Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz

Avaliação da morfologia interna e do vigor de sementes de algodão utilizando técnicas de análise de imagens

Plínio Duarte Corrêa

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

Piracicaba
2017

Plínio Duarte Corrêa
Engenheiro Agrônomo

Avaliação da morfologia interna e do vigor de sementes de algodão utilizando técnicas de análise de imagens.

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **SILVIO MOURE CICERO**

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

Piracicaba
2017

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

Corrêa, Plínio Duarte.

Avaliação da morfologia interna e do vigor de sementes de algodão utilizando técnicas de análise de imagens / Plínio Duarte Corrêa. - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - Piracicaba, 2017.

52 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1. *Gossypium hirsutum* L. 2. Raios X 3. Potencial fisiológico 4. Análise computadorizada de plântulas I. Título

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Arnon e Angelita, e à minha avó, Hozita, por todo o apoio, amor, carinho, paciência, compreensão e ensinamentos transmitidos ao longo da vida. Sem vocês nada disso seria possível. Vocês são tudo para mim.

E a todos meus familiares que sempre foram especiais e estiveram presentes em cada momento.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e por abençoar-me com saúde.

Aos meus pais Arnon e Angelita, e a minha avó Hozita, pelas orações, pelo amor, carinho, conselhos e dedicação.

A todos meus familiares, por estarem sempre ao meu lado possibilitando a conquista de mais uma etapa.

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (USP/ESALQ), pelo suporte e apoio na realização do mestrado.

À CAPES, pela bolsa de estudos concedida.

À empresa Bayer CropScience, pelas sementes de algodão utilizadas no trabalho.

Ao querido professor e orientador, Silvio Moure Cicero, pela valiosa orientação e conhecimentos transmitidos. Muito obrigado pela atenção, compreensão e amizade.

Aos professores Júlio Marcos-Filho e Ana Dionísia da Luz Coelho Novembre, pelos ensinamentos e amizade.

A Universidade Federal de Lavras, em especial à professora Heloísa Oliveira dos Santos, pelos primeiros incentivos à pesquisa em tecnologia de sementes.

Aos queridos amigos e técnicos dos Laboratórios de análise de semente e de imagens, Helena e Francisco, pela amizade, conhecimentos e apoio. Obrigado por estarem sempre à disposição

A todos meus queridos amigos e funcionários do Laboratório, Adilson, João e Davi, pela amizade, conhecimento e apoio. Obrigado por estarem sempre à disposição.

A todos os queridos amigos e amigas, Ana Dognini, Aline, Beatriz, Bruna, Césia, Crislaine, Fábio, Haynna, Lucas, Luiz Felipe, Marcela, Maicon, Marcos, Nayara, Rayssa, Natália, Mayara, Bruno, Gabriela, Carina, Sibele, Danielle, Thaise, Adriano, Victor, Guilherme, Felipe, Renan, Débora, Danyllo, Netto, Thalita, Jérssica, Jackellyne, por todos os momentos especiais, pela amizade, apoio e compreensão.

A todos os amigos do Laboratório Multiusuário, ao Grupo de pesquisas Gfasp e a República Área 51, pela amizade.

Aos funcionários e amigos do departamento, Ananias, Kaká, Claudinho, Erreinaldo, Hodair, Luciane, Ticão, Juruna e Sílvia pelo apoio e amizade.

As bibliotecárias Silvia e Eliana, pela atenção e auxílio indispensável.

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

Muito obrigado!

Sumário

RESUMO	8
ABSTRACT	9
1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1. ALGODÃO NO BRASIL E NO MUNDO	13
2.2. QUALIDADE DE SEMENTES	14
2.3. ANÁLISE DE IMAGENS	16
3. MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1. AVALIAÇÃO DA MORFOLOGIA INTERNA DAS SEMENTES	19
3.1.1. Teor de água	19
3.1.2. Raios X	19
3.2. TESTES DE GERMINAÇÃO E DE VIGOR, INCLUINDO A ANÁLISE COMPUTADORIZADA DE PLÂNTULAS	20
3.2.1. Germinação e primeira contagem de germinação	20
3.2.2. Envelhecimento acelerado	21
3.2.3. Germinação em baixa temperatura	21
3.2.4. Emergência e índice de velocidade de emergência de plântulas em areia	21
3.2.5. Emergência de plântulas em campo	22
3.2.6. Análise computadorizada de plântulas	22
3.2.7. Análise estatística	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1. AVALIAÇÃO DA MORFOLOGIA INTERNA DAS SEMENTES	25
4.2. TESTES DE GERMINAÇÃO E DE VIGOR, INCLUINDO A ANÁLISE COMPUTADORIZADA DE PLÂNTULAS	34
4.2.1. Primeira época de avaliação	34
4.2.1.1. Teor de água, germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, germinação a baixa temperatura, emergência e índice de velocidade de emergência de plântulas em areia e emergência de plântulas em campo.	34

4.2.1.2. Avaliação do potencial fisiológico utilizando a análise de imagens (Seed Vigor Imaging System - SVIS [®]).....	36
4.2.2. Segunda época de avaliação.....	38
4.2.2.1. Teor de água, germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, germinação a baixa temperatura, emergência e índice de velocidade de emergência de plântulas em areia e emergência de plântulas em campo.....	38
4.2.2.2. Avaliação do potencial fisiológico utilizando a análise de imagens (Seed Vigor Imaging System - SVIS [®]).....	40
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
6. CONCLUSÕES	43
REFERÊNCIAS	45

RESUMO

Avaliação da morfologia interna e do vigor de sementes de algodão utilizando técnicas de análise de imagem

A avaliação da qualidade de sementes por meio de análise de imagens vem ganhando espaço no mercado sementeiro, devido a sua praticidade, objetividade e rapidez. Assim, o presente trabalho teve como objetivos estudar a utilização do teste de raios X em sementes de algodão do cultivar FM975WS, para avaliação da morfologia interna e a utilização da análise computadorizada de imagens de plântulas (SVIS®) e a sua relação com os testes tradicionais, para avaliação do vigor de sementes. O trabalho foi dividido em duas etapas. Na primeira etapa, foram utilizadas imagens radiográficas para avaliar possíveis danos mecânicos, danos por deterioração de tecidos e danos por malformação das sementes e sua relação com a germinação. Na outra etapa, foram utilizados os testes tradicionais para avaliação do vigor de sementes por meio dos testes de primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, germinação a baixa temperatura, emergência e índice de velocidade de emergência de plântulas em areia, emergência de plântulas em campo e a análise computadorizada de plântulas. Concluiu-se que a análise de imagens, utilizando o teste de raios X, é eficiente na avaliação da morfologia interna de sementes de algodão, com identificação de suas partes internas e na avaliação de danos causados nas sementes, entre eles, danos por deterioração de tecidos, danos por malformação da semente e danos mecânicos, os quais permitem relacionar a ocorrência dos mesmos com a germinação das sementes e que a utilização do SVIS®, como uma técnica de análise computadorizada de imagens de plântulas, é uma alternativa para avaliação do vigor de sementes de algodão.

Palavras chave: *Gossypium hirsutum* L.; Raios X; Potencial fisiológico; Análise computadorizada de plântulas

ABSTRACT

Evaluation of the internal morphology and vigor of cotton seeds using techniques of image analysis

The evaluation of the physiological quality of seeds by means of image analysis has been gaining space in the seed market due to its practicality, objectivity and speed. The objective of this study was to study the use of the X-ray test in cotton seeds of the cultivar FM975WS, to evaluate the internal morphology and the use of the computerized analysis of seedlings images (SVIS®) and its relation with the traditional tests to evaluate seed vigor. The work was divided into two stages. In the first stage, radiographic images were used to evaluate possible mechanical damages, damages due to deterioration of tissues and damages due to seed malformation and its relation with germination. In the other step, the traditional tests were used to evaluate the vigor of seeds by means of tests of first count of germination, accelerated aging, germination at low temperature, emergence and speed index of emergence of seedlings in sand, emergence of field seedlings and computerized analysis of seedlings. It is concluded that the image analysis, using the X-ray test, is efficient in the evaluation of the internal morphology of cotton seeds, with identification of its internal parts and in the evaluation of damages caused to the seeds, among them damages due to tissues deterioration, damage due to seed malformation and mechanical damages, which allow to relate their occurrence to the germination of the seeds and the use of SVIS®, as a technique of computerized analysis of seedlings images, is an alternative for evaluating the vigor of cotton seeds .

Keywords: *Gossypium hirsutum* L.; Physiological potential; X-Ray; Computerized analysis of seedlings

1. INTRODUÇÃO

A planta de algodão pode ser utilizada para diversos fins. A parte do algodoeiro mais utilizada é a pluma, de onde são retiradas as fibras. Em segundo lugar são utilizadas as sementes ou caroços. Delas são retirados o linter e a casca, utilizados na indústria, e a amêndoa que é utilizada para extração de óleo e produção da torta.

