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

**Avaliação da qualidade de sementes de girassol por meio de análise de
imagens**

Cartiane Rubishirley Macêdo da Rocha

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

**Piracicaba
2012**

Cartiane Rubishirley Macêdo da Rocha
Engenheiro Agrônomo

Avaliação da qualidade de sementes de girassol por meio de análise de imagens

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

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

Piracicaba
2012

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

Rocha, Cartiane Rubishirley Macêdo da
Avaliação da qualidade de sementes de girassol por meio de análise de imagens /
Cartiane Rubishirley Macêdo da Rocha. - Piracicaba, 2012.
68 p: il.

Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2012.

1. Germinação de sementes - Qualidade 2. Girassol 3. Sementes - Vigor 4. Raios X
5. Processamento de imagens I. Título

CDD 633.39
R672a

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

Dedico

A Deus

Pela vida e sabedoria

A Nossa Senhora

Pela poderosa intercessão

Ofereço

Aos meus amados pais

Carlos Alberto da Rocha e Rubenita Macêdo da Rocha
Por serem a razão da minha vida

As minhas queridas irmãs

Carlessa e Michely
Pelo amor, carinho, amizade e incentivo

As minhas lindas sobrinhas

Raica, Riandra e Raimée
As quais libero as palavras de um futuro promissor e marcado por benções divinas

A minha tia-mãe

Ruth Leal de Macêdo
Pelos constantes exemplos de fé, determinação, persistência e honestidade

Ao meu querido namorado

Leonardo de Lucena Martins
Pelo amor, companheirismo, incentivo, compreensão e força

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida, por todo crescimento, por ser presença constante na minha caminhada, que cuida de mim com tanto capricho e que me proporciona diversas experiências especiais. “O impossível é apenas uma das especialidades de Deus”.

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

Ao professor Silvio Moure Cicero, pela orientação, confiança, paciência, amizade e pelo exemplo profissional.

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

À Engenheira Agrônoma Helena M. C. P. Chamma, pela amizade, carinho, apoio e incentivo.

À Dra. Maria Heloisa Duarte de Moraes por proporcionar indispensável suporte nas análises patológicas das sementes.

Aos funcionários do laboratório, Adilson, Ticão, João e Zezé e aos secretários Rafael e Luciane, pela amizade e serviços prestados durante o curso.

Aos Funcionários da Biblioteca Central da ESALQ, pelo atendimento e atenção dispensada, em particular agradeço a Thaís e a Eliana.

Aos amigos do laboratório Vitinho, Chiquinho, Bruna, Mário, Sanata, Cris, Jú, Rô, Si, Renê, Patrícia, Clíssia, Vivian, Helen, Cibele e Nayara pela amizade, paciência, companheirismo e pelos bons momentos compartilhados. Em particular a Rê, Denis e Nathi, pois “A gente não faz amigos, reconhece-os”. Obrigada por sempre estarem ao meu lado.

Em especial, agradeço também a Vanessa, pelo convívio, paciência, ensinamentos, gentileza, amizade, atenção e auxílio nesta dissertação. Obrigada por tudo, sou e serei sempre grata a você!

À minha mana amiga, Deinha, parceira de república, que foi verdadeira providência de Deus em minha vida, uma das pessoas mais guerreiras e determinadas que conheci, exemplo de fé, caráter e fortaleza. Obrigada pelos ensinamentos, pelo exemplo e pela amizade. “Amigos, pra sempre. Dois amigos que nasceram pela fé. Amigos, pra sempre. Para sempre amigos, se Deus quiser”.

Aos amigos, Hilo, Sandrina, Jú Bahiana, Conan, Fábio, Luizinho, Oscar, Karina e Tiago pelo carinho, amizade e incentivo. Obrigada por serem minha família aqui. “Amigos são familiares que cada um escolhe sozinho”.

À amiga Adrielle, pela amizade e incentivo constante, mesmo estando distante.

Aos amigos do GOU (Grupo de Oração Universitário), em especial, Lore e Aninha, pessoas iluminadas por Deus, obrigada pelas partilhas e troca de experiências.

As minhas amigas de infância, Camila, Josy, Fernandinha, Glauci e Danizinha, por termos desenvolvidos em nós as qualidades que cada uma admiramos. “A distância não altera e o tempo não destrói as verdadeiras amizades”.

Aos meus amigos de graduação Andrea (miguxa), Márcio, Romulo, Adrian, Lorena, Iolanda e Alinne, por terem proporcionado indispensáveis palavras de força, batalha, determinação e conquista. “A amizade sincera nunca é esquecida, apenas cristalizada, para um momento qualquer, e quando é reencontrada é de novo reacendida e vivida plenamente”.

Ao Léo, meu namorado querido e amado, pela amizade, confiança e companheirismo, que zela pela minha felicidade, que se coloca a postos para ouvir minhas súplicas, meus anseios, calenta meus choros dizendo palavras confortáveis nos momentos mais difíceis, e que compartilha comigo momentos de felicidades inesquecíveis. “Quando se ama não é preciso entender o que se passa lá fora, pois tudo passa a acontecer dentro de nós”. Obrigada por tudo!

Aos meus sogros, Dona Adeláide e Seu Altamiro, pelo apoio e incentivo, que certamente me motivaram a perseverar neste trabalho. “A verdadeira família é aquela unida pelo espírito e não pelo sangue.”

A minha família, minhas irmãs, minhas sobrinhas, madrinhas, avós, em especial a vó mindoca (*in memorian*), primos, tios, cunhados, pelo amor, apoio e dedicação, que me possibilitaram cumprir mais uma etapa. “A Família não nasce pronta; constrói-se aos poucos, e é o melhor laboratório do amor”. Por isso, que todos os dias, experimento com profundidade a grande aventura de ama-lós sem medo, no meu laboratório chamado coração.

E por fim, aos meus queridos pais digo obrigada, simplesmente porque, não há uma palavra que expresse a proporção da minha gratidão e orgulho. Como agradecer a tantas renúncias a meu favor, os conselhos, lições, as lágrimas derramadas por conta da distância; ensinaram-me a nunca desistir dos meus sonhos e sempre agradecer, mas não avisaram que em momentos como este, não haveria palavras para exprimi essa emoção... e hoje, só posso dizer: pai, mãe, amo vocês!

À empresa Piraí Sementes, pela cessão das sementes para esse experimento.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da Bolsa de Mestrado.

Muito Obrigada!

EPÍGRAFE

“Eu pedi forças... e Deus me deu dificuldades para me fazer forte. Eu pedi sabedoria... e Deus me deu problemas para resolver. Eu pedi prosperidade... e Deus me deu cérebro e músculos para trabalhar. Eu pedi coragem... e Deus me deu perigos para enfrentar. Eu pedi amor... e Deus me deu pessoas com problemas para ajudar. Eu pedi Favores... e Deus me deu Oportunidades. Eu não recebi nada do que eu pedi, mas eu recebi tudo o que precisava”.... Obrigada, meu PAI, pelas lindas declarações de amor que me proporciona diariamente, e principalmente, por nunca ter desistido de mim!.

Autor desconhecido.

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO.....	15
Referências	16
2 AVALIAÇÃO DA MORFOLOGIA INTERNA DE SEMENTES DE GIRASSOL UTILIZANDO TESTE DE RAIOS X	19
Resumo	19
Abstract.....	19
2.1 Introdução.....	19
2.2 Desenvolvimento.....	22
2.2.1 Material e Métodos.....	22
2.2.1.1 Teor de água	22
2.2.1.2 Teste de raios X.....	22
2.2.1.3 Teste de germinação	24
2.3 Resultados e Discussão.....	24
2.4 Considerações Finais	33
2.5 Conclusão	34
Referências	34
3 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FISIOLÓGICO DAS SEMENTES DE GIRASSOL UTILIZANDO SISTEMA COMPUTADORIZADO DE ANÁLISE DE IMAGENS DE PLÂNTULAS.....	37
Resumo	37
Abstract.....	37
3.1 Introdução.....	38
3.2 Desenvolvimento.....	40
3.2.1 Material e Métodos.....	40
3.2.1.1 Avaliações do grau de umidade, germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, emergência de plântulas em areia e em campo, velocidade de emergência em areia e sanidade.	40
3.2.1.2 Determinação do grau de umidade	40
3.2.1.3 Germinação.....	41
3.2.1.4 Primeira contagem de germinação	41

3.2.1.5 Envelhecimento acelerado	41
3.2.1.6 Emergência de plântulas em areia.....	41
3.2.1.7 Emergência de plântulas em campo.....	42
3.2.1.8 Sanidade	42
3.2.1.9 Análise de imagens de plântulas com o auxílio do sistema computacional <i>Seed Vigor Imaging System (SVIS®)</i>	42
3.2.1.10 Delineamento experimental	45
3.3 Resultados e discussão	46
3.3.1 Primeira época de avaliação.....	46
3.3.1.1 Grau de umidade, germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, emergência de plântulas em campo e em areia, velocidade de emergência de plântulas em areia e sanidade.....	46
3.3.1.2 Análise de Imagens de plântulas (<i>Seed Vigor Imaging System - SVIS®</i>)	51
3.3.2 Segunda época de avaliação.....	53
3.3.2.1 Grau de umidade, germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, emergência de plântulas em campo e em areia, velocidade de emergência de plântulas em areia e sanidade.....	53
3.3.2.2 Análise de Imagens de plântulas (<i>Seed Vigor Imaging System – SVIS®</i>)	58
3.4 Considerações Finais.....	62
3.5 Conclusão.....	62
Referências.....	63

RESUMO

Avaliação da qualidade de sementes de girassol por meio de análise de imagens

A ampliação de novos procedimentos para rápida obtenção de informações precisas sobre o potencial fisiológico é importante para a pesquisa e programas de controle de qualidade de sementes. A análise de imagens de raios X, para avaliar a qualidade de sementes, é um método de precisão que possibilita examinar, com detalhes, a região danificada ou alterada, sua localização e extensão. Por ser um método não destrutivo, as sementes em análise podem ser submetidas a testes fisiológicos e, desta forma, é possível estabelecer as relações de causa e efeito. Na avaliação do potencial fisiológico de sementes de diversas espécies, como as de girassol, além dos métodos rotineiramente utilizados para análise de vigor, a análise computadorizada de plântulas também possui grande potencial, pois este sistema inclui a minimização do erro humano, aumentando a confiabilidade dos dados para fins de comparação, além da possibilidade de arquivamento das imagens para análise posterior. Neste sentido, os objetivos desta pesquisa foram avaliar a morfologia interna de sementes de girassol utilizando raios X na identificação de danos mecânicos, mal formação do embrião e tecidos deteriorados nas sementes e sua relação com a germinação; e avaliação da eficiência do sistema computadorizado de análise de imagens de plântulas (*Seed Vigor Imaging System* - SVIS[®]), em comparação com os outros testes recomendados para determinação do vigor de sementes de girassol. Foram utilizadas dez lotes de sementes de girassol do cultivar Catissol 01, tanto para avaliação da morfologia interna quanto para a análise de plântulas. As análises relativas à morfologia interna das sementes foram realizadas em apenas uma época, no início da pesquisa, ao passo que aquelas relativas ao sistema computadorizado de imagens de plântulas e demais testes de vigor foram realizados em duas épocas, espaçadas de quatro meses. Concluiu-se que a análise de imagens de raios X permite identificar danos mecânicos, mal formação do embrião e tecidos deteriorados em sementes de girassol e relacioná-las com a presença de plântulas normais, anormais e sementes mortas no teste de primeira contagem de germinação; o SVIS[®] é uma alternativa viável para a avaliação do vigor de sementes de girassol.

Palavras-chave: *Helianthus annuus* L.; Germinação; Vigor; Raios X; SVIS[®]

ABSTRACT

The use of imaging analysis to evaluate the quality of sunflower seeds

The use of new procedures to quickly obtain accurate information on the physiological potential is important for research and quality control programs of seeds. The analysis of X-ray images to evaluate the quality of seeds is an accurate method that allows to examine in detail the damaged or altered region, its location and extent. Because it is a non-destructive method, the seeds under analysis can be subjected to physiological tests, and therefore, it is possible to establish relations of cause and effect. In the physiological potential of seeds of several species, such as sunflower, beyond the methods routinely used to analyze the vigor, the computerized analysis of seedlings also has great potential, because this system includes the minimization of human error, increasing data reliability for comparison purposes, besides the possibility of storing the image for further analysis. Thus, the objectives of this study were to evaluate the internal morphology of sunflower seeds using X-ray identification of mechanical damage, embryo malformation and deteriorated tissues in the seeds and its relation to germination and evaluation of the efficiency of computerized image analysis of seedlings (*Seed Vigor Imaging System* - SVIS[®]) in comparison with other tests to determine the recommended vigor of sunflower seeds. Was used ten lots of sunflower seeds of the cultivation Catissol 01 without chemical treatment, both for the evaluation of the internal morphology and for the analysis of seedlings. Analyses of the internal morphology of seeds were performed in only one season, at the baseline, while the computerized imaging analyses and other seedling vigor tests were performed in two times, spaced four months. Results showed that the analysis of X-ray images can identify mechanical damage, embryo malformation and deteriorated tissues in sunflower seeds and relate them to the presence of normal and abnormal seedlings and dead seeds in the first count of germination; the SVIS[®] is a viable alternative for evaluation of vigor of sunflower seeds.

