A.; SAKO, Y.; EVANS, A.F. **System and method for determining a seed vigor index from germinated seedlings by automatic separate on of overlapped seedlings**. U.S. Patent 6, 882, 740 B1. Data da patente: 19 de abril de 2005.

MELO, R.A.; FORTI, V.A.; CICERO, S.M.; NOVENBRE, A.D.L.C.; MELO, P.C. T. Use of X-ray to evaluate damage caused by weevils in cowpea seeds. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 4, p. 472-476, 2010.

MENEZES, N.L.; CICERO, S.M.; VILLELA, F.A.; BORTOLOTTI, R.P. Using X rays to evaluate fissures in rice seeds dried artificially. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 70-77, 2012.

MOLINA, J.C.; IRIGON, D.L.; ZONTA, E.P. Comparação entre metodologias do teste de frio na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho (*Zea mays* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 9, n. 3, p. 77-85, 1987.

MONDO, V.H.V.; DIAS, M.A.N.; McDONALD, M.B. Seed vigor imaging system for two-day-old corn seedling evaluation. **Seed Technology**, Washington, v. 33, n. 2, p. 191-196, 2011.

NASCIMENTO, W.M. **Produção de sementes de hortaliças para a agricultura familiar**. Brasília, DF:Embrapa Hortaliças, mar. 2005. (Circular Técnica, 35).

NASCIMENTO, W.M. **Tecnologia de sementes de hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009. 432p.

NASSIF, D.S.P.; CICERO, S.M. Avaliação de sementes de acerola por meio de raios X. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 3, p. 542-545, 2006.

OLIVEIRA, L.M.; CARVALHO, M.L.M.; DAVIDE, A.C. Utilização do teste de raios-X na avaliação da qualidade de sementes de canafístula (*Peltopho rumdubium* (Sprengel) Taubert). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 25, n. 1, p. 116-120, 2003.

OLIVEIRA, L.M.; CARVALHO, M.L.M.; GUIMARÃES, R.M.; MASETTO, T.E. Avaliação da qualidade de sementes de *Tabebuia serratifolia* Vahl Nich, e *T. impetiginosa* (Martius ex A. P. de Candolle) Standley - (BIGNONIACEAE) pelo teste de raios-X. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 138-143, 2004.

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

PANOBIANCO, M.; MARCOS FILHO, J. Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de tomate. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 3, p. 525-531, 2001.

PANOBIANCO, M.; VIEIRA R.D.; PERECIN D. Electrical conductivity as an indicator of pea seed aging of stored at different temperatures. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 64, n. 2, p. 119-124, 2007.

PANOBIANCO, M.; VIEIRA, R.D. Electrical conductivity and deterioration of soybean seeds exposed to different storage conditions. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 97-105, 2007.

PESKE, S.T.; VILLELA, F.A.; LABBÉ-BAUDET, L. Secagem de sementes de hortaliças. In: NASCIMENTO, W.M. (Ed.) **Tecnologia de sementes de hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009. p. 137-151.

PINTO, C.A.G.; CARVALHO, M.L.M.; ANDRADE, D.B.; LEITE, E.R.; CHALFOUN, I. Image analysis in the evaluation of the physiological potential of maize seeds. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 46, n. 2, p. 319-328, 2015.

PINTO, T.L.F.; MARCOS FILHO, J.; FORTI, V.A.; CARVALHO, C.; GOMES JUNIOR, F.G. Avaliação da viabilidade de sementes de pinhão manso pelos testes de tetrazólio e de raios X. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 2, p. 195-201, 2009.

POULSEN, K.M.; PARRATT, M.J.; GOSLING, P.G. Tropical and subtropical tree and shrub seed handbook. **International Seed Testing Association**, Zurich, 1998. 204p.

PUPIM, T.L.; NOVENBRE, A.D.L.C.; CARVALHO, M.L.M.; CICERO, S.M. Adequação do teste de raios X para avaliação da qualidade de sementes de Embaúba (*Cecropia pachystachya* Trec.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 28-32, 2008.

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

RODO, A.B.; MARCOS FILHO, J. Accelerated aging and controlled deterioration for the determination of the physiological potential of onion seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 3, p. 465-469, 2003.

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

SANTOS, S.A.; SILVA, R.F.; PEREIRA, M.G.; MACHADO, J.C.; BORÉM, F.M.; GOMES, V.M.; TONETTI, O.A.O. X-ray technique application in evaluating the quality of papaya seeds. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 37, p. 776-780, 2009.

SILVA, C.B.; LOPES, M.M.; MARCOS FILHO, J.; VIEIRA, R.D. Automated system of seedling image analysis (SVIS) and electrical conductivity to assess sun hemp seed vigor. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 1, p. 55-60, 2012.