Com o crescimento da população e cada vez menos áreas para expansão agrícola, produtividades mais altas representam o principal objetivo nos programas de melhoramento. Porém, para se obter produtividades cada vez maiores é necessário que a semente seja de alta qualidade, e assim, permitir que ela expresse todo o seu potencial genético.

Para garantir que as sementes cheguem com alta qualidade até o produtor, é necessária uma série de etapas tanto agrícolas quanto de análises laboratoriais. Essa qualidade se refere ao somatório dos atributos físicos, fisiológicos, sanitários e genéticos.

O teste de germinação é um teste tradicional para avaliação da qualidade fisiológica de sementes, mas nem sempre os resultados obtidos reproduzem o potencial do lote em condições de campo, por este ser feito em condições controladas. Por esse motivo os testes de vigor estão sendo utilizados para possibilitar resultados que possam simular o potencial de emergência em campo sob diversas condições.

Atualmente, técnicas de análise computadorizada de imagens estão sendo utilizadas para avaliação da morfologia interna e do vigor de sementes. Essas análises são objetivas e demandam menor tempo.

O teste de raios X é uma técnica de análise de imagens para avaliação da morfologia interna. Essa técnica é vantajosa pelo fato de ser rápida e não destrutiva. Ela utiliza a radiação para avaliar a morfologia interna e como ela é não destrutiva, as sementes depois são utilizadas para comparar os resultados com outros testes.

O SVIS® (Seed Vigor Imaging System) é um software utilizado para processamento de imagens de plântulas utilizando índices de vigor como uniformidade e crescimento, além do comprimento da plântula. Essa técnica é vantajosa, pois é rápida e diminui o erro humano.

Diante do exposto, é evidente a possibilidade de utilização de técnicas de análise de imagens para avaliação da morfologia interna e da qualidade fisiológica. Assim, o presente trabalho teve como objetivos a utilização do teste de raios X em sementes de algodão do cultivar FM975WS, para avaliação da morfologia interna e identificação de danos mecânicos, sementes malformadas, tecidos deteriorados e danos causados por insetos, além da utilização da análise computadorizada de imagens de plântulas, por meio do software SVIS[®], e a sua relação com os testes tradicionalmente usados para avaliação do vigor de sementes.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Algodão no Brasil e no mundo

O algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) é da família Malvaceae, sendo considerada a mais importante fibra têxtil, pelo conforto dos itens confeccionados em comparação aos sintéticos. Além da fibra, o algodão possui alta concentração de óleo na semente ou caroço e em alguns países a folha é utilizada para alimentação animal. Pesquisadores indicam que o algodão tem uma origem no Velho Mundo e outra no Novo Mundo, podendo ser designado algodões asiáticos e algodões americanos, respectivamente (ABRAHÃO et al., 1982). Estão registradas 39 espécies de algodão e, a despeito de muitas não serem exploradas economicamente, apenas cinco espécies são utilizadas, representam valiosa fonte genética.

O algodoeiro é uma planta de clima tropical e possui sistema radicular típico das dicotiledôneas, isto é, raiz pivotante, podendo atingir mais de 2 metros de profundidade. As raízes secundárias aparecem entre 5 e 30 cm de profundidade e se ramificam abundantemente. O caule dos algodoeiros anuais apresenta-se com uma haste principal e ramos vegetativos e frutíferos. Suas flores são completas, pois possuem cálice, corola, androceu e gineceu e apresentam coloração clara. Os frutos são chamados de maçãs, quando ainda verdes, e capulhos, quando já abertos, possuindo de 3 a 5 lojas, cada uma com 6 a 10 sementes (ABRAHÃO et al., 1982).

A cotonicultura é uma atividade relevante, tanto do ponto de vista econômico quanto social. Presente em vários países, o algodão é resistente à seca e por isso representa uma opção de cultivo em regiões semi-áridas, em geral deprimidas e sem muitas alternativas para reter a população no meio rural e gerar emprego e renda. Além disso, é a mais importante fonte natural de fibras, podendo ter mais de 400 aplicações industriais, dentre as quais: confecção de fios para tecelagem (tecidos variados), algodão hidrófilo para enfermagem, confecção de feltro de cobertores e estofamentos e obtenção de celulose.

Até a década de 1980, o cultivo de algodão no Brasil era concentrado principalmente nas regiões Nordeste e Centro-Sul. A partir da década de 1990, a cultura migrou para a região do Cerrado e atualmente ocupa uma área superior a um

milhão de hectares, concentrada principalmente nos Estados de Mato Grosso, Bahia e Goiás.

Atualmente, o Brasil é o quinto maior produtor de algodão em pluma no mundo, estando atrás apenas de China, Índia, Estados Unidos e Paquistão. Na safra 2015/2016 a área ocupada por essa cultura foi de aproximadamente 954,7 mil hectares, significando redução de, aproximadamente, 3% em relação à safra anterior. Essa redução deve-se, principalmente, a crise sofrida pela economia brasileira, refletindo, assim, nos investimentos da indústria têxtil. Mato Grosso e Bahia, maiores Estados produtores de algodão do Brasil, tiveram queda de produção na última safra, porém, a previsão é de melhora de 8,1 a 14,8% para a safra 2016/2017 (CONAB, 2016).

O algodão e os produtos têxteis derivados desta fibra ocupam um papel relevante no comércio mundial. A demanda por estes produtos é crescente. Segundo a Associação Brasileira dos Produtores de Algodão (ABRAPA), a demanda mundial de algodão tem aumentado gradativamente desde a década de 1950, a um crescimento anual médio de 2%. Por esse motivo é necessário um aumento na produtividade mundial para suprimento do mercado.

2.2. Qualidade de sementes

A qualidade da semente é definida como o somatório dos atributos físicos, fisiológicos, genético e sanitário que podem garantir o potencial máximo produtivo da cultura, sempre aliada a outros fatores. Assim, para obtenção de sementes de alta qualidade é necessária a integração das etapas de produção, beneficiamento, armazenamento, análise e comercialização, além da forma de realizar e administrar todo o processo (Tillmann, 2006).

A alta qualidade da semente reflete diretamente no resultado final da cultura, em termos de ausência de moléstias (danos sofridos), do alto vigor das plantas, da maior produtividade e de uniformidade da população (BRACCINI et al., 1999; CARVALHO; NAKAGAWA, 2000; POPINIGIS, 1977).

Para a obtenção de produtividades mais altas é necessário um planejamento criterioso que envolve a escolha da variedade, necessidade de mão de obra, insumos e outras práticas agrícolas. Para garantir que todos esses fatores tenham sucesso é necessário que a semente seja de alta qualidade (Toledo; Marcos Filho, 1977).

A taxa de utilização de sementes de algodão no Brasil é de 57% (ABRASEM, 2014). O uso de semente de elevada qualidade permite o acesso aos avanços genéticos, com as garantias de qualidade e as tecnologias de adaptação nas diversas regiões, assegurando maiores produtividades (ABRASEM, 2014). Segundo Popinigis (1977) a utilização de sementes de alta qualidade proporciona a maximização dos fatores de produção e insumos. Delouche e Potts (1974) afirmaram que utilizando sementes de alta qualidade pode-se produzir de 10 a 20% mais do que aquelas de baixa qualidade, utilizando o mesmo cultivar e o mesmo número de plantas por área.

A deterioração de sementes é o processo pelo qual ocorre uma queda de um alto nível de qualidade para um baixo nível de qualidade (GOVE, 1965). O processo de deterioração se inicia no ponto de maturidade fisiológica, sendo, a partir dele, progressivo e irreversível, apenas podendo ser retardado. Além da queda do potencial fisiológico, com a redução do potencial germinativo, durante o período de armazenagem, a semente ainda tem seu vigor prejudicado com a redução da velocidade da germinação (Marcos Filho, 2005).

O teste de germinação é utilizado para se obter um valor máximo de germinação, porém nem sempre revela a real condição de campo, por ser realizado em condições controladas. A perda do potencial germinativo é a última etapa de deterioração (Toledo; Marcos Filho, 1977). Por esta razão houve a necessidade de criar outros testes para melhores informações sobre a real condição no campo (Castro, 2011).

Testes de vigor são utilizados com o intuito de classificar lotes com diferenças no desempenho durante o armazenamento ou na semeadura, destacando lotes com maior ou menor eficiência de estabelecimento em campo, sob diferentes condições. Vale ressaltar que os testes de vigor não foram criados para substituírem o teste de germinação e sim para complementar de maneira mais efetiva o potencial fisiológico das sementes (Marcos Filho et al. 2009).