Keywords: *Helianthus annuus* L.; Germination; Vigor; X-ray; SVIS[®]

1 INTRODUÇÃO

O girassol (*Helianthus annuus* L.) é uma planta anual da família das Asteraceae. Existem várias versões sobre a origem do girassol; acreditou-se por muito tempo que o girassol procedia do Peru, posteriormente discutiu-se que o girassol poderia ser originário do México, Canadá, Estados Unidos e inclusive do Brasil (VRÂNCEANU, 1977). Presume-se que o cultivo do girassol no Brasil tenha iniciado na época da colonização, principalmente na região Sul, com a introdução do hábito do consumo de suas sementes torradas (PELEGRINI, 1985).

As flores do girassol são reunidas numa inflorescência, denominada capítulo. O seu fruto, popularmente considerado semente, é do tipo seco, indeiscente, chamado de aquênio. É constituído por pericarpo e pela semente propriamente dita (SEILER, 1997). A semente fixa-se ao endocarpo por um pequeno pedúnculo e não têm endosperma, sendo os cotilédones a única reserva nutritiva para o embrião. O girassol é uma planta alógama, devido à discordância morfofisiológica de maturação de estames e pistilos (protandria) e ao sistema genético de autoincompatibilidade.

A polinização é, em sua maior parte, entomófila, na maioria dos casos por meio de abelhas, vespas e outros insetos (MACHADO; CARVALHO, 2006), e pouco anemófila, pois o pólen está pouco adaptado ao transporte pelo vento, devido principalmente a sua massa e tamanho (34 a 45 micras). Atualmente, a cultura do girassol, juntamente com a cultura da soja e da canola são de grande importância na economia, pois representa uma das três mais importantes culturas anuais produtoras de óleo do mundo.

O óleo de girassol possui características importantes do ponto de vista culinário e nutricional; apresenta sabor suave e aroma agradável, sendo ideal para uso na culinária, como para as saladas, maionese e frituras. A semente de girassol possui cerca de 24 % de proteínas e 47,3 % de óleo, sendo rica em ácido linoléico. O ácido linoléico é o mais conhecido tipo de ácido graxo, substância que não é produzida pelo organismo, mas é essencial à vida (LEITE; CASTRO; SMIRDELE, 2007). Além de que, esse óleo pode ser um aliado na prevenção de doenças cardiovasculares e no controle do nível de colesterol no sangue.

É importante destacar que os produtos derivados da cultura do girassol, tais como o farelo, a torta e farinha, podem ser utilizados na produção de silagem e rações de animais domésticos, na indústria de biscoitos e de outros produtos de panificação e em alimentos dietéticos.

Por conta da necessidade da redução dos impactos ambientais decorrentes da queima de combustíveis fósseis e da diversificação da matriz energética brasileira, houve um

crescente interesse pela produção de biodiesel no Brasil e no mundo. No Brasil, foi aprovada a Lei Nº 11.097 de 13 de janeiro de 2005, que estabeleceu as bases do Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (BRASIL, 2005). Essa lei dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira, sendo que atualmente os percentuais de mistura ao diesel são de 2 %, com previsão de 5 % a partir de 2013.

Cabe ressaltar que um dos fatores importantes na fabricação de biodiesel à base de óleo de girassol está relacionado com utilização de sementes (aquênios) de alta qualidade. Porém, uma das dificuldades na produção de sementes está relacionada com as diferenças de maturação dentro do capítulo e a alta incidência de microrganismos associados às sementes. Com isso, a avaliação da qualidade das sementes adquire importante papel, pois, de maneira geral, exige das indústrias sementeiras a utilização de tecnologias, como por exemplo, o desenvolvimento satisfatório de testes rápidos e confiáveis que auxiliam e agilizem a tomada de decisões em relação à qualidade e o destino dos lotes.

Dentre os métodos utilizados para avaliação da qualidade de sementes de girassol, o teste de germinação é o mais utilizado. Entretanto, este apresenta algumas limitações, tais como: a demora na obtenção dos resultados e detecção do nível de deterioração das sementes em estádios mais avançados. Assim, os testes de vigor estão se destacando, por serem mais sensíveis que o teste de germinação na avaliação da qualidade fisiológica.

Por conta disso, esta pesquisa foi realizada com os objetivos de avaliar o potencial fisiológico de sementes de girassol utilizando técnicas de análise de imagens, entre elas, o teste de raios X e o programa computacional “*Seed Vigor Imaging System*” (SVIS®).

Referências

BRASIL. **Lei nº 11.097**, de 13 de janeiro de 2005. Estabelece as bases do Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel. Brasília, 2005. Disponível em: <<http://www.aneel.gov.br/cedoc/blei200511097.pdf>>. Acesso em: 08 nov. 2011.

LEITE, R.M.V.B.C.; CASTRO, C.; SMIRDELE, O.J. Girassol: mais uma opção para os biocombustíveis. **Revista Biodiesel**, Brasília, n. 16, p. 17-19, 2007.

MACHADO, C.S.; CARVALHO, C.A.L. Abelhas (Hymenoptera: Apoidea) visitantes dos capítulos de girassol no recôncavo baiano. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 5, p. 1404-1409, set./out. 2006.

PELEGRINI, B. **Girassol**: uma planta solar das Américas conquistou o mundo. São Paulo: Ícone, 1985. 117 p.

SEILER, G.J. Anatomy and morphology of sunflower. In: SCHNEITER, A.A. (Ed.). **Sunflower technology and technology**. Madison: ASA; CSSA; SSSA, 1997. chap. 3, p. 67-111. (Agronomy Monograph, 35).

VRÂNCEANU, A.V. **El girassol**. Madrid: Mundi Prensa, 1977. 375 p.

2 AVALIAÇÃO DA MORFOLOGIA INTERNA DE SEMENTES DE GIRASSOL UTILIZANDO TESTE DE RAIOS X

Resumo

O teste de raios X vem sendo empregado em programas de controle de qualidade de sementes e, também, auxilia nos estudos morfológicos e fisiológicos de sementes de diversas espécies. É um método de precisão que possibilita examinar, com detalhes, a morfologia interna das sementes. Por ser um método não destrutivo, as sementes em análise podem ser submetidas a testes fisiológico e, assim, estabelecer relação entre anormalidades e danos internos e os prejuízos causados à qualidade das sementes. Nesse aspecto, a presente pesquisa teve como objetivo verificar a possibilidade de uso do teste de raios X em semente de girassol. Foram utilizadas dez lotes com oito repetições de 25 sementes do cultivar Catissol 01, sendo que as sementes foram radiografadas e, posteriormente, realizada a primeira contagem de germinação, para, então, realizar comparações da morfologia interna das sementes com as respectivas plântulas normais, anormais ou sementes mortas. Com os resultados obtidos, verificou-se que análise de imagens radiográficas mostrou-se eficiente para detecção de danos mecânicos, mal formação do embrião e tecidos deteriorados prejudiciais à germinação das sementes.

Palavras-chave: *Helianthus annuus* L.; Análise de imagens; Qualidade de sementes

Abstract

The X-ray test has been used in quality control programs of seeds and it aids in morphological and physiological studies of seeds of different species. It is an accurate method that allows to examine in detail the internal morphology of seeds. Because it is a non-destructive method, the seeds can be subjected to physiological tests and thus establish a relationship between abnormalities and internal damage and damages caused to seed quality. Therefore, this study aimed to verify the possibility of using X-ray test of germination on sunflower seeds. Ten lots were used with eight replications of 25 seeds of the cultivar Catissol 01. The seeds were radiographed and, later, the first count was performed to make comparisons of the internal morphology of seeds with their respective normal or abnormal seedlings or dead seeds. The results showed that the X-ray image analysis proved to be efficient in detecting mechanical damage, embryo malformation and damaged tissues that are detrimental to the germination of seeds.

Keywords: *Helianthus annuus* L.; Image analysis; Seed quality

2.1 Introdução

O girassol (*Helianthus annuus* L.) destaca-se como uma das culturas oleaginosas de grande importância mundial, produzindo cerca de 38 % a 50 % de óleo e 20 % a 25 % de proteínas (VENKTESH; PRAKASH, 1993). O farelo, com ou sem a remoção de óleo, fornece material para ser utilizado em diversos alimentos protéicos; já o óleo, é utilizado para a produção de biodiesel, óleo comestível, cosméticos, dentre outros. No Brasil, sua produção

tem se expandido nos últimos anos, visando atender o crescimento do mercado interno para o consumo de óleo comestível e ração animal (POZZI et al., 2005). Por isso, o uso de sementes de boa qualidade é de grande importância para o estabelecimento de populações adequadas em campo, refletindo-se em alta produtividade.

O uso de sementes com alta qualidade é um dos requisitos primordiais para que se possam obter produtividades satisfatórias. Isto porque a garantia da alta produtividade de uma cultura depende não apenas da correta adubação, controle de pragas, doenças e plantas daninhas e condições edafoclimáticas adequadas, mas, também, da utilização de sementes de boa procedência e qualidade comprovada.

Durante o processo de maturação, que tem início com a fertilização do óvulo e estende-se até o ponto em que a semente atinge a maturidade fisiológica, podem ocorrer diferentes transformações morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e físicas nas sementes, como aumento de tamanho, alteração no teor de água, acúmulo de massa de matéria seca e modificações no poder germinativo e no vigor das mesmas (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000) e, dependendo das condições ambientais desfavoráveis, podem apresentar mal formação do embrião, além de redução no acúmulo de reservas em seus tecidos, que serão importantes durante o processo de germinação, pois constituem fonte primária de nutrientes para o crescimento e desenvolvimento do embrião. As sementes de girassol apresentam estádios de maturação desuniformes no capítulo (BITTENCOURT et al., 1991), bem como alta incidência de fungos (JOCKER; JEPSEN, 2003) que podem afetar a germinação e dificultar o diagnóstico correto da qualidade fisiológica do lote.

Ainda neste contexto, cabe ressaltar, de modo geral, que o florescimento das plantas não apresenta uniformidade absoluta. Desta maneira, a polinização, a fecundação e a maturação geralmente apresentam graus variados de desuniformidade, em função das características genéticas do cultivar, associadas às suas relações com as condições climáticas. Consequentemente, as sementes maduras podem apresentar variações em sua estrutura, com crescimento variado de suas partes, o que pode provocar diferenças na geminação e no vigor (MARCOS FILHO et al., 2010).

Outro fator que pode afetar a qualidade fisiológica do lote são os danos mecânicos nas sementes e isso pode estar relacionado à colheita, visto que, para sementes de girassol, na maioria das vezes, a colheita é mecanizada. O dano mecânico é apontado pelos tecnólogos de sementes como um dos mais sérios problemas que ocorrem durante o processo de produção, sendo na sua maior parte, consequência da mecanização das atividades agrícolas, constituindo um problema praticamente inevitável, mesmo com perfeita regulação das

máquinas, causando danos em menor ou maior intensidade (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

Diante disto, para uma análise mais conclusiva da qualidade de sementes, há necessidade de se complementar os resultados fornecidos pelo teste de germinação com informações adicionais relativas à morfologia interna, danos e outros aspectos fisiológicos que podem ser avaliados por meio da análise de imagens de raios X. Logo, o conhecimento destes parâmetros e os cuidados preventivos são de grande importância no que se refere ao planejamento da produção, colheita, beneficiamento e armazenamento.

A análise de sementes por meio do raios X, foi iniciada, na Suécia, em 1953, por Simak e Gustafsson, com sementes de *Pinus sylvestris* L. e fundamentando-se no princípio no qual a semente é submetida a um feixe de radiação, na faixa espectral dos raios X, proveniente de uma fonte emissora. Ao atravessarem as sementes e atingirem o filme, os raios permitem a formação de uma imagem caracterizada por diferentes níveis de cinza. O princípio da técnica 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 (ISTA, 2004). Essa técnica é recomendada pela *International Seed Testing Association* (ISTA) que a considera um método rápido e não destrutivo, sendo recomendado com a finalidade básica de detectar sementes cheias, vazias, com danos mecânicos ou ataques por insetos.