SILVA, V.N. **Avaliação da qualidade de sementes de tomate e de berinjela por meio de análise de imagens**. 2012. 164p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

SILVA, V.N.; CICERO, S.M.; BENNETT, M. Associations between X-ray visualised internal tomato seed morphology and germination. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 41, n. 2, p. 225-234, 2013.

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

SILVA, V.N.; CICERO, S.M. Image seedling analysis to evaluate tomato seed physiological potential. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 2, p. 327-334, 2014b.

SIMAK, M. X-radiography in research and testing of forest tree seeds. **Umea Swedish University of Agriculture Science**, Umea, v. 3, p. 1-34, 1980.

SIMAK, M.; GUSTAFSSON, A. X-ray photography and sensitivity in forest tree species. **Hereditas**, Landskrona, v. 39, p. 458-468, 1953.

SOUZA, L.A.; REIS, D.N.; SANTOS, J.P.; DAVIDE, A.C. Uso de raios-x na avaliação da qualidade de sementes de *Platypodium elegans* Vog. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 39, n. 2, p. 343-347, 2008.

TEKRONY, D.M.; EGLI, D.B. Relationship between laboratory indices of soybean seed vigor and field emergence. **Crop Science**, Madison, v. 17, n. 4, p. 573-577, 1977.

TORRES, S.B.; MARCOS FILHO, J. Accelerated aging of melon seeds. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 60, n. 1, p. 77-82, 2003.

van der BURG, W.J.; AARTSE, J.W.; ZWOL, R.A. van; JALINK, H.; BINO, R.J. Predicting tomato seedling morphology by X-ray analysis of seeds. **Journal American Society for Horticultural Science**, Virginia, v. 119, n. 2, p. 258-263, 1994.

van der HEIJDEN, G.W.A.M.; POLDER, G.; van ECK, J.W.; van der SCHOOR, R. Automatic determination of germination of seeds. **World Seed Conference**, Cambridge UK, Programme & Abstracts. 1999. 14p.

ZABOT, L.; DUTRA, L.M.C.; MENEZES, N.L.; GARCIA, D.C.; LUDWIG, M.P.; SANTOS, V.J. Uso de imagens digitais para avaliação de plântulas de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 184-192, 2008.

ANEXOS

Tabela 8 - Ranqueamento das médias de porcentagem de germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), porcentagem de emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), envelhecimento acelerado (EA), condutividade elétrica (CE) e classificação estatística com pontuação por avaliação (P), pontuação geral (PG) e desempenho de cinco lotes de sementes de cebola do cultivar A em três épocas de armazenamento

Época	Lote	G	P	PC	P	E	P	IVE	P	EA	P	CE	P	PG	Desempenho
Primeira	1	91 a	0	91 a	0	93 a	1	6,04 a	1	47 b	-1	287,02 b	0	1	SM
	2	93 a	0	93 a	0	93 a	1	6,37 a	1	55 b	-1	270,55 c	1	2	SM
	3	92 a	0	92 a	0	95 a	1	6,28 a	1	54 b	-1	279,23 b	0	1	SM
	4	96 a	0	86 a	0	92 a	1	5,94 a	1	85 a	4	258,65 c	1	7	SM
	5	97 a	0	88 a	0	87 b	-4	5,44 b	-4	54 b	-1	333,72 a	-2	-11	IM
Segunda	1	89 a	0	77 a	2	91 a	0	5,19 a	2	6 c	-1	372,58 b	1	4	SM
	2	90 a	0	84 a	2	94 a	0	5,38 a	2	15 b	0	352,07 b	1	5	SM
	3	94 a	0	85 a	2	96 a	0	5,68 a	2	11 c	-1	370,23 b	1	4	SM
	4	91 a	0	65 b	-3	87 a	0	4,89 b	-3	55 a	2	337,01 b	1	-3	IM
	5	91 a	0	61 b	-3	88 a	0	4,78 b	-3	20 b	0	420,26 a	-4	-10	IM
Terceira	1	88 a	0	74 a	1	88 a	0	5,08 a	0	0 b	-1	445,14 a	-3	-3	IM
	2	95 a	0	88 a	1	89 a	0	5,25 a	0	0 b	-1	409,67 b	2	2	SM
	3	91 a	0	76 a	1	90 a	0	5,39 a	0	0 b	-1	417,22 b	2	2	SM
	4	93 a	0	81 a	1	94 a	0	5,93 a	0	16 a	4	377,47 b	2	7	SM
	5	89 a	0	53 b	-4	86 a	0	4,74 a	0	1 b	-1	477,97 a	-3	-8	IM

SM: desempenho superior à média (PG > 0); M: desempenho igual à média (PG = 0); IM: desempenho inferior à média (PG < 0).