Segundo a AOSA (1983) o vigor é definido como as propriedades da semente que determinam o potencial de emergência rápida e uniforme, com o crescimento de plântulas normais, sob ampla faixa de condições do ambiente. Em uma mesma linha de definição a ISTA (2006) definiu vigor como um índice do grau de deterioração fisiológico e, ou integridade física de um lote de sementes de alta

germinação, representando sua ampla habilidade de estabelecimento em diversas condições de ambiente.

Villiers (1973) concluiu que a velocidade reduzida de emergência é devido ao fato que antes do início do crescimento do eixo embrionário, as sementes de baixo vigor necessitam de um tempo para a restauração de organelas e tecidos danificados.

Os testes de vigor têm como objetivos básicos detectar diferenças significativas na qualidade fisiológica de lotes com alta germinação e separá-los em diferentes níveis de vigor de maneira proporcional a emergência em campo, resistência ao transporte e potencial de armazenamento (MARCOS FILHO, 2005; PESKE; LUCCA FILHO; BARROS, 2006)

A escolha do método de avaliação do vigor deve observar o atendimento dos quesitos rapidez, objetividade, simplicidade, economia e reprodutibilidade, além de permitir a interseção dos dados obtidos em diferentes testes (CALIARI; SILVA, 2001). Entretanto, na padronização dos testes de vigor são encontradas certas dificuldades, tendo em vista que o vigor pode ser refletido por intermédio de várias características como velocidade de germinação, uniformidade de emergência de plântulas, resistência ao frio entre outras (PÁDUA, 1998).

A análise da qualidade fisiológica de sementes deve ser vista como uma atividade dinâmica, que apresente evolução constante, tanto pelo aprimoramento dos meios disponíveis para avaliação da qualidade de sementes como pela incorporação de novos métodos (NOVEMBRE, 2001).

Atualmente, o uso de imagens radiográficas de sementes e análise computadorizada de sementes e plântulas têm possibilitado avanços na avaliação da qualidade física e fisiológica de sementes e plântulas. Tendo em vista que a inclusão de novas abordagens depende diretamente da pesquisa, a análise de imagens é uma recente alternativa para auxiliar o entendimento de diversos aspectos do desenvolvimento das sementes, permitindo o estabelecimento de relações entre a morfologia interna e o potencial fisiológico de um lote de sementes (MARCOS FILHO et al., 2010).

2.3. Análise de imagens

A análise de imagens evoluiu como um recurso tecnológico para a avaliação de características individuais das sementes, de maneira quantificável, em que as

imagens geralmente são captadas, registradas e processadas em computador, com auxílio de softwares específicos (MARCOS FILHO, 2015).

A utilização de técnicas que exibem como característica uma rápida resposta referente à qualidade fisiológica das sementes, métodos não destrutivos das amostras, possibilitando a posterior utilização das sementes, além de metodologias de simples execução e reprodução é crescente e tem contribuído para melhorar os métodos tradicionalmente utilizados. As análises de imagens radiográficas de sementes e imagens computadorizadas de plântulas apresentam-se eficientes na determinação da qualidade fisiológicas de várias espécies.

A avaliação da morfologia interna é um dos requisitos básicos para identificação de problemas associados com o potencial fisiológico de sementes. Para algumas espécies, como a soja e o milho, o conhecimento sobre a morfologia interna das sementes proporciona eficiente apoio aos programas de controle de qualidade (Gomes Junior, 2010).

Nós últimos anos, estudos têm sido dirigidos para a avaliação da morfologia interna de sementes com técnicas de análise de imagens (Gomes Junior, 2010). Segundo Marcos Filho (2010), o uso de imagens radiografadas de sementes e análise computadorizada de imagens de plântulas tem possibilitado avanços na avaliação da qualidade fisiológica de sementes e de plântulas. Tendo em vista que a inclusão de novas abordagens depende diretamente da pesquisa, a análise de imagens é uma recente alternativa para auxiliar o entendimento de diversos aspectos do desenvolvimento das sementes, permitindo estabelecer relações entre a morfologia interna e o seu potencial fisiológico.

O teste de raios X proporciona um estudo rápido e eficiente da morfologia interna da semente. Este método é vantajoso pelo fato de não comprometer a viabilidade das sementes utilizadas, devido à baixa radiação utilizada, possibilitando testes posteriores com as mesmas sementes (Bino et al., 1993; ISTA, 1995). O método de raios X já foi utilizado para sementes de milho (Cícero et al, 1998; Cícero; Banzatto Junior, 2003), soja (Flor et al., 2004), pimenta (Dell' Aquila et al., 2007), mamão (Santos et al., 2009), pinhão-manso (Pinto et al., 2009), arroz (Menezes et al., 2012), entre outras espécies. Para sementes de algodão, o assunto ainda não foi abordado de maneira consistente.

Em relação à análise de imagens de plântulas, McCormac et al. (1990) foram um dos primeiros a utilizarem a referida técnica, determinando o comprimento

da raiz primária de plântulas de alface e de cenoura. Posteriormente, Sako et al. (2001) propuseram um método automatizado para avaliação do vigor de sementes de alface, por meio da captura de imagens de plântulas e determinação do comprimento do hipocótilo, da raiz primária, da plântula toda e da relação raiz\hipocótilo. A técnica envolve o uso do software “Seed Vigor Imaging System[®]” (SVIS), desenvolvido na Ohio State University, para o processamento das imagens. As imagens processadas fornecem índices de vigor, de uniformidade e de crescimento de plântulas, além do comprimento de plântulas.

O SVIS[®] é um software para avaliação do vigor de sementes no qual é possível obter resultados rápidos e de forma simples. O tempo necessário para obter um índice de vigor realizado manualmente, a partir de plântulas com 3 dias, é bem maior do que o tempo necessário para gerar os mesmos índices a partir de imagens computadorizadas (HOFFMASTER et al., 2005). De acordo com Gomes Junior et al. (2009), os resultados para uma amostra de 50 sementes podem ser obtidos em dois a três minutos. Outras vantagens desse sistema é a eliminação do erro humano, aumento da confiabilidade dos dados para fins de comparação e a possibilidade de arquivamento das imagens para posterior análise.

Após modificações e adaptações feitas por HOFFMASTER et al. (2003), o software SVIS[®] foi utilizado com sucesso para avaliação do vigor de sementes de soja. Assim, é possível utilizar a análise de imagens de plântulas em programas de controle de qualidade de sementes de melão (Marcos Filho, 2006), pepino (Chiquito et al., 2012), milho super doce (Alvarenga et al., 2012), quiabo (Kikuti et al., 2013), crotalária (Silva et al., 2012), tomate (Silva et al., 2014), feijão (Gomes Junior et al., 2014), pimentão (Dias et al., 2014), soja (Wendt et al., 2014), berinjela (Silva et al., 2014), entre outras. Alvarenga et al. (2014) obtiveram sucesso utilizando o SVIS[®] para identificar diferenças no vigor de sementes de algodão durante o armazenamento.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos experimentais foram desenvolvidos nos Laboratórios de Análise de Sementes e de Análise de Imagens do Departamento de Produção Vegetal, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) da Universidade de São Paulo (USP), em Piracicaba, São Paulo.

Foram utilizadas sementes de algodão do cultivar FM975WS, provenientes de dez lotes. As sementes foram cedidas pela empresa Bayer CropScience, sendo que estas haviam sido tratadas, pela mesma, com o inseticida CropStar® (Imidacloprido e Tiodicarbe) e os fungicidas Dynasty® (Azoxistrobina, Metalaxil-M e Fludioxonil), Monceren 250 SC® (Pencicurom) e Baytan SC® (Triadimenol) nas dosagens comercialmente utilizadas para sementes de algodão. Foram também utilizados um polímero (Peridiam®) e um pó secante (Talkum Gloss®) para revestimento das sementes.

O teste de germinação, os testes tradicionais de vigor e a análise computadorizada de plântulas (SVIS®) foram realizados em duas épocas distintas, espaçadas de seis meses. A avaliação da morfologia interna das sementes (raios X) foi realizada no início da primeira época, junto aos demais testes.

3.1. Avaliação da morfologia interna das sementes

3.1.1. Teor de água

O teor de água foi determinado em estufa a $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$, durante 24 horas, com duas repetições de, aproximadamente, 4 g para cada lote, segundo as recomendações das Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009), sendo os resultados expressos em porcentagem (base úmida).

3.1.2. Raios X

As análises relativas a morfologia interna das sementes foram realizadas utilizando dez repetições de 20 sementes para cada lote. As sementes foram fixadas em fita adesiva dupla face em uma folha de acetato, ambas transparentes, e numeradas de acordo com a posição na folha, para futura identificação nos testes subsequentes. As imagens radiográficas foram realizadas em um equipamento digital “Faxitron X-Ray”, modelo MX-20 DC-12, a uma distância de 28,6 cm da fonte

de emissão de raios X, acoplado a um computador Core 2 Duo (3,16 GHz, 2 GB de memória RAM, Hard Disk de 160 GB) e monitor MultiSync (LCD1990SX de 17 polegadas). Depois de radiografadas, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, de modo que elas permanecessem na mesma ordem de identificação feita durante a radiografia. As sementes foram distribuídas no terço superior do papel germitest, em duas fileiras, de 10 sementes cada, para que cada semente se desenvolvesse de forma individualizada.