Foi comprovada a eficiência da técnica de raios X em diversos trabalhos, como por exemplo: avaliação da morfologia interna em sementes de ipê amarelo (*Tabebuia serratiolia*) e ipê roxo (*Tabebuia impetiginosa*) (OLIVEIRA et al., 2004), caracterização morfológica de embriões de *Tecoma Stans* (SOCOLOSWSKY; CICERO, 2008), identificação de sementes cheias, vazias, danificadas morfológicamente e para caracterizar e detectar danos internos em sementes (CICERO et al., 1998), danos mecânicos em sementes de soja (FLOR et al., 2004) e de milho (CICERO; BANZATTO JUNIOR, 2003), danos mecânicos e por insetos em soja (PINTO et al., 2009), avaliação de fissuras em sementes de arroz (MENEZES et al., 2012), avaliação na qualidade de sementes de mamona (KOBORI; CICERO; MEDINA, 2012) e injúrias mecânicas em sementes de milho doce (GOMES JUNIOR; CICERO, 2012), entre outros.

Dentre essas diferentes possibilidades de uso citadas, o teste de raios X também tem sido realizado com sucesso para relacionar a morfologia interna da semente com a germinação ou a morfologia de plântulas de tomate (van der BURG et al., 1994), pimentão (DELL'ÁQUILLA, 2007; GAGLIARDI; MARCOS FILHO, 2011), canafístula (OLIVEIRA,

2003), cipreste italiano (BATTISTI et al., 2000) e aroeira branca (MACHADO; CICERO, 2003).

A análise de imagens tem sido considerada eficiente para avaliação de danos mecânicos em sementes, pois é um método preciso (as sementes podem ser examinadas individualmente em imagens ampliadas que poderão indicar, em detalhes, a área danificada, sua extensão e localização). Também, a baixa dose de radiação absorvida durante o teste de raios X não causa mutações genéticas na semente e não afeta a sua germinação (SIMAK; GUSTAFSSON, 1953; BINO; AARTSE; van der BURG, 1993). Assim, a semente submetida à análise pode ser colocada para germinar e permitir o estabelecimento de relações entre a ocorrência de injúrias e o prejuízo causado à germinação.

Deste modo, o objetivo desta pesquisa foi verificar a relação existente entre a morfologia interna de sementes de girassol e a germinação.

2.2 Desenvolvimento

2.2.1 Material e Métodos

A pesquisa foi desenvolvida nos Laboratórios de Análise de Imagens e de Análise de Sementes do Departamento de Produção Vegetal (LPV) da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), em Piracicaba - SP. Foram utilizados dez lotes de sementes de girassol do cultivar Catissol 01 e conduzidas as avaliações discriminadas a seguir.

2.2.1.1 Teor de água

Determinado antes da instalação dos diferentes testes, pelo método da estufa a 105 °C (± 3 °C), durante 24 horas (BRASIL, 2009), em duas amostras de 0,5 g. Os resultados foram expressos em porcentagem média (base úmida) por lote.

2.2.1.2 Teste de raios X

Duzentas sementes de cada lote foram colocadas sobre fita adesiva transparente dupla face em uma transparência plástica; as sementes foram numeradas de acordo com a posição ocupada de maneira que pudessem ser identificadas nas determinações posteriores (todas as sementes foram posicionadas com a região do eixo embrionário voltado para baixo). Em seguida, a transparência 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, Hard Disk de 160 GB) e monitor MultiSync (LCD1990SX de 17 polegadas) e submetidas a uma distância de 28,6 cm da fonte de emissão de radiação. Após a geração das imagens, as mesmas foram salvas no disco rígido do computador para posterior análise. As sementes foram retiradas da transparência e transferidas para bandeja acrílica com células individuais, numerando-se na mesma ordem em que estavam nas imagens de raios X. Em seguida, foram submetidas ao teste de germinação, conforme descrito no item 2.2.1.3

Na Tabela 2.1, pode-se observar os critérios adotados para a atribuição das notas relativas à ocorrência de danos mecânicos, mal formação do embrião e danos relacionados à presença de tecidos deteriorados nas sementes e observando as imagens radiográficas destas foram atribuídos notas seguindo a classificação modificada de Cicero et al. (1998). Dessa forma, as possíveis notações foram 1.1, 1.2, 1.3, 2.1, 2.2, 2.3, 3.1, 3.2 e 3.3, correspondendo o primeiro e o segundo número de cada notação, a região do eixo embrionário e aos cotilédones, respectivamente.

Tabela 2.1 - Critérios utilizados para caracterizar as notas para os níveis de danos mecânicos, mal formação do embrião e tecidos deteriorados observados na região do eixo embrionário e nos cotilédones das sementes, nas imagens de raios X

Nota	Região do eixo embrionário	Cotilédones
1	Ausências de danos mecânicos, de mal formação e de tecidos deteriorados.	Ausências de danos mecânicos, de mal formação e de tecidos deteriorados.
2	Danos mecânicos sem atingir a região do eixo embrionário, sementes mal formadas na região do eixo embrionário que não prejudiquem a germinação e tecidos deteriorados em pequenas porções que não atinjam a região do eixo embrionário (dano não severo).	Danos mecânicos de pequena extensão sem a perda de parte dos cotilédones, sementes mal formadas nos cotilédones que não prejudiquem a germinação e tecidos deteriorados em pequenas porções que não atinjam os cotilédones (dano não severo).
3	Danos mecânicos em maior extensão que provoquem a secção da região do eixo embrionário, sementes mal formadas na região do eixo embrionário que prejudiquem a germinação e tecidos deteriorados em grandes porções (dano severo).	Danos mecânicos em maior extensão resultantes na perda de parte dos cotilédones, sementes mal formadas nos cotilédones que prejudique a germinação e tecidos deteriorados em grandes porções (dano severo).

2.2.1.3 Teste de germinação

Foi realizado em substrato papel-toalha “germitest” umedecido com água destilada na proporção de 1: 2,5 (papel: água). As sementes, previamente numeradas, foram distribuídas sobre duas folhas do papel (no terço superior, para permitir o desenvolvimento das plântulas de maneira individualizada) e cobertas com mais uma folha. Os rolos foram levados ao germinador a 25 °C e a avaliação foi realizada no quarto dia após a semeadura (BRASIL, 2009). As plântulas normais, anormais e as sementes mortas foram retiradas do papel e fotografadas com câmera fotográfica digital marca Nikon modelo D10 acoplada ao computador. As imagens foram salvas em disco rígido do computador para posterior análise.

Os dados provenientes da análise de imagens não foram analisados estatisticamente. A interpretação dos resultados de raios X foi feita por meio de confronto das imagens radiográficas com as perspectivas imagens das plântulas normais, plântulas anormais e sementes mortas.

2.3 Resultados e Discussão

O teor de água das sementes de girassol variou de 9,5 % a 10,6 % para todos os lotes (Tabela 2.2). De acordo com Simak (1991), o grau de umidade das sementes influencia a densidade ótica, ou seja, quanto menor a umidade, maior a densidade ótica, o que possibilita maior diferenciação das partes internas das sementes visualizadas nas radiografias.

Souza et al. (2008) avaliando sementes de jacarandá-branco (*Platypodium elegans* Vog) e Korobi, Cicero e Medina (2012) avaliando sementes de mamona (*Ricinus communis* L.) verificaram que o baixo teor de água das sementes (6 % a 8 %) e (5 % a 7 %), respectivamente, levou a uma maior densidade ótica, possibilitando melhor diferenciação das partes radiografadas. Porém, para Gagliardi e Marcos Filho (2011), o teste de raios X com sementes de pimentão relativamente secas (6 % de água), na maioria dos casos, não permitiu a visualização nítida das partes componentes das sementes, o que foi possível quando essas tinham 12 % de água. Da mesma maneira, Pupim et al. (2008) não identificaram as partes do embrião, uma vez que as sementes de embaúba apresentavam 10 % de água. É importante destacar que cada espécie possui características próprias de densidade e composição, que são fatores que interferem na visualização das partes das sementes.

Tabela 1 - Resultados do teor de água (%) dos dez lotes de sementes de girassol avaliados

Lotes	Teor de água
1	9,8
2	10,2
3	10,5
4	9,5
5	10,4
6	9,7
7	9,6
8	10,1
9	10,6
10	10,2

Para sementes de girassol, houve clara visualização do pericarpo, tecido que circula o embrião, no entanto, não foi possível verificar o eixo embrionário com nitidez, e por isso foi utilizado o termo região do eixo embrionário para se referir a essa parte da semente (Figura 2.1).

Figura 2.1 - Identificação das partes da semente de girassol: per: pericarpo, ct: cotilédones e rex: região do eixo embrionário

O exame simultâneo das imagens interna (raios X da semente) e das respectivas plântulas normais, anormais ou sementes mortas observadas no teste de germinação, permitiu proceder a um diagnóstico para cada caso estudado. É importante destacar que embora tenha ocorrido, de maneira geral, baixas incidências de danos mecânicos, mal formação do embrião e de manchas escurecidas nas sementes, estes, quando foram considerados severos, proporcionaram prejuízos ao potencial fisiológico das sementes, uma vez que, sempre resultaram em plântulas anormais ou em sementes mortas (Tabela 2.3).

Por outro lado, observando a Tabela 2.3, pode-se verificar que as sementes que não apresentaram danos mecânicos, mal formação do embrião e tecidos deteriorados (nota 1.1) resultaram, na maioria dos casos, em plântulas normais, tendo destaque para o lote 10 com 91 %. No caso das plântulas anormais, cujas sementes não apresentavam danos severos tanto na região do eixo embrionário como nos cotilédones (nota 1.1), os lotes 4 e 7 foram os de maiores porcentagem (5 % para ambos), enquanto que o lote 2 foi o que teve maior porcentagem de sementes mortas (4 %).

Não foram constatadas a presença de danos mecânicos, mal formação do embrião e tecidos deteriorados classificados nas notas 2.1, 2.3 e 3.1. No entanto, para a nota 2.2 (danos mecânicos, mal formação do embrião e tecidos deteriorados pouco severo presentes tanto na região do eixo embrionário como nos cotilédones), destacou o lote 4 com 1 % de plântulas normais (Tabela 2.3).

Observando ainda a Tabela 2.3, verifica-se que as notas 3.2 (danos mecânicos, mal formação do embrião e de tecidos deteriorados classificados como severos na região do eixo embrionário e não severos nos cotilédones) e 3.3 (danos mecânicos, mal formação do embrião e tecidos deteriorados classificados como severos presentes tanto na região do eixo embrionário como nos cotilédones), apresentaram uma relação entre essas ocorrências e as plântulas anormais resultantes do teste de primeira contagem de germinação, onde se destacou o lote 4 com 2 %. As sementes classificadas nas notas 3.2 e 3.3, também se relacionaram com as sementes mortas, destacando, o lote 4 com maior porcentagem (2 %); para a nota 3.3, apenas o lote 7 apresentou maior porcentagem de sementes mortas (2 %).

Tabela 2.3 - Porcentagem de sementes de girassol, cultivar Catissol 01, avaliadas por meio do teste de raios X que receberam notas baseadas na presença ou ausência de danos mecânicos, mal formação do embrião e tecidos deteriorados e que originaram plântulas normais (PN), plântulas anormais (PA) e sementes mortas (SM) na primeira contagem de germinação (continua)

LOTE		Notas ¹								
		1.1	1.2	1.3	2.1	2.2	2.3	3.1	3.2	3.3
1	PN	76	8	-	-	-	-	-	-	-
	PA	3	6	-	-	-	-	-	-	-
	SM	2	4	-	-	-	-	-	-	1
2	PN	75	14	-	-	-	-	-	-	-
	PA	3	1	2	-	-	-	-	-	-
	SM	4	-	1	-	-	-	-	-	-

Tabela 2.3 - Porcentagem de sementes de girassol, cultivar Catissol 01, avaliadas por meio do teste de raios X que receberam notas baseadas na presença ou ausência de danos mecânicos, mal formação do embrião e tecidos deteriorados e que originaram plântulas normais (PN), plântulas anormais (PA) e sementes mortas (SM) na primeira contagem de germinação (conclusão)

LOTE		Notas ¹								
		1.1	1.2	1.3	2.1	2.2	2.3	3.1	3.2	3.3
3	PN	74	17	-	-	-	-	-	-	-
	PA	3	-	2	-	-	-	-	-	-
	SM	2	-	1	-	-	-	-	-	1
4	PN	69	7	-	-	1	-	-	-	-
	PA	5	2	6	-	-	-	-	1	1
	SM	2	1	3	-	-	-	-	1	1
5	PN	89	9	-	-	-	-	-	-	-
	PA	1	-	1	-	-	-	-	-	-
	SM	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	PN	78	11	-	-	-	-	-	-	-
	PA	6	1	-	-	-	-	-	-	-
	SM	-	2	2	-	-	-	-	-	-
7	PN	78	9	-	-	-	-	-	-	-
	PA	5	3	-	-	-	-	-	-	-
	SM	1	-	2	-	-	-	-	-	2
8	PN	79	14	-	-	-	-	-	-	-
	PA	2	1	1	-	-	-	-	-	-
	SM	1	-	1	-	-	-	-	-	1
9	PN	71	24	-	-	-	-	-	-	-
	PA	1	1	-	-	-	-	-	-	1
	SM	-	1	1	-	-	-	-	-	-
10	PN	91	9	-	-	-	-	-	-	-
	PA	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	SM	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹ O primeiro número se refere a região do eixo embrionário e o segundo aos cotilédones. As notações 1, 2 e 3 correspondem, respectivamente, a ausência de dano, dano não severo e dano severo

Na Tabela 2.4, estão contidos os principais tipos de danos mecânicos, mal formação do embrião e tecidos deteriorados observados de um total de 2.000 sementes avaliadas pelas imagens de raios X. Como por exemplo, sementes que pelo teste de raios X receberam nota 3.2 foram caracterizadas por trincas ou fissuras, mal formação do embrião e tecidos deteriorados em toda parte da semente.