Tabela 9 - Ranqueamento das médias, aos cinco e seis dias após a semeadura, para comprimento de plântula (CP), índice de vigor (IV), índice de crescimento (IC) e índice de uniformidade de crescimento (IU) e classificação estatística com pontuação por avaliação (P), pontuação geral (PG) e desempenho de cinco lotes de sementes de cebola do cultivar A em três épocas de armazenamento

Época	Lote	5 dias										6 dias									
		CP	P	IV	P	IC	P	IU	P	PG	Desempenho	CP	P	IV	P	IC	P	IU	P	PG	Desempenho
Primeira	1	1,11 b	2	869 a	1	874 a	1	861 a	2	6	SM	1,53 b	-3	785 b	-3	749 b	-3	869 a	1	-8	IM
	2	1,23 a	3	916 a	1	929 a	1	887 a	2	7	SM	1,88 a	2	895 a	2	892 a	2	904 a	1	7	SM
	3	1,18 a	3	895 a	1	886 a	1	887 a	2	7	SM	1,82 a	2	878 a	2	876 a	2	884 a	1	7	SM
	4	0,98 c	-5	801 b	0	783 b	0	843 b	-3	-8	IM	1,70 a	2	862 a	2	847 a	2	868 a	1	7	SM
	5	0,83 d	-3	738 c	-3	703 c	-3	821 b	-3	-12	IM	1,44 b	-3	776 b	-3	757 b	-3	823 b	-4	-13	IM
Segunda	1	1,06 a	3	836 a	1	822 a	1	871 a	1	6	SM	1,68 a	1	823 a	1	804 a	1	869 b	0	3	SM
	2	1,09 a	3	845 a	1	825 a	1	893 a	1	6	SM	1,84 a	1	872 a	1	863 a	1	895 a	1	4	SM
	3	1,00 b	2	798 a	1	763 b	0	882 a	1	4	SM	1,74 a	1	846 a	1	829 a	1	888 a	1	4	SM
	4	0,91 c	-3	773 a	1	742 b	0	845 b	0	-2	IM	1,66 a	1	838 a	1	828 a	1	861 b	0	3	SM
	5	0,59 d	-5	604 b	-4	531 c	-2	783 c	-3	-14	IM	1,26 b	-4	694 b	-4	639 b	-4	827 c	-2	-14	IM
Terceira	1	0,56 b	0	600 b	0	513 a	1	807 a	1	2	SM	1,13 b	0	670 c	-1	590 c	-1	858 b	0	-2	IM
	2	0,66 a	1	653 a	1	572 a	1	843 a	1	4	SM	1,25 b	0	715 b	0	652 b	0	864 b	0	0	M
	3	0,64 a	1	640 a	1	549 a	1	852 a	1	4	SM	1,46 a	1	793 a	3	752 a	2	889 a	1	7	SM
	4	0,65 a	1	660 a	1	588 a	1	830 a	1	4	SM	1,22 b	0	711 b	0	651 b	0	852 b	0	0	M
	5	0,29 c	-3	441 c	-3	314 b	-4	744 b	-4	-14	IM	0,90 c	-1	603 d	-2	508 c	-1	825 c	-1	-5	IM

SM: desempenho superior à média (PG > 0); M: desempenho igual à média (PG = 0); IM: desempenho inferior à média (PG < 0).

Tabela 10 - Ranqueamento das médias de porcentagem de germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), porcentagem de emergência (E), índice de velocidade de emergência (IVE), envelhecimento acelerado (EA), condutividade elétrica (CE) e classificação estatística com pontuação por avaliação (P), pontuação geral (PG) e desempenho de cinco lotes de sementes de cebola do cultivar B em três épocas de armazenamento