Após quatro dias em germinador, a 25 °C, as plântulas (normais e anormais) e as sementes mortas foram fotografadas utilizando uma câmera Nikon, modelo D1, acoplada a um computador Pentium 4 (3.0 GHz, 1 GB de memória RAM, Hard Disk de 160 GB e um monitor de 21 polegadas. Das sementes identificadas com danos mecânicos e tecidos deteriorados foi avaliado o local de ocorrência dos danos, sendo separados em dano no eixo embrionário, dano nos cotilédones e dano no tegumento; além dos referidos danos, avaliou-se também a má formação das sementes. Também foi calculada a porcentagem de plântulas normais, anormais e sementes mortas provenientes das sementes em análise.

Os resultados foram analisados de forma comparativa, procurando relacionar os danos e sua localização com as possíveis anormalidades das plântulas e sementes mortas.

3.2. Testes de germinação e de vigor, incluindo a análise computadorizada de plântulas

3.2.1. Germinação e primeira contagem de germinação

O teste de germinação foi realizado com quatro repetições de 50 sementes de cada lote, em rolo de papel germitest, umedecido na proporção de 2,5 mL de água por 1 g de substrato, mantido em germinador a temperatura constante de 25°C. A primeira contagem de germinação foi realizada no quarto dia e a contagem final no décimo segundo dia, computando, assim, a porcentagem de plântulas normais, segundo Brasil (2009).

3.2.2. Envelhecimento acelerado

O teste de envelhecimento acelerado foi realizado utilizando-se caixas de plástico (11,0 x 11,0 x 3,0 cm) como compartimentos individuais (minicâmaras), possuindo suporte em seu interior para apoio de uma tela metálica, onde as sementes foram distribuídas em uma camada simples. No interior das caixas plásticas, abaixo da tela metálica, foram colocados 40 mL de água. As caixas foram tampadas e colocadas em câmara de envelhecimento (B.O.D.) a 41 °C, durante 48 horas (Miguel et al., 2001). Após esse período, foi realizado o teste de germinação, conforme o item 3.2, e a avaliação feita no quarto dia após a semeadura. Foi determinado também o teor de água das sementes, conforme o item 3.1, logo após a retirada da câmara de envelhecimento, visando verificar a homogeneidade do teor de água dos lotes.

3.2.3. Germinação em baixa temperatura

O teste de germinação em baixa temperatura foi conduzido com o mesmo procedimento descrito no item 3.2, sendo os rolos de papel germitest colocados dentro de sacos plásticos e mantidos em câmara B.O.D. a 18 °C. A avaliação foi feita aos sete dias após semeadura, computando-se como plântulas normais as que obtiveram eixo raiz-hipocótilo maior ou igual a 4 cm (BAALBAKI, et al., 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

3.2.4. Emergência e índice de velocidade de emergência de plântulas em areia

Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes de cada lote, distribuídas na superfície de uma camada de 6 cm de areia, textura média, colocada em caixas plásticas (32 x 28 x 10 cm). Após semeadura, a cobertura foi efetuada com uma camada de 3 cm de areia e umedecida com 60% da capacidade de retenção e as caixas foram colocadas em casa de vegetação. As avaliações foram feitas diariamente, registrando-se o número de plântulas emersas para cada lote até o décimo quarto dia após semeadura, quando foi determinada a porcentagem média de emergência de plântulas para cada lote. Para obtenção da velocidade de emergência de plântulas, calculou-se o índice de acordo com a equação proposta por Maguire (1962).

$$IVE = \frac{N1}{D1} + \frac{N2}{D2} + \dots + \frac{Nn}{Dn}$$

em que:

IVE – índice de velocidade de emergência de plântulas;

N1, N2, ..., Nn – número de plântulas emersas na primeira, segunda e até última contagem, respectivamente;

D1, D2, ..., Dn – número de dias desde a primeira, segunda, até a última contagem.

3.2.5. Emergência de plântulas em campo

O teste de emergência de plântulas em campo foi realizado com quatro repetições de 50 sementes de cada lote, distribuídas de maneira equidistante em linhas de 2 m, com cerca de 3 cm de profundidade e cobertas com 3 cm de terra. O espaçamento entre linhas foi de 0,5 m. A avaliação foi feita no décimo quarto dia após semeadura, na qual foram computadas as plântulas emergidas. O critério utilizado para a contagem das plântulas foi a completa expansão das folhas cotiledonares. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas emersas para cada lote (NAKAGAWA, 1999).

3.2.6. Análise computadorizada de plântulas

As sementes foram distribuídas no terço superior do papel germintest. Foram utilizadas 200 sementes, divididas em dez repetições com vinte sementes cada, em duas fileiras. Os rolos foram mantidos em germinador, em escuro, em temperatura constante de 25 °C. A avaliação foi realizada no terceiro dia após semeadura. Em seguida, todas as plântulas e sementes não germinadas foram transferidas para uma folha de coloração preta, para evidenciar as características das plântulas nas imagens. As plântulas foram escaneadas em um scanner HP Scanjet 2410®, disposto de maneira invertida no interior de uma caixa de alumínio (60 x 50 x 12 cm) e operado por software Photosmart®, com resolução de 100dpi. As imagens foram analisadas com o uso do software Seed Vigor Imaging System

(SVIS[®]), obtendo-se valores médios do índice de vigor, índice de uniformidade de desenvolvimento e comprimento de plântula para cada lote (HOFFMASTER et al., 2005).

3.2.7. Análise estatística

O delineamento experimental utilizado para os testes de germinação, testes tracionais de vigor e análise computadorizada de plântulas (SVIS[®]) foi o inteiramente casualizado e para o teste de emergência de plântulas em campo foi adotado o delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições. Os dados obtidos foram submetidos a análise da variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. Para a realização da análise estatística foi utilizado o programa SISVAR[®] (FERREIRA, 2000). A análise estatística dos dados foi realizada separadamente para cada época.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Avaliação da morfologia interna das sementes

O teor de água das sementes variou de 6,7 a 7,4% (Tabela 1), sendo que estes valores se mostraram adequados para visualização do eixo embrionário, cotilédones e do tegumento das sementes (Figura 1). Segundo Simak (1991), o teor de água das sementes influencia diretamente na densidade ótica, pois quanto menor o teor de água, maior a densidade ótica, o que possibilita melhor visualização das partes internas das sementes.

Por outro lado, em sementes de pimentão, relativamente secas (6% de água), não foi possível uma nítida visualização das partes internas da semente pelo teste de raios X, sendo que, em geral, elas foram melhores visualizadas com 12% de água (Gagliardi e Marcos Filho, 2011).

Tabela 1. Teor de água (%) das sementes de algodão do cultivar FM975WS

Lotes	Teor de água (%)
L2	7,0
L3	7,4
L4	7,3
L6	6,9
L7	7,1
L8	6,7
L9	6,9
L10	7,0
L11	6,7
L13	7,0

Na Tabela 2, é possível visualizar a porcentagem de danos encontrados nas sementes, além das regiões de ocorrência dos danos. Estão apresentados, também, a porcentagem de plântulas normais, anormais e de sementes mortas dos lotes em estudo.

As sementes do cultivar FM975WS são transgênicas (tecnologia WideStrike) e possuem as proteínas Cry1Ac + Cry1F, que são responsáveis pelo controle das principais lagartas do algodoeiro. Por esse fato, os danos causados por insetos foram nulos, confirmando a eficiência da tecnologia WideStrike.

Tabela 2. Danos mecânicos ocorridos no eixo embrionário (Ex), nos cotilédones (Co) e no tegumento (Tg), danos por deterioração de tecidos no eixo embrionário (Ex) e nos cotilédones (Co) e danos por malformação da semente e suas respectivas plântulas normais (PN), plântulas anormais (PA) e sementes mortas (SM), para os dez lotes de semente de algodão, do cultivar FM975WS.