Tabela 2.4 - Descrição e percentual de ocorrência dos principais tipos de danos observados em sementes de girassol avaliadas por meio do teste de raios X

Descrição dos danos	Ocorrência ¹	Exemplos
Trincas ou fissuras nos cotilédones, sem atingir a região do eixo embrionário (notas 1.2 e 1.3)	0,75 %	Figura 2.4a
Trincas ou fissuras em quase toda a semente (notas 2.2, 2.3, 3.2 e 3.3)	0,30 %	Figuras 2.5a, 2.5c e 2.6a
Mal formação ou rupturas nos cotilédones, sem atingir a região do eixo embrionário (notas 1.2 e 1.3)	2,15 %	Figura 2.7a
Mal formação na região do eixo embrionário e nos cotilédones (notas 2.2, 2.3, 3.2 e 3.3)	0,05 %	Figura 2.8a
Tecidos deteriorados nos cotilédones, sem atingir a região do eixo embrionário (notas 1.2 e 1.3)	13,6 %	Figura 2.3a
Tecidos deteriorados em toda a semente (3.3)	0,15 %	Figuras 2.2a e 2.2b

¹Percentual em relação ao total de 2.000 sementes avaliadas

Entre as sementes analisadas, aquelas que foram notificadas como ausência de danos na região do eixo embrionário e danos não severos e, ou severos nos cotilédones (notas 1.2 e 1.3), representados pelas manchas escurecidas (associadas aos tecidos deteriorados), foram as de maior ocorrência, com 13,6 %. Por outro lado, as sementes que apresentavam mal formação em todas as suas partes tiveram menores ocorrências, com 0,05 % (Tabela 2.4).

Na Figura 2.2, observa-se danos severos ocasionados por tecidos deteriorados em todas as partes das sementes (Figuras 2a e 2b), resultando em sementes mortas (Figura 2c) e plântula anormal (Figura 2d). É importante ressaltar que a maioria das sementes que apresentavam danos por deterioração na região do eixo embrionário originaram sementes mortas ou plântulas anormais. Essa constatação também foi observada por Mondo e Cicero (2005) em sementes de milho localizadas em diferentes posições na espiga, em que os autores verificaram que a presença destas alterações (manchas escuras na região do embrião) resultaram em plântulas anormais ou em sementes mortas. Porém, as manchas que atingiram apenas os cotilédones (Figura 2.3a), originaram em sua maioria, plântula normal (Figura 2.3b).

Ainda na Tabela 2.4, pode-se observar que os danos mecânicos, como as trincas ou fissuras nos cotilédones, sem atingir a região do eixo embrionário (notas 1.2 e 1.3) apresentou 0,75 % do total de sementes analisadas. Destaca-se que nesta pesquisa também foram observadas sementes com danos mecânicos (trincas) e que também apresentavam manchas escuras associadas a tecidos deteriorados, como na Figura 2.4a, ressalta-se que essas trincas e manchas não atingiram a região do eixo embrionário e os danos nos cotilédones não foram

severos ao ponto de prejudicar a germinação, originando assim, uma plântula normal (Figura 2.4b). Isto demonstra a importância de se controlar a ocorrência de danos mecânicos nas sementes, visto que, podem se constituir em via de acesso para a incidência de fungos e, por conseguinte, a deterioração dos tecidos de reserva das sementes.

Em contrapartida, na Figura 2.5, o dano severo (1.3) observado próximo da região do eixo embrionário (Figura 2.5a) é muito importante, pois impede a translocação de reservas nutricionais dos cotilédones para a região meristemática, resultado em plântula anormal (Figura 2.5b). Nesta pesquisa também foram observados que outras sementes que apresentaram ruptura ou até mesmo a perda de 30 % a 40 % do cotilédone (análise visual), geralmente resultaram em plântulas anormais ou sementes mortas, como também teve caso em que houve perda total da região do eixo embrionário (Figura 2.5c) e consequentemente, originou semente morta (Figura 2.5d).

Por outro lado, foram observadas plântulas normais (Figura 2.6b) provenientes de sementes com rupturas ou perdas de parte dos cotilédones (Figura 2.6a); nestes casos, as plântulas apresentavam menor tamanho em relação às oriundas de sementes intactas ou com danos não severos restritos aos cotilédones.

Utilizando a análise de imagens para identificar os efeitos dos danos mecânicos sobre a germinação de sementes de milho, Cicero et al. (1998) constataram que as rupturas presentes no endosperma, causando restrições na translocação de nutrientes para o eixo embrionário, ou as que ocorriam diretamente sobre o eixo embrionário, eram as que afetavam negativamente a germinação das sementes.

Na Tabela 2.4, pode-se observar que 2,15 % das sementes que apresentaram mal formação ou rupturas nos cotilédones sem atingir a região do eixo embrionário (Figura 2.7a), originaram plântulas normais (Figura 2.7b). Ainda nesta tabela observa-se também que ocorreu baixa porcentagem de sementes com mal formação na região do eixo embrionário e nos cotilédones (0,05 %), com ilustra a figura 2.8a, e que originaram plântulas anormais (Figura 2.8b). É importante destacar que durante o processo de maturação, ocorrem transformações morfológicas, fisiológicas, bioquímicas e físicas nas sementes, como aumento de tamanho, alteração no teor de água, acúmulo de massa de matéria seca e modificações no poder germinativo e no vigor das sementes (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000), e no caso das sementes de girassol, a maturação é desuniforme no capítulo (BITTENCOURT et al., 1991).

Ainda nesse contexto é importante ressaltar que a síntese de proteínas e as atividades respiratórias iniciais envolvem componentes armazenados na semente durante a maturação

(NONOGAKI; BASSEL; BEWLEY, 2010); assim sendo, sementes com cotilédones menos desenvolvidos ou deteriorados, no caso de girassol que armazenam suas reservas neste tecido, tendem originar plântulas anormais ou sementes mortas, pois necessitam desses tecidos para iniciar a germinação.

Figura 2.2 - Imagens radiográficas de sementes de girassol, apresentando tecidos deteriorados na região do eixo embrionário e nos cotilédones (nota 3.3 a, b), originando, respectivamente, semente morta (c) e plântula anormal (d)

Figura 2.3 - Imagem radiográfica de sementes de girassol, apresentando ausência de tecido deteriorado na região do eixo embrionário e tecido deteriorado não severo nos cotilédones (a) (nota 1.2), originando plântula normal (b)

Figura 2.4 - Imagem radiográfica de semente de girassol, com ausência de dano na região do eixo embrionário e dano mecânico e tecido deteriorado não severos na região dos cotilédones (a) (nota 1.2), originando plântula normal (b)

Figura 2.5 - Imagens radiográficas de sementes de girassol, com dano próximo da região do eixo embrionário (a), originando plântula anormal (b) (nota 1.3) e dano mecânico severo na região do eixo embrionário e não severo nos cotilédones (c), originando semente morta (d) (nota 3.2)

Figura 2.6 - Imagem radiográfica de girassol, com ausência de dano na região do eixo embrionário e dano mecânico não severo nos cotilédones (a) (nota 1.2), originando plântula normal (b)

Figura 2.7 - Imagem radiográfica de semente de girassol, com ausência de dano na região do eixo embrionário e mal formação do embrião nos cotilédones (a) (nota 1.2), originando plântula normal (b)

Figura 2.8 - Imagem radiográfica de semente de girassol, com mal formação do embrião na região do eixo embrionário e nos cotilédones (a) (nota 3.3), originando plântula anormal (b)

Há de se considerar também os efeitos dos danos mecânicos, que pode ocorrer a partir de lesões nos tecidos da semente não identificadas pelo teste de raios X. Conforme Burg et al. (1994), algumas sementes que possuem características normais no teste de raios X (Figura 2.9a), podem apresentar problemas na germinação, possivelmente por infecções invisíveis com microrganismos e sementes fisiologicamente comprometidas ou mortas, devido à deterioração (Figura 2.9b).

Segundo Carvalho e Oliveira (2006), a técnica de radiografia não detecta todos os problemas de qualidade da semente, 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.

Figura 2.9 - Imagem radiográfica de semente de girassol, com ausência de danos mecânicos nas partes da semente (a) (nota 1.1), originando plântula anormal (b)

Diante do exposto, o teste de raios X apresentou eficiência na avaliação da morfologia interna das sementes de girassol e pôde-se verificar que a presença de danos mecânicos, mal formação do embrião e de tecidos deteriorados considerados severos na região do eixo embrionário e nos cotilédones resultaram em plântulas anormais ou em sementes mortas. Resultados semelhantes foram encontrados por Pinto, Cicero e Forti (2007), que verificaram que a presença de dano severo que ocorre no eixo embrionário ou nos cotilédones, compromete diretamente a germinação da semente de soja, proporcionando a ocorrência de plântula anormal ou de semente morta.

Nesta pesquisa também foi possível estabelecer relações entre a severidade dos danos mecânicos, mal formação do embrião e tecidos deteriorados e seus efeitos sobre o potencial fisiológico das sementes. Ficou evidente que essas ocorrências nos cotilédones, classificados como pouco severos, de maneira geral não prejudicaram o potencial fisiológico da semente; entretanto, quando essas ocorrências incidem sobre a região do eixo embrionário o resultado foi o desenvolvimento de plântulas anormais ou a morte das sementes.

2.4 Considerações Finais

Pode-se observar que, de maneira geral, a avaliação da morfologia interna de sementes, obtidas por meio de imagens de raios X, foi importante tanto para a caracterização de espécie pouco estudadas (como espécies florestais), quanto para a melhoria da qualidade de lotes de sementes, no que se diz respeito ao seu atributo físico e fisiológico. Desta maneira, o objetivo do trabalho de relacionar a morfologia interna de sementes de girassol com a germinação foi alcançado.

Ainda nesse contexto, cabe ressaltar que em todos os trabalhos consultados, a emissão dos raios X nas sementes não danificou as mesmas e possibilitou o exame das suas partes, sendo então, considerada essa técnica importante no sentido do desenvolvimento de métodos não destrutivos de análise de sementes para serem integrados aos programas de controle de qualidade das empresas produtoras.

2.5 Conclusão

A análise de imagens de raios X é eficiente na identificação de danos mecânicos, mal formação do embrião e danos associados com tecidos deteriorados em sementes de girassol, permitindo estabelecer as relações entre sua ocorrência e os prejuízos causados à germinação.

Referências

- BATTISTI, A.; CANTINI, R.; FECI, E.; FRIGIMELICA, G.; GUIDO, M.; ROQUES, A. Detection and evaluation of seed damage of cypress, *Cupressus semprevirens* L. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 28, n. 3, p. 729-738, 2000.
- BINO, R.J.; AARTSE, J.W.; VAN DER BURG, W.J. Non destructive X-ray of Arabidopsis embryo mutants. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, p. 167-170, 1993.
- BITTENCOURT, J.F.N.; SADER, R.; UNGARO, M.R.G.; TOLEDO, N.M.P. Maturação fisiológica de sementes de girassol cv. Contisol. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 13, n. 2, p. 81-85, mar./abr. 1991.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: 2009. 395 p.
- BURG, W.J. van der; 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**, Alexandria, v. 119, n. 2, p. 258-263, 1994.
- 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, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: Funep, 2000. 588 p.
- 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**, Londrina, v. 25, n. 1, p. 29-36, 2003.
- CICERO, S.M.; HEIJDEN, G.W.A.M.; BURG W.J. van der, BINO, R.J. Evaluation of mechanical damages in seeds of maize (*Zea mays* L). by X-ray and digital imaging. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 26, n. 2, p. 603-612, 1998.

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

FLOR, E.P.O.; CICERO, S.M.; FRANÇA NETO, J.B.; FKRZYZANOWSKI, 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.