Época	Lote	G	P	PC	P	E	P	IVE	P	EA	P	CE	P	PG	Desempenho
Primeira	1	71 c	-3	71 b	-2	80 a	0	4,99 a	0	40 d	-4	424,79 a	-4	-13	IM
	2	84 b	0	64 b	-2	80 a	0	4,88 a	0	53 c	-1	310,04 b	1	-2	IM
	3	95 a	1	85 a	3	94 a	0	6,12 a	0	80 a	2	253,64 b	1	7	SM
	4	91 a	1	88 a	3	90 a	0	5,78 a	0	81 a	2	260,95 b	1	7	SM
	5	92 a	1	72 b	-2	89 a	0	5,51 a	0	66 b	1	279,02 b	1	1	SM
Segunda	1	79 b	-2	51 b	0	83 b	-3	4,55 b	-3	21 d	-2	443,76 a	-3	-13	IM
	2	84 b	-2	37 c	-1	81 b	-3	4,30 b	-3	18 d	-2	344,34 b	0	-11	IM
	3	96 a	3	55 b	0	89 a	2	4,93 a	2	47 b	1	293,21 c	1	9	SM
	4	94 a	3	76 a	2	94 a	2	5,39 a	2	71 a	4	285,29 c	1	14	SM
	5	87 b	-2	45 c	-1	92 a	2	5,00 a	2	36 c	-1	313,54 c	1	1	SM
Terceira	1	81 b	-3	46 c	-1	63 b	-3	3,47 c	-1	2 b	-2	489,26 a	-4	-14	IM
	2	84 b	-3	31 d	-3	68 b	-3	3,64 c	-1	5 b	-2	396,07 b	1	-11	IM
	3	94 a	2	59 b	1	94 a	2	5,33 b	0	14 a	3	364,61 b	1	9	SM
	4	93 a	2	76 a	2	95 a	2	6,06 a	2	19 a	3	354,33 b	1	12	SM
	5	92 a	2	53 b	1	87 a	2	4,80 b	0	8 b	-2	379,09 b	1	4	SM

SM: desempenho superior à média (PG > 0); M: desempenho igual à média (PG = 0); IM: desempenho inferior à média (PG < 0).

Tabela 11 - Ranqueamento das médias, aos cinco e seis dias após a semeadura, para comprimento de plântula (CP), índice de vigor (IV), índice de crescimento (IC) e índice de uniformidade de crescimento (IU) e classificação estatística com pontuação por avaliação (P), pontuação geral (PG) e desempenho de cinco lotes de sementes de cebola do cultivar B em três épocas de armazenamento

Época	Lote	5 dias										6 dias									
		CP	P	IV	P	IC	P	IU	P	PG	Desempenho	CP	P	IV	P	IC	P	IU	P	PG	Desempenho
Primeira	1	0,79 b	1	721 b	1	687 a	1	802 b	0	3	SM	1,42 b	0	753 b	0	721 b	0	830 b	0	0	M
	2	0,50 d	-4	590 d	-4	535 c	-3	721 c	-2	-13	IM	1,09 c	-2	667 c	-2	619 c	-2	784 c	-2	-8	IM
	3	0,92 a	2	770 a	2	738 a	1	845 a	1	6	SM	1,64 a	1	813 a	1	793 a	1	862 a	1	4	SM
	4	0,92 a	2	773 a	2	732 a	1	870 a	1	6	SM	1,66 a	1	818 a	1	795 a	1	875 a	1	4	SM
	5	0,70 c	-1	673 c	-1	624 b	0	801 b	0	-2	IM	1,40 b	0	747 b	0	712 b	0	831 b	0	0	M
Segunda	1	0,63 b	0	627 b	0	559 b	0	793 b	0	0	M	1,21 b	0	710 b	0	668 b	1	810 b	0	1	SM
	2	0,47 c	-2	550 c	-2	475 c	-2	728 c	-2	-8	IM	0,94 c	-2	603 c	-2	529 d	-4	779 c	-2	-10	IM
	3	0,73 a	1	668 a	1	600 a	1	829 a	1	4	SM	1,58 a	1	789 a	1	753 a	2	875 a	1	5	SM
	4	0,77 a	1	693 a	1	628 a	1	848 a	1	4	SM	1,56 a	1	791 a	1	755 a	2	878 a	1	5	SM
	5	0,57 b	0	605 b	0	534 b	0	771 b	0	0	M	1,24 b	0	690 b	0	629 c	-1	834 b	0	-1	IM
Terceira	1	0,46 c	-1	567 b	0	490 b	0	751 b	0	-1	IM	0,74 c	-1	549 c	-1	459 c	-1	761 b	0	-3	IM
	2	0,22 d	-3	415 c	-2	328 c	-2	617 c	-2	-9	IM	0,70 c	-1	558 c	-1	492 c	-1	715 c	-3	-6	IM
	3	0,57 b	1	626 a	1	557 a	1	789 a	1	4	SM	1,07 b	0	656 b	0	581 b	0	832 a	1	1	SM
	4	0,66 a	4	660 a	1	588 a	1	830 a	1	7	SM	1,28 a	2	746 a	2	705 a	1	844 a	1	6	SM
	5	0,41 c	-1	539 b	0	461 b	0	723 b	0	-1	IM	1,13 b	0	693 b	0	645 a	1	805 a	1	2	SM

SM: desempenho superior à média (PG > 0); M: desempenho igual à média (PG = 0); IM: desempenho inferior à média (PG < 0).