Lotes	Danos								
	Mecânicos			Deterioração		Malformação	PN	PA	SM
	Ex	Co	Tg	Ex	Co	-			
	----- % -----								
L2	1,0	5,0	0,0	3,5	2,0	1,0	55	41	4
L3	1,0	3,5	0,5	3,5	3,0	1,5	47	47	6
L4	1,0	2,5	0,0	3,5	2,0	0,5	46	46	8
L6	1,5	4,0	0,5	2,0	2,0	0,5	32	47	21
L7	1,0	3,0	0,0	1,5	0,5	0,5	58	42	0
L8	1,0	2,5	1,5	4,0	0,5	0,5	16	52	32
L9	1,0	0,5	0,5	2,5	1,5	1,5	53	31	16
L10	1,0	2,5	0,5	3,0	0,5	1,0	53	29	18
L11	0,5	1,0	0,0	4,5	0,5	2,5	63	31	6
L13	0,5	1,0	0,5	9,5	1,0	1,5	31	46	23

Na tabela 2, pode-se observar que todos os lotes avaliados apresentaram valores semelhantes de danos mecânicos no eixo embrionário, sendo que a diferença máxima entre os lotes foi de 1,0%. Já para os danos mecânicos nos cotilédones, o lote 2 apresentou a maior porcentagem (5,0%) e o lote 9 a menor (0,5%). Por outro lado, os danos mecânicos observados no tegumento variaram de zero (lotes 2, 4, 7 e 11) a 1,5% (lote 8).

Com relação aos danos por deterioração de tecidos, o lote 7 foi o que apresentou a menor porcentagem na região do eixo embrionário (1,5%), enquanto o lote 13 a maior (9,5%). Os tecidos deteriorados nos cotilédones, de modo geral, apresentaram baixa porcentagem de danos, sendo que o lote 3 foi identificado como o de maior ocorrência (3,0%), enquanto os lotes 7, 8, 10 e 11 os de menor ocorrência (0,5%) (Tabela 2).

Os danos por malformação das sementes e danos mecânicos no tegumento, em geral, apresentaram baixa incidência, sendo que os maiores valores foram observados para o lote 11 (2,5%) e lote 8 (1,5%), respectivamente (Tabela 2).

O lote 13 apresentou a maior porcentagem de danos mecânicos e danos por deterioração de tecidos na região do eixo embrionário (10,0%), além de apresentar, também, 1,5% de sementes malformadas; como consequência, apresentou baixa porcentagem de plântulas normais (31%) e altas porcentagens de plântulas anormais (46%) e de sementes mortas (23%). Já o lote 7, apresentou a menor totalidade de danos no eixo embrionário (2,5%) e uma das maiores porcentagens de plântulas normais (58%) (Tabela 2).

Comportamento inesperado ocorreu em determinados lotes, que mesmo com porcentagem mais baixa de danos mecânicos e por deterioração de tecidos na região do eixo embrionário, apresentaram baixas porcentagens de plântulas normais como, por exemplo, o lote 6. Por outro lado, o lote 11 mesmo com porcentagem relativamente elevada de danos na região do eixo embrionário (5,0%) quando comparado ao lote 6 (3,5%), observou-se porcentagem mais elevada de plântulas normais (63%).

Em alguns lotes a porcentagem de danos na região do embrião foi semelhante, como para os lotes 6 e 9 (3,5%), e para os lotes 8 e 11 (5,0%); entretanto, verificou-se diferença relativamente elevada na porcentagem de plântulas normais entre esses lotes.

Para alguns lotes, resultados não conclusivos podem ser observados, tendo em vista que a germinação pode ser afetada por diversos fatores, além daqueles observados na presente pesquisa.

Os lotes 2, 3, 4, 9 e 10 apresentam comportamento semelhante, tendo em vista que a porcentagem de danos no eixo embrionário variou de 3,5 a 4,5% e a porcentagem de plântulas normais foi em torno de 50%, caracterizando-os como de comportamento intermediário.

As sementes que apresentam danos na região do eixo embrionário, na maioria das vezes, resultam em plântulas anormais ou sementes mortas, o que geralmente não ocorre quando os danos ocorrem em outras partes das sementes. Essa constatação também foi observada por Mondo e Cicero (2005) em sementes de milho e por Arruda et al. (2016) em sementes de crotalária.

O teste de raios X caracteriza-se como teste físico, e desta forma, nem sempre é capaz de revelar todos os problemas de qualidade das sementes. Segundo Burg Van Der et al. (1994), algumas sementes que apresentam aspecto normal no teste de raios X, podem ter problemas na germinação, apresentando plântulas anormais ou semente não germinadas, possivelmente por contaminação por microrganismos ou por estarem fisiologicamente comprometidas.

De acordo com a Figura 1 é possível observar a morfologia interna das sementes de algodão, onde são evidenciadas as suas principais partes, como tegumento, cotilédones e eixo embrionário.

Figura 1. Identificação das partes da semente de algodão: tegumento (tg), cotilédones (ct) e eixo embrionário (ex).

Na Figura 2a, é possível observar uma semente de algodão bem formada e sem nenhum tipo de dano. A plântula originada a partir dessa semente foi considerada normal, pois suas partes essenciais como raiz primária e parte aérea estão bem desenvolvidas (Figura 2b).

Figura 2. Imagem radiográfica de uma semente de algodão bem formada e sem nenhum tipo de dano (a), originando uma plântula normal (b).

Na Figura 3a, é possível observar que ocorreu dano mecânico em parte do eixo embrionário e em parte dos cotilédones. A plântula originada a partir desta semente foi considerada anormal devido à malformação de sua raiz (Figura 3b).

Figura 3. Imagem radiográfica de uma semente de algodão, apresentando dano mecânico na região do eixo embrionário e dos cotilédones (a), originando uma plântula anormal (b).

Na Figura 4a pode-se observar dano mecânico no tegumento e tecidos deteriorados nos cotilédones e no eixo embrionário. Esses danos não impediram a germinação da semente, porém originaram uma plântula anormal (Figura 4b).

Figura 4. Imagem radiográfica de uma semente de algodão, apresentando dano mecânico no tegumento e tecido deteriorado nos cotilédones (a), originando uma plântula anormal (b).

Dano por malformação pode ser observado na Figura 5a, cujo embrião teve sua formação insipiente, resultando em semente morta (Figura 5b).

Figura 5. Imagem radiográfica de uma semente de algodão, apresentando dano por malformação (a), originando uma semente morta (b).

O teste de raios X também foi eficiente em detectar danos em sementes de aroeira branca (Machado; Cicero, 2003), canafístula (Oliveira et al., 2003), Ipê (Oliveira et al., 2004), milho (Mondo; Cicero, 2005), acerola (Nassif; Cicero, 2006), pimentão (Dell'aquila, 2007), embaúba (Pupim, 2008), ipê-de-jardim (Sokolowski; Cicero, 2008), pinhão manso (Pinto et al., 2009), arnica (Melo et al., 2009), feijão (Mondo, et al., 2009), espécies florestais de Lauraceae (Carvalho et al., 2009a), abóbora (Carvalho et al., 2009b; Silva et al., 2014), alface (Kikuti; Marcos-Filho, 2010), mamona (Carvalho et al., 2010), feijão caupi (Forti et al., 2008; Melo et al., 2010), arroz (Menezes et al., 2012; Silva et al., 2014), milho doce (Gomes-Junior; Cicero, 2012), soja (Forti et al., 2010; Pinto et al., 2007; Pinto et al., 2009; Wendt et al., 2014), crotalária (Arruda et al., 2016) e sorgo (Javorski, 2016).

4.2. Testes de germinação e de vigor, incluindo a análise computadorizada de plântulas

4.2.1. Primeira época de avaliação

4.2.1.1. Teor de água, germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, germinação a baixa temperatura, emergência e índice de velocidade de emergência de plântulas em areia e emergência de plântulas em campo.

Na Tabela 3, estão os resultados de todos os testes tradicionais realizados para avaliação do potencial fisiológico de sementes, para primeira época de avaliação.

As sementes apresentaram teor de água inicial entre 6,7 e 7,4% e após o envelhecimento acelerado esse valor variou entre 19,1 e 21,9%. Dessa forma, o teor de água não deve ter afetado o comportamento das sementes durante a condução dos testes, pois as variações estavam dentro dos limites toleráveis (Marcos Filho, 1999a).

Avaliando-se os resultados de germinação, os lotes foram separados, estatisticamente, em quatro categorias (Tabela 3). Os lotes 2, 3, 4 e 7 foram os que apresentaram maior porcentagem de plântulas normais e o lote 9 foi o que apresentou a menor porcentagem. Levando-se em consideração que o padrão para comercialização de sementes de algodão é de 75%, os lotes 9 e 11 já não seriam considerados sementes.

Para o teste de primeira contagem de germinação, observou-se diferença significativa entre os lotes seguindo a mesma sequência do teste de germinação (Tabela 3). Os lotes que obtiveram os melhores percentuais mostraram-se de alto desempenho, em ambiente com condições controladas favoráveis, o que dificultou a separação em diferentes níveis de vigor. Este teste baseia-se no princípio de que lotes com maiores porcentagens de plântulas normais no quarto dia de germinação são mais vigorosas. É um teste rápido e importante já que a uniformidade e a velocidade de emergência de plântulas são os mais importantes componentes dentro do conceito atual de vigor de sementes (WILLYDER, 2010).