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, July/Aug. 2011.

GOMES JUNIOR, F.G.; CICERO, S.M. X-Ray analysis to assess mechanical damage in sweet corn seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v. 34, n. 1 p. 78-85, 2012.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **International rules for seed testing**, Zurich, 2004. 174 p.

JOKER, D.; JEPSEN, J. *Jatropha curcas* L. seed leaflet. **Humbleback**, Denmark, v. 83, n. 2, p. 1-2, 2003.

KOBORI, N.N.; CICERO, S.M.; MEDINA, P.F. Teste de raios X na avaliação da qualidade de sementes de mamona. **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v. 34, n. 1 p. 125-133, 2012.

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.; GOMES JUNIOR, F.G.; BENNETT, M.A.; WELLS, A.A.; STIEVE, S. Using tomato analyzer software to determine embryo size in X-ray seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v. 32, n. 2 p. 146-153, 2010.

MENEZES, N.L.; CICERO, S.M.; VILLELA, F.A.; BORTOLOTO, 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.

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**, Pelotas, v. 27, n. 1, p. 9-18, 2005.

NONOGAKI, H.; BASSEL, G.W.; BEWLEY, J.D. Germination – Still a mystery. **Plant Science**, 2010. In press.

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**, Lavras, 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**, Pelotas, v. 26, n. 2, p. 138-143, 2004.

PINTO, T.L.F.; CICERO, S.M.; FORTI, V.A. Avaliação de danos por umidade, em sementes de soja, utilizando a técnica da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 29, n. 3, p.28-34, 2007.

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**, Lavras, v. 31, n. 2, p.195-2001, 2009.

POZZI, C.R.; BRAGHINI, R.; BRAGHINI, R.; ARCARO, R.P.; ZORZETE, P.; ISRAEL, A.L.M.; POZAR, I.O.; DENUCCI, S.; CORRÊA, B. Mycoflora and occurrence of alternariol and alternariol monomethyl ether in Brazilian sunflower from sowing to harvest. **Journal of Agricultural and food Chemistry**, Easton, v. 53, p. 5824-5828, 2005.

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**, Lavras, v. 30, n. 2, p. 28-32, 2008.

SIMAK, M. Testing of forest tree and shrub seeds by X-radiography. In: GORDON, A.G.; GOSLING, P.; WANG, B.S.P. (Ed.) **Tree and shrub seed handbook**. Zurich: ISTA, 1991. p. 1-28.

SIMAK, M.; GUSTAFSSON, A. X-ray photography and sensitivity in forest tree species. **Hereditas**, Landskroma, v. 39, n. 3/4, p. 458-468, 1953.

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**, Lavras, v. 30, n. 2, p.200-208, 2008.

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, abr./jun. 2008.

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

VENKTESH, A.; PRAKASH, V. Functional properties of the total proteins of sunflower *Helianthus annuus* L.) seed – effect of physical and chemical treatments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 41, p. 18-23, 1993.

3 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FISIOLÓGICO DAS SEMENTES DE GIRASSOL UTILIZANDO SISTEMA COMPUTADORIZADO DE ANÁLISE DE IMAGENS DE PLÂNTULAS

Resumo

Os testes de vigor fornecem informações importantes para avaliar a qualidade dos lotes de sementes, sendo que a velocidade e a uniformidade de emergência de plântulas são determinantes para o estabelecimento do estande no campo. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência do sistema computadorizado de análise de imagens de plântulas (*Seed Vigor Imaging System* – SVIS[®]), em comparação com os outros testes recomendados para determinação do vigor de sementes de girassol. Para esta pesquisa, foram utilizados dez lotes de sementes do cultivar Catissol 01, realizada em duas épocas, com intervalo de 4 meses, sendo que para a segunda época, os lotes de sementes foram armazenados em condições de ambiente não controlado e em câmara fria e seca (10 °C e 30 % de umidade relativa do ar). Em cada época, a avaliação do potencial fisiológico foi efetuada usando-se os testes de germinação e de vigor tradicionalmente utilizados para sementes de girassol (primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, emergências de plântulas em campo e em areia e velocidade de emergência em areia), além da análise sanitária nas sementes. Os resultados dos testes de vigor tradicionais foram comparados com os dados obtidos com o uso do *software* SVIS[®], que avaliou o desenvolvimento de plântulas escaneadas, mediante a obtenção de valores de índices de vigor, de uniformidade de desenvolvimento e de crescimento de plântulas obtidas aos três dias após a semeadura. Com os resultados obtidos, verificou-se que a análise computadorizada de imagens de plântulas é eficiente para avaliação do vigor de sementes de girassol, constituindo-se em alternativa importante para obtenção de informações consistentes sobre o seu potencial fisiológico.

Palavras-chave: *Helianthus annuus* L.; Análise de imagens; Vigor; SVIS[®]

Abstract

Vigor tests provide important information for assessing the quality of seed lots, being that speed and uniformity of seedling emergence are determinants to the establishment of the crop in the field. Therefore, this study aimed to evaluate the efficiency of computerized image analysis of seedling (*Seed Vigor Imaging System* – SVIS[®]) compared with the other recommended tests to determine vigor in sunflower seeds. For that purpose, ten seed lots of cultivar Catissol 01 were used and the experiment was carried out in two seasons, with an interval of four months. For the second season, the seed lots were stored at room temperature and in a refrigerated dried chamber (10°C and 30% relative humidity). In each season, the physiological potential was assessed using tests of germination and vigor traditionally used for sunflower seeds (first count of germination, accelerated aging, seedling emergence in the field and in sand and emergence speed in sand), besides the sanitary analysis of the seeds. The results of the vigor tests traditionally used were compared with data obtained using the *software* SVIS[®], which evaluated the scanned seedling development by obtaining the index values of vigor, growth uniformity of development of seedlings obtained three days after sowing. The results showed that the digital image analysis is effective to analyze seedling vigor of sunflower seeds, which makes it an important alternative to obtain reliable information about the physiological potential.

Keywords: *Helianthus annuus* L.; Image analysis; Vigor; SVIS®

3.1 Introdução

O girassol (*Helianthus annuus* L.), juntamente com a soja e a canola, possui importância na economia mundial, apresentando-se como uma das três maiores produtoras de óleo do mundo (FAGUNDES, 2009). No Brasil, o cultivo do girassol tem aumentado significativamente nos últimos anos, pois visa atender à produção de biodiesel e o mercado de óleo comestível. A estimativa da área cultivada com girassol na safra 2011/12 deve ficar em 74,6 mil hectares, sendo o Mato Grosso, Goiás, Mato Grosso do Sul e o Rio Grande do Sul, os maiores produtores (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2012).

As sementes de girassol estão entre as principais oleaginosas cultivadas no mundo. O teor de óleo varia entre 38 % e 50 %, enquanto o teor de proteínas varia entre 20 % e 25 %. O farelo, com ou sem a remoção de óleo, fornece um material básico para ser utilizado numa ampla variedade de alimentos protéicos (VENKTESH; PRAKASH, 1993). No Brasil, sua produção tem se expandido nos últimos anos visando atender o crescimento do mercado interno para o consumo de óleo comestível e ração animal (POZZI et al., 2005).

Além de planta ornamental, o girassol é também fonte de energia alternativa (ROVERI JOSÉ et al., 2009), apresentando viabilidade técnico-ambiental na produção de biodiesel, o que exigirá grandes áreas de cultivo e aumento da produtividade, para atender a demanda (FAGUNDES, 2009). No entanto, para que isso aconteça de forma eficaz, é necessário utilização de insumos agrícolas, como o uso de sementes de alta qualidade para o adequado desenvolvimento das plântulas, imprescindível para a obtenção de lavouras com elevadas produtividades. Alguns estudos (MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009, OLIVEIRA; NOVEMBRE, 2005; VIEIRA; CARVALHO; MACHADO, 1999) têm buscado adequar tecnologias para avaliação do potencial fisiológico das sementes, para facilitar a interpretação dos resultados e auxiliar no controle de qualidade em diversos segmentos da produção de sementes, garantindo ao produtor o uso de sementes de alta qualidade comprovada.

O potencial fisiológico de sementes pode ser avaliado por meio dos testes de germinação e de vigor. O objetivo do teste de germinação é determinar o potencial máximo de germinação de sementes de um lote, o qual pode ser usado para comparar a qualidade de diferentes lotes e, também, estimar o valor para semeadura em campo (BRASIL, 2009). A *Association of Official Seed Analysts* (AOSA, 1983) conceitua vigor de sementes como a

soma dos atributos determinantes do potencial para a emergência rápida e uniforme de plântulas normais sob ampla diversidade de condições ambientais. Assim, a estimativa do comportamento das sementes pode ser mais eficiente quando as informações sobre o vigor são obtidas pela combinação de testes, pois torna-se muito difícil que apenas um teste possa indicar, com certa precisão, o potencial de desempenho das sementes expostas a variadas situações (TEKRONY, 2003; MARCOS FILHO, 2005).

Na análise do vigor de sementes busca-se o uso de procedimentos que sejam de baixo custo, de fácil execução e que permitam a obtenção de resultados confiáveis em curto espaço de tempo. Embora alguns testes de vigor produzam resultados confiáveis, sempre há espaço para a continuidade da pesquisa e aprimoramento de metodologia ou inclusão de alternativas inovadoras (MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009), como as análises automatizadas de imagens de sementes e de plântulas.

A literatura tem documentado vários estudos envolvendo a análise de imagens em Tecnologia de Sementes, visando estabelecer a relação com o vigor de sementes (MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009). Neste sentido, McCormac et al. (1990) demonstrou a viabilidade do uso de um sistema automático para a determinação do vigor de sementes de couve-flor, mediante a avaliação individual do comprimento da raiz primária das plântulas. Mais recentemente, Sako et al. (2001) desenvolveram um programa destinado à determinação do vigor de sementes de alface, mediante a análise computadorizada de imagens de plântulas (*Seed Vigor Imaging System* - SVIS[®]). Esse programa também foi utilizado com sucesso para a avaliação do vigor de sementes de outras espécies como soja (HOFFMASTER et al., 2003; MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009), milho (OTONI; McDONALD, 2005; GOMES JUNIOR et al., 2009) e melão (MARCOS FILHO et al., 2006).

O procedimento para avaliação do vigor de sementes por meio do SVIS[®] é simples e os resultados da análise de imagens para uma amostra de 50 sementes, podem ser obtidos dentro de dois a três minutos; outras vantagens deste sistema incluem menor subjetividade da análise pelo analista, aumentando a confiabilidade dos dados para fins de comparação, a possibilidade de arquivamento das imagens para análise posterior e o baixo custo, que é equivalente ao do teste de germinação (GOMES JUNIOR et al., 2009).

Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o potencial fisiológico de sementes de girassol, incluindo o sistema computadorizado de análise de plântulas (SVIS[®]), com o intuito de testar a sua eficiência em comparação com procedimentos tradicionalmente utilizados.

3.2 Desenvolvimento

3.2.1 Material e Métodos

A pesquisa foi realizada nos Laboratórios de Análise de Sementes e Análise de Imagens do Departamento de Produção Vegetal e, também, no Laboratório de Patologia de Sementes do Departamento de Fitopatologia e Nematologia, todos pertencentes à Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, em Piracicaba-SP. Foram utilizadas sementes de girassol do cultivar Catissol 01, sem tratamento químico, representadas por 10 lotes que assim que foram adquiridas (primeira época) foram avaliadas quanto ao grau de umidade, à germinação, à primeira contagem de germinação, ao envelhecimento acelerado, à emergência de plântulas em areia e em campo, à velocidade de emergência em areia, à análise de imagens de plântulas pelo sistema *Seed Vigor Imaging System* (SVIS[®]) e à sanidade. Posteriormente, as sementes foram divididas em duas amostras homogêneas e transferidas para embalagens de papel multifoliado Kraft[®] e armazenadas pelo período de quatro meses em câmara fria e seca (10 °C e 30 % de umidade relativa do ar) e em ambiente não controlado; após este período o potencial fisiológico das sementes foi avaliado com os mesmo testes da primeira época. Foi realizado o monitoramento da temperatura e da umidade relativa do ar, nos dois ambientes durante todo o período de armazenamento por meio dos registros em termohigrógrafo.

3.2.1.1 Avaliações do grau de umidade, germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, emergência de plântulas em areia e em campo, velocidade de emergência em areia e sanidade.