Reconhecido como um dos testes mais populares para avaliação do vigor de sementes de várias espécies, o teste de envelhecimento acelerado é um teste de

resistência a estresse. Após o teste de envelhecimento acelerado, observou-se que os lotes 2, 3, 4 e 7 (Tabela 3) permaneceram sendo os de melhor desempenho, incluindo-se o 6, enquanto os lotes 8, 11 e 13 juntaram-se ao 9 como os de pior desempenho. Esse teste possui alta eficiência na estratificação de lotes de sementes de algodão, o que também foi verificado por Torres (1998), Freitas et al. (2000) e Alvarenga (2013).

Outro teste de vigor muito utilizado para sementes de algodão é o teste de germinação a baixa temperatura (18° C). Nesse teste, os lotes 2, 3, 4, 6 e 7 mostraram as maiores porcentagens de plântulas normais, o lote 8 valor intermediário, e os lotes 9, 10, 11 e 13 as menores porcentagens (Tabela 3). Assim, estes resultados estão em concordância com os resultados dos testes de primeira contagem de germinação e envelhecimento acelerado.

Não foram observadas diferenças significativas no teste de emergência de plântulas em areia (Tabela 3). Porém, no índice de velocidade de emergência de plântulas houve diferença significativa entre os lotes de sementes; seguindo o mesmo padrão dos demais testes, os lotes 2, 3, 4, 6 e 7 apresentaram maior vigor e os lotes 8, 9, 10, 11 e 13 menor vigor (Tabela 3).

Embora as condições do ambiente tenham sido favoráveis, foi novamente possível separar os lotes em dois grupos, ressaltando-se que os lotes 2, 3, 4, 6 e 7 foram os que obtiveram maior porcentagem de plântulas emergidas em campo e os lotes 8, 9, 10, 11 e 13 menores porcentagens (Tabela 3).

Sendo assim, em todos os testes de vigor observou-se correlação entre eles. Os lotes 2, 3, 4, 6 e 7 mostraram melhor desempenho, sendo que o lote 6 foi intermediário nos testes de germinação e primeira contagem de germinação. Os lotes 8, 9, 10, 11 e 13 apresentaram algumas diferenças entre os testes de vigor utilizados, mas sempre com resultados inferiores aos demais lotes.

Tabela 3. Resultados de teor de água (TA), germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), teor de água após envelhecimento acelerado (TA EA), germinação a baixa temperatura (GBT), emergência de plântulas em areia (EPA), emergência de plântulas em campo (EPC) e índice de velocidade de emergência de plântulas em areia (IVE).

Lotes	TA	G	PCG	TA. EA	EA	GBT	EPA	EPC	IVE
-----%-----									
L2	7,0	92a	87a	19,5	88a	81a	94a	91a	8,77a
L3	7,4	87a	85a	21,4	91a	82a	94a	91a	8,83a
L4	7,3	89a	89a	20,1	85a	86a	94a	91a	8,69a
L6	6,9	85b	73b	20,2	80a	84a	97a	90a	9,13a
L7	7,1	92a	84a	21,0	85a	88a	95a	89a	8,89a
L8	6,7	81b	77b	20,1	42c	61b	90a	86b	8,38b
L9	6,9	63d	54d	21,3	41c	46c	88a	84b	8,16b
L10	7,0	81b	75b	19,1	55b	43c	92a	84b	8,46b
L11	6,7	72c	65c	20,6	47c	37c	90a	81b	8,08b
L13	7,0	78b	76b	21,9	42c	41c	92a	84b	8,40b

*Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$)

É importante ressaltar que, apesar de ser possível observar relação entre os testes de vigor utilizados, cada um deles analisa diferentes aspectos relacionados ao vigor de sementes e nem sempre os lotes apresentam a mesma ordem qualitativa em todos os testes (MARCOS-FILHO, 2009), ou seja, as informações obtidas podem ser distintas entre si (GRABE, 1976; MARCOS-FILHO et al., 1984). À medida que se aumenta o número de testes e lotes, a interpretação dos mesmos se torna mais difícil (MARTINS; SILVA, 2005).

4.2.1.2. Avaliação do potencial fisiológico utilizando a análise de imagens (Seed Vigor Imaging System - SVIS®)

Na Tabela 4, encontram-se os resultados por meio da utilização do software SVIS® em plântulas, aos três dias após semeadura. Pode-se observar que houve comportamento estatístico diferente entre os lotes analisados.

Tabela 4. Resultados de comprimento de plântulas (CP), índices de vigor (IV) e índice de uniformidade de desenvolvimento plântulas (IU) aos três dias de germinação dos dez lotes de sementes de algodão, na primeira época de avaliação.

Lotes	SVIS [®]		
	CP (cm)	IV	IU
L2	6,8b	751c	886a
L3	6,8b	753c	898a
L4	6,4b	837b	893a
L6	6,4b	854b	884a
L7	7,3a	919a	901a
L8	4,7c	697d	873b
L9	4,1d	727d	858b
L10	4,3d	661d	859b
L11	4,7c	693d	881a
L13	4,9c	727c	877b
CV (%)	9,89	6,07	3,64

*Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-knott ($p \leq 0,05$)

Quanto ao comprimento de plântulas, o lote 7 apresentou o melhor resultado, seguido dos lotes 2, 3, 4, 6 e 8, 11, 13, enquanto os lotes 9 e 10 mostraram os menores comprimentos de plântulas. Em comparação aos testes fisiológicos tradicionais, o lote 7 apresentou melhor desempenho em todos os testes. Já para o lote 9, os resultados dos testes tradicionais revelaram o pior desempenho para quase todos os testes (Tabela 4). É importante ressaltar que o comprimento de plântulas é mais sensível para classificar lotes com diferenças sutis de qualidade fisiológica, em comparação com a forma tradicional de considerar o número de plântulas normais no final do teste, como afirmam Guedes et al. (2009) e Vanzolini et al. (2007).

Para o índice de vigor, o lote 7 também apresentou o melhor desempenho, assim como observado no comprimento de plântulas. Os lotes 4, 6 e 2, 3 e 13 apresentaram valores intermediários. O pior desempenho foi constatado para os lotes 8, 9, 10 e 11 (Tabela 4).

O índice de uniformidade de desenvolvimento de plântulas (Tabela 4) possibilitou a separação em dois grupos, sendo menos eficiente na estratificação dos lotes. O teste de emergência de plântulas em campo e o índice de velocidade de emergência de plântulas apresentaram comportamento semelhante ao índice de uniformidade de plântulas. O índice de uniformidade de plântulas é um parâmetro importante para determinação do vigor de sementes, pois ele avalia a capacidade das plântulas se desenvolverem de maneira uniforme (MARCOS-FILHO; KIKUTI;

LIMA, 2009), sendo esse fator altamente desejável para obtenção de estandes uniformes no campo, um dos principais fatores responsáveis para atingir o potencial produtivo da cultura.

4.2.2. Segunda época de avaliação

4.2.2.1. Teor de água, germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, germinação a baixa temperatura, emergência e índice de velocidade de emergência de plântulas em areia e emergência de plântulas em campo.

Na Tabela 5, estão apresentados todos os dados das avaliações do potencial fisiológico dos dez lotes de sementes obtidos na segunda época. O teor de água das sementes variou de 6,8 a 6,2% e após o envelhecimento acelerado o teor de água variou de 17,7 a 20,1%. Assim como na primeira época de avaliação, o teor de água dos lotes foi semelhante, possibilitando maior confiabilidade nos dados.

Para o teste de germinação, os lotes foram separados, estatisticamente em três grupos. Os lotes 2, 3, 4, 6 e 7 apresentaram maior porcentagem de plântulas normais. O lote 11 foi o de menor porcentagem, enquanto os lotes 8, 9, 10 e 13 apresentaram comportamento intermediário (Tabela 5). Levando-se em consideração que o padrão para comercialização de sementes de algodão é de 75%, apenas os lotes 2, 3, 4, 6 e 7 poderiam ser comercializados como sementes.

Para todos os testes de vigor realizados, observou-se diferenças significativas entre os lotes. De maneira geral, estas informações foram semelhantes às obtidas na primeira época de avaliação (Tabela 3).

Tabela 5. Resultados de teor de água (TA), germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), teor de água após envelhecimento acelerado (TA EA), germinação a baixa temperatura, emergência de plântulas em areia (EPA), emergência de plântulas em campo (EPC) e índice de velocidade de emergência de plântulas em areia (IVE).