3.2.1.2 Determinação do grau de umidade

Realizado antes da instalação dos testes e após o envelhecimento acelerado (procedimento tradicional), nas duas épocas, pelo método da estufa a 105 °C (± 3 °C), durante 24 horas (BRASIL, 2009), com duas repetições de 0,5 gramas para cada lote. Os resultados foram expressos em porcentagem (base úmida) por lote. Antes do início das avaliações da segunda época, foi realizada a uniformização do grau de umidade das sementes. Esse procedimento foi necessário porque as sementes permaneceram expostas a diferentes condições de armazenamento e apresentavam variações nos graus de umidade. Assim, as sementes que haviam sido armazenadas em câmara fria e seca foram mantidas em ambiente natural, não controlado, durante aproximadamente dez dias antes da instalação dos testes. Este fato é importante para a execução dos testes, porque a uniformização do teor de água das

sementes é imprescindível para a padronização e obtenção de resultados comparáveis (MARCOS FILHO, 1999).

3.2.1.3 Germinação

Quatro repetições de 50 sementes por lote foram semeadas, em rolo de papel toalha umedecidos com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato seco e mantidas a 25 °C. As avaliações foram realizadas aos 4 e aos 10 dias após a instalação do teste, de acordo com os critérios estabelecidos nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais para cada lote.

3.2.1.4 Primeira contagem de germinação

Registrada no teste de germinação (item 3.2.1.3), considerando-se a porcentagem de plântulas normais no quarto dia após a semeadura.

3.2.1.5 Envelhecimento acelerado

Conduzido com quatro repetições de 50 sementes por lote, utilizando-se caixas de plástico (11,0 cm x 11,0 cm x 3,0 cm) como compartimentos individuais (mini-câmaras), possuindo em seu interior suportes para apoio de uma tela metálica, onde as sementes foram distribuídas de maneira a formar camada simples. No interior de cada caixa foram adicionados 40 ml de água. As caixas foram tampadas e mantidas em câmara incubadora do tipo *Biochemical Oxygen Demand* (BOD) regulada a 41 °C, durante 72 horas (MARCOS FILHO, 1986). Após esse período, foi determinado o grau de umidade das sementes e realizado o teste de germinação segundo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). A contagem de plântulas normais foi realizada aos quatro dias após a semeadura e os resultados expressos em porcentual.

3.2.1.6 Emergência de plântulas em areia

Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por lote, distribuídas na superfície de uma camada de 5 cm de areia colocada em caixas plásticas (32 cm × 28 cm × 10 cm). Após a semeadura, a cobertura foi efetuada com uma camada de 2 cm de areia; o umedecimento do substrato foi efetuada com quantidade de água correspondente a 60 % da capacidade de retenção do substrato. As caixas foram expostas a temperatura ambiente

durante 14 dias, quando foi determinada a porcentagem média de emergência de plântulas para cada lote.

A velocidade de emergência de plântulas foi obtida registrando-se diariamente o número de plântulas emersas até décimo quarto dia após a semeadura. O índice de velocidade de emergência foi calculado de acordo com a fórmula proposta por Maguire (1962),

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

onde:

IVE: índice de velocidade de emergência;

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

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

3.2.1.7 Emergência de plântulas em campo

Conduzido com quatro repetições representadas por uma linha de 4 m de comprimento, onde foram distribuídas 50 sementes com espaçamento entre si de 8 cm e entre linhas de 50 cm, em sulcos de 7 cm de profundidade, cobertos com 3 cm de terra. A contagem das plântulas emersas foi realizada no décimo quarto dia após a semeadura, obtendo os resultados expressos em porcentagem.

3.2.1.8 Sanidade

O teste de sanidade foi realizado pelo método do papel de filtro (“Blotter-test”) com 4 repetições de 50 sementes por lote, as quais foram colocadas em placas de Petri (10 sementes por placa), contendo três folhas de papel de filtro previamente esterilizadas e umedecidas com água destilada. As placas contendo as sementes foram mantidas em câmara a 20 ± 2 °C, sob luz branca fluorescente alternada (12 horas de luz por 12 horas de escuro), durante sete dias. Para a identificação dos patógenos presentes nas sementes foram utilizados microscópio estereoscópio e microscópio ótico (BRASIL, 2009).

3.2.1.9 Análise de imagens de plântulas com o auxílio do sistema computacional *Seed Vigor Imaging System* (SVIS®)

Inicialmente foram realizadas avaliações preliminares para verificar o tamanho das plântulas mais adequado para análise, visando à obtenção rápida e eficiente das mesmas para a aquisição das imagens e avaliação pelo SVIS®. Foram testados os períodos de 2, 3 e 4 dias a

25 °C, em rolos de papel toalha, em presença e ausência de luz, sendo definido o período 3 dias de idade em ausência de luz como a melhor condição para obtenção de plântulas. Para obtenção das imagens, foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes semeadas em rolo de papel umedecido com a quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa seca do papel e mantidas em germinador no escuro a 25 °C por três dias. Em seguida as plântulas foram transferidas para uma folha de cartolina com coloração preta e dimensões de 30 cm × 22 cm e levadas a um scanner, modelo HP Scanjet 2004, montado de maneira invertida no interior de uma caixa de alumínio com 60 cm × 50 cm × 12 cm (Figura 1) para obtenção de imagens de 100 dpi. Posteriormente, as imagens foram analisadas com o uso do *software* (*Seed Vigor Imaging System*). Nessa análise, o eixo raiz primária-hipocótilo de cada plântula foi marcado em vermelho, no entanto, foram necessárias correções manuais, realizadas com auxílio do “mouse”, para partes das plântulas que não foram marcadas automaticamente. Após a análise e avaliação de cada plântula (Figura 2) o *software* gerou automaticamente valores numéricos referentes a um índice de vigor (valores de 0 a 1000, diretamente proporcionais ao vigor) e de uniformidade de desenvolvimento das plântulas (também de 0 a 1000). Esses valores foram baseados na rapidez e uniformidade de desenvolvimento das plântulas da amostra, parâmetros esses estabelecidos na programação do *software* (HOFFMASTER et al., 2003). Por outro lado, a uniformidade foi estabelecida em função do desvio em relação ao desenvolvimento padrão de plântulas com três dias de idade, também programado no *software*. Depois de computados esses valores, o cursor foi posicionado sobre cada plântula indicando automaticamente o valor correspondente ao comprimento da plântula em pixels. Após a tabulação dos resultados os mesmos foram transformados para cm, considerando-se que um pixel corresponde a 0,0254 cm; os valores dos comprimentos das plântulas são apresentados em tela situada abaixo das imagens das plântulas (Figura 3).

Figura 1 - Scanner montado de maneira invertida, no interior de caixa de alumínio

Figura 2 - Imagem analisada no software SVIS® de uma amostra de plântulas de girassol, com indicações da marcação do eixo raiz-hipocótilo (em vermelho), do índice de vigor (969) e da uniformidade de desenvolvimento de plântulas (898)

Figura 3 - Imagem analisada no software SVIS[®] de uma amostra de plântulas de girassol, com indicações da marcação do eixo raiz-hipocótilo, do índice de vigor (956) e do comprimento da plântula (mm) marcada em azul (101,35 pixels)

3.2.1.10 Delineamento experimental

Os dados obtidos em cada época foram analisados separadamente. Para os testes realizados em laboratório, a análise estatística foi efetuada de acordo com delineamento inteiramente casualizado e para o teste de emergência de plântulas em campo foi adotado o delineamento blocos ao acaso, em ambos os casos foram utilizadas 4 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott Knott a 5 % de probabilidade. Os dados dos testes que não apresentaram distribuição normal e homogeneidade de variância foram transformados em $\arcsen(x/100)^{1/2}$, como os testes de germinação, emergência de plântulas em campo e emergência de plântulas em areia para a primeira época de avaliação e os testes de envelhecimento acelerado e emergência de plântulas em areia para a segunda época de avaliação. Os resultados dos testes de germinação, vigor e sanidade, embora tenham sido transformados em $\arcsen(x/100)^{1/2}$ para a execução das análises estatísticas, foram apresentados com médias dos dados originais.

3.3 Resultados e discussão

3.3.1 Primeira época de avaliação

3.3.1.1 Grau de umidade, germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, emergência de plântulas em campo e em areia, velocidade de emergência de plântulas em areia e sanidade.

A análise de variância dos dados indicou diferenças entre os lotes para todas as avaliações realizadas (Tabela 3.1).

Os dados da caracterização inicial dos lotes de sementes podem ser observados na Tabela 3.1. De acordo com os resultados foi observado que o grau de umidade inicial das sementes variou entre 9,5 % a 10,6 %. Assim, esse parâmetro não afetou o comportamento das sementes durante os testes conduzidos, visto que as variações estavam dentro de limites toleráveis, ou seja, 2 a 3 pontos percentuais (MARCOS FILHO, 1999a).

O teste de germinação revelou diferenças do potencial fisiológico entre as sementes dos lotes, sendo que a porcentagem de plântulas normais variou de 76 % a 99 %; estes valores atendem os padrões para comercialização de aquênios de girassol, que é de, no mínimo, 75 % (BRASIL, 2005). Ainda nesse teste, os lotes 5, 9 e 10 foram superiores, os lotes 1, 3, 6, 2 e 8 apresentaram comportamentos intermediários, apesar de que os três primeiros tenham sido superiores aos dois últimos e os lotes 4 e 7 tiveram desempenhos inferiores. Embora a literatura relate que se houver diferença no potencial germinativo não há necessidade de avaliar o vigor, nesta pesquisa foi necessário, pois alguns lotes apresentavam germinação semelhante entre si. O teste de germinação por ser conduzido sob condições ótimas de ambiente fornece o potencial máximo do lote, estabelecendo o limite para o desempenho deste após a sua semeadura. No entanto, não permite a previsão do comportamento da semente sob ampla variação das condições do ambiente (OHLSON et al., 2010), podendo superestimar o potencial de desempenho das sementes (GAGLIARDI; MARCOS FILHO, 2011).

Deve-se considerar ainda que o potencial fisiológico de sementes é compreendido como a soma da capacidade germinativa e do vigor. Portanto, o uso de testes de vigor, os quais buscam obter respostas complementares às fornecidas pelo teste de germinação, pode possibilitar a obtenção de informações mais consistentes sobre o potencial fisiológico dos lotes de sementes (OHLSON et al., 2010). É preciso considerar também que o vigor reflete a manifestação de um conjunto de características que determinam o potencial para a emergência rápida e uniforme de plântulas, o que dificulta a utilização de um único teste para classificar

os lotes e avaliar de forma segura o potencial de desempenho de um lote após o armazenamento e, ou em campo (BARBOSA; COSTA; SÁ, 2011).

De maneira geral, os testes de vigor tradicionalmente utilizados para avaliar o vigor de sementes forneceram respostas similares, no qual o lote 10 destacou-se positivamente em relação aos demais e o lote 4 negativamente (Tabela 3.1).

No teste de primeira contagem de germinação foi possível verificar desempenhos superiores dos lotes 9 e 10, os lotes 4 e 6 apresentaram comportamentos inferiores e os lotes 1, 2, 3, 5, 7 e 8 foram os que se enquadraram como intermediários, embora os quatro primeiros tenham sido superiores em relação aos dois últimos (Tabela 3.1). Pode-se observar, que o ranqueamento dos lotes desse teste foi relativamente semelhante ao do teste de germinação. Por isso, há necessidade da inclusão de mais testes, em programas de controle de qualidade para determinar o potencial das sementes de forma correta e eficaz, pois como já comentado, o teste de germinação como a primeira contagem de germinação, apresentam limitações por fornecerem resultados que superestimam o potencial fisiológico das sementes, devido ao fato de serem conduzidos sob condições consideradas ótimas. Diante disto, têm sido desenvolvidos testes de vigor com a finalidade de fornecer informações complementares às obtidas no teste de germinação e que permitam estimar o potencial de emergência de plântulas em campo, sob ampla faixa de condições de ambiente (BARROS et al., 2002).

Tabela 3.1 - Resultados do grau de umidade (GU), germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), envelhecimento acelerado (EA), grau de umidade após o envelhecimento acelerado (GUEA), emergência de plântula em campo (EPC), emergência de plântula em areia (EPA) e velocidade de emergência plântulas em areia (VEA) de dez lotes de sementes de girassol, cultivar Catissol 01, na primeira época de avaliação

LOTE	GU	G	PCG	EA	GUEA	EPC	EPA	VEA
	(%).....							
1	9,8	90 b	82 b	46 c	24,7	84 a	91 b	11 b
2	10,2	85 c	83 b	60 b	25,9	82 b	84 b	11 b
3	10,5	90 b	86 b	73 a	25,0	90 a	95 a	12 a
4	9,5	76 d	63 d	45 c	23,9	55 d	56 d	8 c
5	10,4	97 a	82 b	53 c	25,8	89 a	93 a	12 a
6	9,7	88 b	68 d	52 c	25,8	85 a	87 b	10 b
7	9,6	76 d	73 c	61 b	23,1	64 c	64 c	9 c
8	10,1	85 c	75 c	64 b	24,6	85 a	79 b	11 b
9	10,6	96 a	91 a	47 c	23,3	93 a	97 a	11 b
10	10,2	99 a	97 a	75 a	26,0	94 a	94 a	12 a
C.V. (%)	-	5,7	5,9	15,0	-	5,6	5,3	5,3

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo Teste de Scott Knott a 5 % de probabilidade

No teste de envelhecimento acelerado os lotes 3 e 10 tiveram maior número de plântulas normais, os lotes 1, 4, 5, 6 e 9 apresentaram menor porcentagem de plântulas normais e os lotes 2, 7 e 8 tiveram comportamento intermediário. Esses resultados corroboram aos obtidos por Maeda et al.(1986); Albuquerque et al. (2001); Braz et al. (2008); Braz e Rossetto (2009), no qual também tiveram sucesso na diferenciação dos lotes em diferentes níveis de vigor com o uso deste teste para sementes de girassol. No entanto, observa-se que o lote 9 que tinha se destacado com bom desempenho em todas as demais avaliações (com exceção da velocidade de emergência em areia), teve redução de vigor para esse teste; por isso se faz necessário a utilização de mais de um teste de vigor na avaliação do potencial fisiológico, considerando-se que os demais testes realizados não foram capazes de mostrar esta sensibilidade do lote, pois estes são baseados em princípios diferentes. Assim, recomenda-se o uso de mais de um teste de vigor para aumentar as informações e diminuir os erros associados à decisão de se aceitar ou rejeitar um lote de sementes para armazenamento ou semeadura (MENDONÇA et al., 2008).

A emergência de plântulas em campo revelou superioridade dos lotes 1, 3, 5, 6, 8, 9 e 10, inferioridade do lote 4 e comportamentos intermediários dos lotes 2 e 7. Ainda nesse contexto, observa-se que a porcentagem de emergência de plântulas em campo dos lotes 4 e 7 reduziu acentuadamente em relação aos demais; o que já era de se esperar, mesmo apresentando condições ambientais favoráveis para a emergência, pois pelo histórico desses lotes, essas sementes apresentavam inicialmente menor germinação e vigor, e essa redução atribuí-se ao decréscimo natural na qualidade fisiológica das sementes em função das transformações degenerativas características da deterioração. Albuquerque e Carvalho (2003) também observaram que a utilização de sementes de girassol de baixo vigor prejudicou a emergência de plântulas em campo. Para Marcos filho (2005), a redução da porcentagem de emergência das plântulas é uma das consequências da interação do potencial fisiológico das sementes com as condições do ambiente no campo. Pela Tabela 3.2, pode-se verificar que a condição de ambiente foi adequada para a emergência de plântulas de girassol (Jan/11), que segundo Castro e Farias (2005) é de temperatura entre 20 °C a 28 °C.

Tabela 3.2 - Valores médios das temperaturas máximas (Tx), mínimas (Tn) e médias (Tm), em graus Celsius, e da umidade relativa do ar (UR), em porcentagem, em condição de ambiente de campo, durante o período de janeiro a maio de 2011, Piracicaba - São Paulo

Meses	Tx	Tn	Tm	UR
Jan/11	31,0	20,2	25,6	80
Fev/11	31,9	20,2	26,0	77
Mar/11	28,2	19,4	23,8	83
Abr/11	28,4	16,7	22,5	74
Mai/11	25,6	13,2	19,4	76

Os testes de emergência de plântulas e velocidade de emergência de plântulas em areia acusaram inferioridade dos lotes 4 e 7 quando comparados aos demais e destacaram os lotes 3, 5 e 10 como os melhores, juntamente com o lote 9 para a emergência de plântulas em areia; no entanto, destacaram os lotes 1, 2, 6 e 8 como intermediários, acompanhado do lote 9 para a velocidade de emergência em areia (Tabela 3.1). É importante destacar, que no período da condução desse teste (Jan/2011), a temperatura média também foi favorável para a emergência de plântulas (Tabela 3.3).

Tabela 3.3 - Valores médios das temperaturas máximas (Tx), mínimas (Tn) e médias (Tm), em graus Celsius, e da umidade relativa do ar (UR), em porcentagem, em condições de casa de vegetação, durante o período de janeiro a maio de 2011, Piracicaba - São Paulo

Meses	Tx	Tn	Tm	UR
Jan/11	25,5	23,1	23,9	80
Fev/11	24,3	22,4	23,4	77
Mar/11	22,0	20,8	21,4	83
Abr/11	22,0	19,5	21,2	87
Mai/11	18,0	16,7	18,1	85

Em relação à análise sanitária das sementes (Tabela 3.4), verificou-se que não houve diferença estatística entre os lotes para os fungos *Aspergillus* spp. Esses fungos são agentes causadores de podridões de colo e tombamento de plântulas (BELLETTINI et al., 2005). Para o *Penicillium* spp. a maior incidência ocorreu nos lotes 1, 2, 3, 4 e 7 em relação aos lotes 5, 6, 8, 9 e 10. Esses fungos podem promover lesões nas plântulas, levando ao menor desenvolvimento destas (ITO et al., 1992). Para a *Alternaria* spp. os lotes 3, 4, 5 e 6 foram os que apresentaram maior incidência em relação aos demais lotes avaliados. Os fungos *Alternaria* spp. são alguns dos principais microrganismos que podem afetar a germinação, por seus danos às plântulas e ainda reduzir o teor de óleo nas sementes (HUMPHERSON-JONES, 1992).

A interação da semente com fungos de armazenamento pode acelerar a velocidade de deterioração das mesmas (MARCOS FILHO, 2005). Fungos como *Penicillium* spp. e *Aspergillus* spp., por exemplo, desenvolvem-se rapidamente, levando à redução da viabilidade das sementes, como foi observado em sementes de amendoim bravo (NASCIMENTO et al., 2006).

Ressalta-se também que mesmo que não tenha havido diferença estatística entre lotes para o fungo *Aspergillus* spp., em valores numéricos, esse fungo apresentou alta incidência nos lotes de sementes, com destaque para os lotes 4 e 7, que provavelmente também influenciou no potencial fisiológico dos lotes, como foi observado na maioria dos testes utilizados nesta pesquisa. Esses patógenos depreciam a qualidade das sementes, pois são capazes de invadir e degradar os tecidos embrionários produzindo toxinas que reduzem a capacidade germinativa e provocam descoloração, apodrecimento e aquecimento da massa de sementes, características essas favoráveis ao aumento da velocidade de deterioração (GOULART, 2007; MENTEN et al., 2005). Assim, o uso de sementes com menor vigor pode ter reflexos negativos dos mais variáveis, considerando-se não somente redução no desempenho das plantas em termos de estande como, também, a maior vulnerabilidade dessas sementes ao ataque de patógenos (NEERGAARD, 1979; MENTEN, 1995).

Tabela 3.4 - Valores de incidência de fungos *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Alternaria* spp. nos diferentes lotes de sementes de girassol, cultivar Catissol 01, primeira época de avaliação

LOTE	<i>Aspergillus</i> spp.(%).....	<i>Penicillium</i> spp.(%).....	<i>Alternaria</i> spp.(%).....
1	30 a	22 b	11 a
2	26 a	26 b	13 a
3	23 a	19 b	16 b
4	45 a	27 b	19 b
5	23 a	1 a	18 b
6	22 a	10 a	18 b
7	36 a	18 b	14 a
8	18 a	2 a	12 a
9	32 a	2 a	12 a
10	33 a	3 a	12 a
C.V.(%)	49,4	57,0	40,5

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Scott Knott a 5 % de probabilidade

É importante destacar também que a alta porcentagem de incidência dos fungos *Aspergillus* spp. não afetou o potencial fisiológico das sementes dos lotes 9 e 10 (Tabela 3.4), que apresentaram valores superiores nos testes de germinação e de vigor, em relação aos demais. Tal comportamento pode ser explicado pelo fato de que para que haja progresso da doença há necessidade da ocorrência simultânea de três elementos fundamentais: a planta vulnerável com o inóculo do patógeno virulento, os patógenos ou partes deste capaz de causar a doença e o ambiente favorável ao patógeno (BERGAMIN FILHO, 1995). Possivelmente durante a condução dos testes de vigor, as condições de temperatura e umidade relativa do ar não foram suficientes para desencadear o progresso dessa doença, que consequentemente poderia afetar as plântulas. Resultados semelhantes foram obtidos em sementes de aveia preta, que mesmo quando infestadas por fungos do gênero *Aspergillus* spp. apresentaram alto vigor (BEVILAQUA; PIEROBOM, 1995). Portanto, muitas vezes os resultados são divergentes, pois trabalha-se com organismos vivos, os quais dependem da associação de fatores intrínsecos e extrínsecos na expressão do efeito causado (CASORALI et al., 2006).

3.3.1.2 Análise de Imagens de plântulas (*Seed Vigor Imaging System* - SVIS®)

As análises da variância dos dados obtidos revelaram diferenças de potencial fisiológico entre lotes para os parâmetros avaliados (comprimento de plântulas, crescimento e grau de uniformidade de desenvolvimento das plântulas e índice de vigor) (Tabela 3.5).

Para o cálculo do índice de vigor foram testadas combinações entre as proporções de crescimento e grau de uniformidade das plântulas e foi verificado que a proporção de 50/50 permitiu identificar diferenças entre os lotes de forma similar à ocorrida nos testes de vigor tradicionais, por isso optou-se por utilizar esta proporção (Tabela 3.5).

O exame da Tabela 3.5 permite verificar que o comprimento de plântulas e os índices de crescimento e de vigor destacaram superioridade dos lotes 5, 9 e 10, inferioridade dos lotes 4 e 7, com exceção do lote 7 para o crescimento de plântulas.

Para o comprimento, crescimento de plântulas e índice de vigor, além de consistentes, esses resultados são comparáveis aos obtidos no teste de primeira contagem de germinação, que destacou positivamente os lotes 9 e 10. Resultados semelhantes e comparáveis também foram encontrados para o teste de emergência de plântula em areia que também destacou os lotes 9 e 10 como superiores, acompanhado dos lotes 3 e 5 (Tabelas 3.1 e 3.5). Trabalhando com melão, Marcos Filho et al. (2006), também verificaram que o vigor das sementes, avaliados pelo SVIS®, apresentava valores consistentes em comparação a porcentagem de emergência de plântulas.

O grau de uniformidade de desenvolvimento determinada pelo SVIS[®] destacou os lotes 3, 5, 6, 9 e 10 como superiores e os lotes 1, 2, 4, 7 e 8 como inferiores (Tabela 3.5). Do mesmo modo que foi mencionado anteriormente, os valores desse parâmetro condizem com a maioria dos testes de vigor analisados, porém, os resultados que mais aproximaram-se desse índice foi a emergência de plântulas em areia que destacou como melhores os lotes 3, 5, 9 e 10 (Tabela 3.1).

Tabela 3.5 - Resultados referentes ao comprimento de plântulas (Comp.), crescimento de plântulas (C), grau de uniformidade de crescimento (U) e índice de vigor (IV) de dez lotes de sementes de girassol, cultivar Catissol 01, primeira época de avaliação

LOTE	Comp. (cm)	C(-).....	U	IV (50/50)
1	8,8 c	788 c	830 b	809 c
2	8,2 c	751 c	826 b	788 c
3	10,4 b	866 b	882 a	874 b
4	6,8 d	632 d	804 b	718 d
5	11,6 a	964 a	875 a	919 a
6	9,0 c	754 c	879 a	816 c
7	7,7 d	715 c	808 b	761 d
8	8,2 b	854 b	847 b	851 b
9	11,5 a	968 a	897 a	933 a
10	11,8 a	955 a	904 a	896 a
C.V. (%)	8,7	8,4	3,3	4,4

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo Teste de Scott Knott a 5 % de probabilidade

Assim, foi constatado que as análises pelo SVIS[®] foi eficiente para detectar diferenças no potencial fisiológico entre os lotes de sementes, diferentemente de pesquisa realizada com sementes de girassol por Caldeira (2010), a qual verificou que o sistema computadorizado de análise de plântulas SVIS[®] não possibilitou a diferenciação da qualidade entre os lotes de sementes de girassol.

Diante do exposto, ficou evidenciada a possibilidade da inclusão de análise computadorizada de imagens de plântulas na avaliação da qualidade de sementes de girassol, pois além da coerência dos resultados com os obtidos nos testes tradicionalmente utilizados, o uso deste sistema pode trazer vantagens como rapidez na obtenção dos resultados, maior confiabilidade e precisão e menor subjetividade da análise, pois evitam-se falhas por diferenças de critérios de avaliação utilizados pelos analistas de diferentes laboratórios (MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009). Teste que utilizam alta velocidade de captura de

imagens e de processamento de dados são os mais indicados para fornecer alto nível de precisão nas análises de qualidade de sementes (DELL'ÁQUILA, 2007); seu uso também possui vantagens adicionais como proporcionar o arquivamento de imagens para análise posterior e além disso é um sistema de baixo custo, equivalente ao do teste de germinação (GOMES JUNIOR et al., 2009).