Lotes	TA	G	PCG	TA. EA	EA	GBT	EPA	EPC	IVE
-----%-----									
L2	6,5	84a	71a	18,0	79a	77a	88a	64a	6,65a
L3	6,5	84a	74a	19,1	81a	78a	86a	65a	6,19a
L4	6,2	86a	81a	19,9	66b	77a	87a	64a	6,36a
L6	6,6	87a	69a	18,6	72b	67b	88a	64a	6,38a
L7	6,3	89a	73a	19,9	80a	65b	91a	56a	6,41a
L8	6,2	68b	57b	20,1	37c	15d	85a	35b	5,63b
L9	6,8	72b	46c	17,7	39c	34c	73b	40b	4,99b
L10	6,7	73b	56b	18,4	35c	43c	79b	37b	5,40b
L11	6,6	60c	45c	18,8	25d	37c	76b	35b	5,70b
L13	6,5	70b	48c	19,3	30d	33c	78b	36b	5,39b

*Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-knott ($p \leq 0,05$)

No teste de primeira contagem de germinação, os resultados seguiram a mesma estratificação do teste de germinação, a exceção do lote 9 (Tabela 5), que apresentou porcentagem de plântulas normais intermediária no teste de germinação e foi um dos que apresentou menor porcentagem de plântulas normais na primeira contagem de germinação.

Para o teste de envelhecimento acelerado os lotes 2, 3, e 7 apresentaram maiores porcentagens de plântulas normais, enquanto os lotes 11 e 13 as menores porcentagens (Tabela 5). Os lotes 4 e 6 foram inferiores aos lotes 2, 3, e 7 e superiores aos lotes 8, 9 e 10.

No teste de germinação a baixa temperatura, os lotes 2, 3 e 4 apresentaram melhor desempenho e o lote 8 o pior desempenho; os demais lotes obtiveram comportamento intermediário (Tabela 5).

Para o índice de velocidade de emergência de plântulas e os testes de emergência de plântulas em areia e emergência de plântulas em campo, a classificação dos lotes foi praticamente a mesma, a exceção do lote 8, no teste de emergência de plântulas em areia, no qual o mesmo obteve média estatisticamente igual aos lotes com melhor desempenho (Tabela 5).

4.2.2.2. Avaliação do potencial fisiológico utilizando a análise de imagens (Seed Vigor Imaging System - SVIS®)

Na Tabela 6 estão expostos os resultados dos parâmetros avaliados utilizando-se do software SVIS®, para a segunda época de avaliação dos dez lotes de sementes. Verificou-se que houve diferença estatística no potencial fisiológico dos parâmetros avaliados, à exceção do índice de uniformidade.

Tabela 6. Resultados de comprimento de plântulas (CP), índices de vigor (IV) e índice de uniformidade de plântulas (IU) aos três dias de germinação dos dez lotes de sementes de algodão, na primeira época de avaliação.

Lotes	SVIS®		
	CP (cm)	IV	IU
L2	6,24a	727a	860a
L3	6,35a	732a	879a
L4	6,26a	734a	870a
L6	5,75b	698b	858a
L7	6,18a	732a	849a
L8	4,63c	597c	867a
L9	4,59c	600c	859a
L10	4,26c	574c	861a
L11	4,38c	584c	858a
L13	4,43c	580c	873a
CV (%)	9,63	5,21	4,43

*Médias seguidas da mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Scott-knott ($p \leq 0,05$)

Os resultados da análise de imagens mostraram-se, em geral, semelhantes aos demais testes tradicionais de avaliação de vigor de sementes. Houve separação em três grupos.

O comprimento de plântulas e o parâmetro índice de vigor apresentaram a mesma estratificação estatística entre os lotes. Sendo que os lotes 2, 3, 4 e 7 apresentaram melhor desempenho em relação aos demais lotes. Apesar do lote 6 não obter resultado igual aos lotes com melhor desempenho, ele se mostrou superior aos lotes 8, 9, 10, 11 e 13. Essa sensibilidade de separação mostrada na análise de imagens - SVIS® já foi observada em sementes de outras espécies, como soja (Marcos Filho; Kikute; Lima, 2009), crotalária (Arruda, 2012), pepino (Chiquito; Gomes Junior; Marcos Filho, 2012), milho superdoce (Alvarenga; Marcos Filho; Gomes Junior, 2012), algodão (Alvarenga, 2013) e sorgo (Javorski, 2016).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As pesquisas direcionadas para avaliação da morfologia interna têm sido fundamentadas em técnicas de análise de imagens. As imagens radiográficas das sementes combinadas com técnicas computadorizadas de análise de imagens de plântulas são as novas diretrizes da pesquisa no sentido de desenvolvimento de métodos mais precisos e mais rápidos de análise de sementes (GOMES JUNIOR, 2010).

Analisando-se os resultados obtidos nas avaliações de raios X, testes tradicionalmente utilizados para avaliar o vigor de sementes e a análise computadorizada de plântulas (SVIS[®]), verificou-se que todos apontaram o lote 7 como o de melhor qualidade física e fisiológica e os lotes 9 e 13 como os de desempenho mais baixo.

A técnica radiográfica não detecta todos os problemas associados à qualidade de sementes, mas permite, na maioria dos casos, avaliar de forma rápida e não destrutiva a morfologia interna, fornecendo informações úteis e essenciais para a pesquisa e controle de qualidade de sementes (CARVALHO; OLIVEIRA, 2006).

O uso de técnicas computadorizadas de análise de imagens é uma técnica importante em programas de controle de qualidade. A utilização do software SVIS[®] reduz o tempo gasto e a subjetividade para análise do comprimento de plântula, além de fornecer dados como índice de vigor e de uniformidade de plântulas, que podem auxiliar na obtenção de conclusões mais concretas em relação à qualidade fisiológica de lotes de sementes.

6. CONCLUSÕES

A análise de imagens utilizando o teste de raios X é eficiente na avaliação da morfologia interna de sementes de algodão, com identificação de suas partes internas e na avaliação de danos causados nas sementes, entre eles, danos por deterioração de tecidos, danos por malformação da semente e danos mecânicos, os quais permitem relacionar a ocorrência dos mesmos com a germinação das sementes.

A utilização do SVIS[®] como uma técnica de análise computadorizada de imagens de plântulas pode ser utilizada como alternativa para avaliação do vigor de sementes de algodão.

REFERÊNCIAS

- ABRAHÃO, J.T.M.; D'ARCE, M.A.B.R.; FONSECA, H. **Algodão – Produção, Pré-Processamento e Transformação Agroindustrial**. Secretaria de Ciência e Tecnologia de São Paulo, Série Extensão Agroindustrial nº 2. 1982. 96 p.
- ALVARENGA, R. O. **Análise de imagens para avaliação de variações na estrutura e no potencial fisiológico de sementes armazenadas de algodão**. 2013. 89 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013
- ARRUDA, N. **Avaliação da estrutura e do potencial fisiológico de sementes de crotalária por meio de recursos de análise de imagens**. 2012. 55 p. Dissertação (Mestrado em fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.
- ARRUDA, N.; CICERO, S.M.; GOMES-JUNIOR, F.G. . Radiographic analysis to assess the seed structure of *Crotalaria juncea* L.. **Journal of Seed Sciences**, v. 38, p. 161-168, 2016.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS. (ABRASEM) **Anuário 2014**. Brasília, 2014.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS PRODUTORES DE ALGODÃO, ABRAPA. Disponível em: <http://www.abrapa.com.br/estatisticas/Paginas/Algodao-no-Mundo.aspx>. Acesso em 01 dez. 2016.
- BAALBAKI, R.; ELIAS, S.; MARCOS FILHO, J.; McDONALD, M. B. **Seed vigor testing handbook**. Ithaca: Association of Official Seed Analysts, 2009. 341p. (Contribution, 32)
- BINO, R.J.; AARTSE, J.W.; VAN DER BURG, W.J. Non-destructive X-ray analysis of *Arabidopsis* embryo mutants. **Seed Science Research**, v.3, n.3, p.167-170,1993.

- BRACCINI, A. L. et al. Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja após o processo de hidratação-desidratação e envelhecimento acelerado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 6, p.1053-1066, jun. 1999.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análises de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 395p.
- CALIARI, M. F.; SILVA, W. R. da. 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, jul. 2001.
- CARVALHO, L.R.; CARVALHO, M.L.M.; DAVIDE, A.C. Utilização do teste de raios X na avaliação da qualidade de sementes de espécies florestais de Lauraceae. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.4, p.57-66, 2009a.
- CARVALHO, M. L. M.; OLIVEIRA, L. M. Raios X na avaliação da qualidade de sementes. **Informativo Abrates**, Curitiba, v. 16, n 1/3, p. 2-3, 2006.
- CARVALHO, M.L.M.; ALVES, R.A.; OLIVEIRA, L.M. Radiographic analysis in castor bean seeds (*Ricinus communis* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, 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**, v.31, n.2, p.221-227, 2009b.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 3. Ed.Campinas: Fundação Cargil, 1988. 429p.
- CASTRO, M.B **Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho por meio da atividade respiratória**. 2011. 67p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia), Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento safra brasileira de grãos, v.4 - Safra 2016/17, n.2 - Segundo Levantamento, Brasília, p. 1-103, nov. 2016. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_11_11_14_54_21_boletim_graos_novembro_2016.pdf. Acesso em 05 dez 2016.
- DELL'AQUILA, A. Pepper seed germination assessed by combined X-radiography and computer-aided imaging analysis. **Biologia Plantarum**, v.51, p.777-781, 2007.
- Delouche, J.C.; Potts, M.C. **Programa de sementes: planejamento e implantação**. 2 ed. Brasília: AGIPLAN. 1974, 138p.
- FERREIRA, D. F., Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows® versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000, São Carlos. Programas e resumos. São Carlos: UFSCar, 2000. P. 255-258.
- FREITAS, R. A. de; DIAS, D. C. F. S.; CECOM, P. R.; REIS, M. S. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de algodão durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 22, n. 2, p. 94- 101, 2000.
- 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. Aplicação da análise de imagens para avaliação da morfologia interna de sementes. **Informativo Abrates**, v.20. p. 33-39, 2010.
- GOMES JUNIOR, F.G.; MONDO, V.H.V.; CICERO, S.M.; McDONALD, M.B.; BENNETT, M.A. Evaluation of priming effects on sweet corn seeds by SVIS. **Seed Technology**, v.31, n.1, p.95-100, 2009.

GOVE, P.B ed., 1965. **Webster's seventh new collegiate dictionary**. Springfield, G. e C. Merriam Co. 1222p.

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

HOFFMASTER, A.L.; XU, L.; FUJIMURA, K.; McDONALD, M.B.; BENNETT, M.A.; EVANS, A.F. O Sistema Ohio State University Sementes Vigor Imagem (SVIS®) de plântulas de soja e milho. **Tecnologia de Sementes**, v.27, n.1, p.7-26, 2005.

HOFFMASTER, A.L.; XU, L.; FUJIMURA, K.; McDONALD, M. B.; BENNETT, M. A.; EVANS, A. F. The Ohio State University seed vigor imaging system (SVIS) for soybean and corn seedlings. **Seed Technology**, Lincoln, v. 27, n. 1, p. 7-24, 2005.

ISTA – INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **Handbook of vigour test methods**, 1995, 117p.

JAVORSKI, M. **Utilização de técnicas de análise de imagens para avaliação da morfologia interna e do vigor de sementes de sorgo**, 2016. 50 p. Dissertação (Mestrado em fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016

KIKUTI, A.L.P.; MARCOS FILHO, J. Evaluation of lettuce seed viability by combined X-ray and germination tests. In: ISTA CONGRESS, 29, 2010, Cologne. Seed Symposium Abstracts. Bassersdorf: International Seed Testing Association, 2010, p.54-55.

LOEFFLER, T. M.; TEKRONY, D.M.; EGLI, D.B.. The bulk conductivity test as an indicator of soybean seed quality. **Journal of Seed Technology**, 12: 37-53, 1998.

- MACHADO, C.F.; CICERO, S.M. 'Aroeira branca' [*Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. – Anacardiaceae] seed quality evaluation by the X-ray test. **Scientia Agricola**, v.60, n.2, p.393-397, 2003.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in relation evaluation for seedling emergence vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.
- MARCOS FILHO, J. CÍCERO, S. M.; SILVA, W. R. 1987. Avaliação da qualidade das sementes. Piracicaba: FEALQ. 230 p.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. FEALQ, 2005, 495p.
- MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: ABRATES, 2015.
- MARCOS FILHO, J. Sistema computadorizado de análise de imagens de plântulas (SVIS[®]) para avaliação de vigor de sementes. **Informativo Abrates**, v.20, p.40-44, 2010.
- MARCOS FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999a. p. 3,1-3.24.
- MARCOS FILHO, J.; GOMES JUNIOR, F. G.; BENNETT, M. A.; WELLS, A. A.; STIEVE, S. Using tomato analyzer software to determinate embryo size in X-rayed seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 2, p. 146-153, 2010.
- MARCOS FILHO, J.; KIKUTI, A.L.P.; LIMA, L.B. Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo análise computadorizada de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.1, p.102-112, 2009.

- McCORMAC, A.C.; KEEFE, P.D.; DRAPER, R.S. Automated vigour testing of field vegetables using image analysis. **Seed Science and Technology**, v.18, n.1, p.103-112, 1990.
- MELO, P.R.B. OLIVEIRA, J.A.; CARVALHO, M.L.M.; GUIMARÃES, R.M.; CARVALHO, B.O. Aplicação do teste de raios X no estudo da morfologia interna e da qualidade fisiológica de aquênios de arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.2, p.146- 154, 2009.
- MIGUEL, M.H.; CARVALHO, M.V.; BECKERT, O. P.; MARCOS FILHO, J. Teste de frio para avaliação do potencial fisiológico de sementes de algodão. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.58, n. 4, p. 741-746, 2001.
- MONDO, V.H.V.; CICERO, S.M. Análise de imagens na avaliação da qualidade de sementes de milho localizadas em diferentes posições na espiga. **Revista Brasileira de Sementes**, v.27, n.1, p.9-18, 2005.
- NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWISKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 2.1-2.24.
- NASSIF, D.S.P.; CICERO, S.M. Avaliação de sementes de acerola por meio de raios X. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.28, n.3, p. 542-545, 2006.
- NOVEMBRE, A. D. L. C. Avaliação da qualidade de sementes. **Seed News**, Pelotas, v. 3, p 24-28, maio/jun. 2001.
- OLIVEIRA, L.M.; CARVALHO, M.L.M.; DAVIDE, A.C. Utilização do teste de raios X na avaliação da qualidade de sementes de canafístula (*Peltophorum dubium* (Sprengel) Taubert). **Revista Brasileira de Sementes**, 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. e *T. impetiginosa* (Martius Ex A.P. de Candolle) Standley – (Bignoniaceae) pelo teste de raios X. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.2, p.138- 143, 2004.
- PÁDUA, G. P. de. Vigor de sementes e seus possíveis efeitos sobre a emergência em campo e produtividade. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 8, n. 1/2/3, p. 46-49, ago. 1998.
- PESKE, S. T.; LUCCA FILHO, O. A.; BARROS, A. C. S. A. **Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos**. 2. Ed. Pelotas: Ufpel, 2006. 470p.
- 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**, v.31, n.2, p.195-201, 2009.
- POPINIGIS, F. Fisiologia da semente. Brasília: AGIPLAN. 1977. 289p.
- PUJIM, 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**, v.30, n.2, p.28-32, 2008.
- SAKO, Y.; McDONALD, M.B.; FUJIMURA, K.; EVANS, A.F.; BENNETT, M.A. A system for automated seed vigor assessment. **Seed Science and Technology**, v.29, p.625-636, 2001.
- SIMAK, M. Testing of forest tree and shrub seeds by X-radiography. IN: GORDON, A. G.; GOSLING, P.; WAND, B. S. P. (Ed.). **Tree shrub seed handbook**, Zurich: ISTA, 1991. p. 1-28.
- SOCOLOWSKI, F.; CICERO, S.M. Caracterização morfológica de embriões por imagens de raios X e relação com a massa e a qualidade fisiológica de sementes

de *Tecoma stans* L. Juss. ex Kunth (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, n.2, p.200-2008, 2008.

TILLMANN, C.A.C. **Modelo de sistema integrado de gestão da qualidade para implantação nas unidades de beneficiamento de sementes**. Universidade de Pelotas, p 14-15, 2006.

TOLEDO, F.F.; MARCOS FILHO, J. **Manual das sementes: tecnologia da produção**. São Paulo, Agronômica Ceres, 1977. 224p.

TORRES, S. B. Comparação entre testes de vigor para avaliar a qualidade fisiológica de semente de algodão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 11-15, 1998.

TUNES, L. M.; PEDROSO, D. C.; BARBIERE, A.P. P.; CONCEIÇÃO, G. M.; ROETHING, E.; MUNIZ, M. F. B.; BARROS, A. C. S. A. Envelhecimento acelerado modificado para sementes de coentro (*Coriandrum sativum* L.) e sua correlação com outros testes de vigor. **Revista brasileira de Biociência.**, Porto Alegre, 2011. v. 9, n. 1, p. 12-17.

VILLIERS, T.A. Ageing and longevity of seeds in field conditions. In: HEYDECKER, W. (Ed.). **Seed ecology**. London: The Pennsylvania State University Press, p.265-288, 1973.

WILLYDER, L. R. P. **Testes de vigor em sementes de milho**. 2010. 50p
Dissertação (Mestrado em fitotecnia) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2010