Como em sementes de girassol, resultados consistentes com o uso do sistema de análise de imagens SVIS[®] também foram detectados na literatura para diversas espécies, como alface (SAKO et al., 2001; PEÑALOZA et al., 2005), milho (HOFFMASTER et al., 2005; OTONI; McDONALD, 2005), melão (MARCOS FILHO et al., 2006), soja (HOFFMASTER et al., 2003; MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009; SANTOS 2011), milho doce (GOMES JUNIOR; CICERO, 2012), mutambo (BRANCALION et al., 2010) e crotalária (SILVA et al., 2012).

3.3.2 Segunda época de avaliação

3.3.2.1 Grau de umidade, germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, emergência de plântulas em campo e em areia, velocidade de emergência de plântulas em areia e sanidade.

O grau de umidade dos lotes de sementes armazenadas tanto em câmara fria e seca quanto em ambiente não controlado foi desuniforme e para que esse fator não influenciasse nos testes, foi realizada a uniformização das amostras, pois as sementes com maior teor de água, dentro de limites, podem apresentar germinação mais rápida, assim como o desenvolvimento inicial das plântulas. Da mesma maneira, no envelhecimento acelerado, a desuniformidade do grau de umidade nas sementes gera variação na intensidade de deterioração das sementes (MARCOS FILHO, 1999b), pois sementes com maior grau de umidade são mais sensíveis às condições do teste e, portanto, sujeitas a deterioração mais intensa (MARCOS FILHO, 2000), o que consequentemente pode resultar em comportamento variável entre as sementes de uma amostra, interferindo na precisão dos resultados (BHERING et al., 2011).

Após a uniformização, o grau de umidade dos lotes de sementes armazenados em condição de ambiente não controlado e câmara fria e seca variou de 7,4 % a 7,8 % e 7,4 % a 8,1 %, respectivamente (Tabela 3.6). Assim como na primeira época de avaliação, as diferenças do grau de umidade entre os lotes de sementes não influenciou nos resultados dos testes realizados.

As análises da variância dos dados obtidos revelaram diferenças significativas entre lotes, para a maioria dos parâmetros avaliados. De maneira geral, semelhante à primeira época de avaliação, os lotes 4 e 7 foram destacados como o menos vigorosos em praticamente todos os testes conduzidos para as duas condições de armazenamento, da mesma forma que os lotes 9 e 10, que possuíam maior potencial fisiológico na primeira época, para esta época não foi diferente, também apresentou resultados positivos em relação aos demais lotes (Tabela 3.6).

Como era de esperar, as sementes que estavam armazenadas em câmara fria e seca tiveram menor redução do vigor (Tabela 3.6), pois a combinação de temperatura e umidade relativa do ar (10 °C e 30 % UR) foi mais favorável para o armazenamento dessas sementes.

Para a porcentagem de germinação, os lotes 9 e 10 apresentaram melhor desempenho em relação aos demais nas duas condições de armazenamento, juntamente com os lotes 1 e 5 para as sementes armazenadas em ambiente não controlado. Além disso, pode-se verificar redução da germinação em relação a primeira época, nas duas condições de armazenamento, sendo que apenas os lotes 1, 5, 9 e 10 apresentaram germinação superior a 75 % quando armazenados em ambiente não controlado, enquanto que para as condições de ambiente em câmara fria e seca, todos os lotes, exceto o 4, apresentaram padrão mínimo para comercialização (Tabela 3.6). A diminuição da capacidade germinativa ocorre durante o período de armazenamento e isso é devido à deterioração que acontece gradativamente durante esse período (SATURNINO et al., 2005).

No teste de primeira contagem de germinação, os lotes 9 e 10 apresentaram superioridade em relação aos demais nas duas condições de armazenamento, juntamente com o lote 5 para ambiente não controlado. No entanto, os lotes 4 e 7, nas duas condições de armazenamento, com tendência do lote 7 em câmara fria e seca, foram os que apresentaram vigor mais baixo. Os lotes 1, 2, 3, 6 e 8 para os dois ambientes, juntamente com o lote 5 em câmara fria e seca foram os que apresentaram comportamentos intermediários (Tabela 3.6).

Ainda na Tabela 3.6, encontram-se as médias de germinação após o envelhecimento acelerado, onde os lotes 3 e 10, em ambiente não controlado, destacaram-se positivamente em relação aos demais (este resultado foi semelhante à primeira época de avaliação), enquanto que em ambiente de câmara fria e seca, os lotes 2, 3, 8, 9 e 10 tiveram melhor desempenho em comparação aos demais lotes. Os lotes 1, 4 e 7 foram os que apresentaram comportamento inferior para as duas condições de armazenamento. Em ambiente não controlado, os lotes 2, 5, 6, 8 e 9 apresentaram comportamento intermediário e em câmara fria e seca, os lotes 5 e 6 foram os que tiveram esse desempenho.

Tabela 3.6 - Resultados de grau de umidade (GU), germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), envelhecimento acelerado (EA), grau de umidade após o envelhecimento acelerado (GUEA), emergência de plântula em campo (EPC), emergência de plântula em areia (EPA) e velocidade de emergência em areia (IVEA), de dez lotes de sementes de girassol, cultivar Catissol 01, armazenada em ambiente de laboratório e câmara fria e seca, na segunda época experimental

	LOTE	GU	G	PC	EA	GUEA	EPC	EPA	VEA
		(%).....							
Ambiente não controlado	1	7,6	77 a	74 b	23 d	18,8	55 b	64 b	4,1 c
	2	7,7	71 b	68 b	42 b	20,7	60 b	73 b	9,0 a
	3	7,6	74 b	72 b	66 a	19,7	78 a	88 a	9,1 a
	4	7,4	63 c	61 c	22 d	18,9	50 b	56 b	2,1 d
	5	7,6	84 a	82 a	31 c	21,8	77 a	82 a	9,3 a
	6	7,6	70 b	68 b	37 b	20,7	59 b	80 a	9,4 a
	7	7,5	62 c	58 c	23 d	19,4	52 b	62 b	4,3 c
	8	7,6	71 b	69 b	29 c	21,6	60 b	74 b	7,2 b
	9	7,5	87 a	85 a	38 b	21,3	79 a	80 a	9,4 a
	10	7,8	85 a	83 a	62 a	19,3	80 a	90 a	9,5 a
	C.V. (%)	-	8,5	9,0	15,3	-	5,5	12,1	13,0
Câmara fria e seca	1	7,8	80 b	78 b	47 c	17,2	64 b	66 b	8,3 b
	2	7,6	81 b	79 b	60 a	19,3	73 b	75 b	9,1 a
	3	7,7	86 b	84 b	66 a	20,0	82 a	84 a	11,3 a
	4	7,4	61 d	58 d	42 c	17,1	60 b	56 b	4,4 d
	5	7,7	80 b	78 b	67 b	18,0	79 a	83 a	9,5 a
	6	7,7	85 b	83 b	68 b	18,3	66 b	83 a	9,4 a
	7	7,9	75 c	71 c	46 c	18,9	62 b	73 b	6,4 c
	8	7,8	75 c	76 b	66 a	17,8	69 b	70 b	10,2 a
	9	7,9	90 a	88 a	63 a	20,1	79 a	81 a	11,4 a
	10	8,1	96 a	94 a	75 a	19,2	85 a	88 a	10,4 a
	C.V. (%)	-	6,3	6,5	12,2	-	5,5	12,5	11,9

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas e para cada ambiente não diferem entre si pelo Teste de Scott Knott a 5 % de probabilidade

Após o envelhecimento acelerado, o grau de umidade variou de 18,8 % a 21,8 % e de 17,1 % a 20,1 %, para as sementes armazenadas em ambiente não controlado e em câmara fria e seca, respectivamente e semelhante à primeira época de avaliação, esse parâmetro não afetou a eficiência do teste.

Para o teste de emergência de plântulas em campo (Tabela 3.6) verificou-se que os lotes 3, 5, 9 e 10 armazenados nas duas condições de ambiente tiveram maior porcentual de

emergência, enquanto os lotes 1, 2, 4, 6, 7 e 8 apresentaram o menor porcentual de emergência de plântulas.

Ainda no teste de emergência de plântulas em campo, pode-se verificar que para todos os lotes, armazenados nas duas condições, houve redução de plântulas emersas em comparação com a primeira época de avaliação, destacando-se o lote 4 com redução mais acentuada quando armazenado em ambiente não controlado.

Além da deterioração ocorrida no período em que as sementes ficaram armazenadas, outro fator que pode estar relacionado ao decréscimo da emergência de plântulas em campo é a condição do ambiente na época da condução desse teste (Mai/11), pois como ilustra a Tabela 3.2, a temperatura média foi de 19,4 °C, condição desfavorável para a emergência de plântulas de girassol. Pode-se observar, também, que a temperatura mínima da segunda época teve uma redução de aproximadamente 10 °C quando comparado a primeira época de avaliação e situou-se em torno de 13,2 °C, o que possivelmente também afetou o desempenho das sementes, pois as condições ideais de temperatura para a emergência e crescimento de plântulas de girassol é de 25 °C (GAY; CORBINEAU; CÔME, 1991).

Os dados da emergência de plântulas em areia (Tabela 3.6), nas duas condições de armazenamento, indicaram que tanto em ambiente não controlado como em câmara fria e seca os lotes 3, 5, 6, 9 e 10 apresentaram melhor desempenho (resultados semelhantes com exceção do lote 6, foram encontrados na primeira época de avaliação), enquanto que os lotes 1, 2, 4, 7 e 8 tiveram pior comportamento. Relacionando-se esses resultados com os de emergência de plântulas em campo, verifica-se que, de maneira geral, a maioria dos lotes apresentaram maior vigor em areia; isso pode ser explicado pelo fato de que em ambiente de casa de vegetação, as variações das condições ambientais foram menos acentuadas que no campo.

A velocidade de emergência de plântulas em areia (Tabela 3.6), nas duas condições de armazenamento, destacou os lotes 2, 3, 5, 6, 9 e 10 como os mais vigorosos para os dois ambientes, acompanhado do lote 8 armazenado em câmara fria e seca. O lote 4 foi o que apresentou pior desempenho em relação aos demais para as duas condições de armazenamento, o que já era de se esperar, pois as sementes desse lote, já tinham menor qualidade fisiológica desde a primeira época de avaliação e, conseqüentemente, tiveram maior desuniformidade na emergência e redução da velocidade no processo de germinação, pois estavam mais deterioradas.

Na Tabela 3.7 estão apresentados os resultados de incidência dos fungos *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Alternaria* spp. nas sementes armazenadas em condições de ambiente

não controlado e em câmara fria e seca. Pode-se verificar que não houve diferença estatística entre os lotes para a incidência destes fungos, quando as sementes foram armazenadas em câmara fria e seca.

Em valores numéricos, o *Aspergillus* spp. foi o de maior incidência que os demais fungos, para os dois ambientes de armazenamento, assim como ocorreu na primeira época de avaliação para a maioria dos lotes. É importante ressaltar, que o lote 4 foi o que apresentou maior incidência deste fungo em ambiente não controlado, o que pode ter interferido negativamente no potencial fisiológico (Tabela 3.7). Os efeitos da contaminação por *Aspergillus* spp. sobre as sementes de girassol causam enfraquecimento do embrião seguido de sua morte (CONCEIÇÃO; MELO; SARMENTO, 2010).

Para *Penicillium* spp., em ambiente não controlado, a maior incidência foi nos lotes 2, 3, 4, 7, 8 e 9; em câmara fria não houve diferença estatística entre os lotes. A maior presença desses fungos pode ter afetado o desempenho desses lotes nos teste de germinação e vigor, assim como na primeira época de avaliação, com destaque para o lote 4 (Tabelas 3.4 e 3.7). O *Penicillium* spp. pode ocasionar a perda da capacidade germinativa e, durante o armazenamento, promover o aquecimento da massa de sementes com consequente aumento da taxa respiratória, provocando a deterioração mais rápida das sementes (MACHADO, 1988).

Para *Alternaria* spp., em ambiente não controlado, os lotes 2, 3, 5, 6, 8 e 10 foram os que apresentaram maior incidência, enquanto que os lotes 4 e 7 foram os que tiveram menor porcentagem de ataque e os lotes 1 e 9 tiveram desempenhos intermediários. Para as sementes armazenadas em câmara fria e seca não houve diferença estatística entre os lotes (Tabela 3.7). As sementes infectadas por *Alternaria* spp. quando semeadas originam plântulas com lesões, além de que é capaz de causar altas concentrações de esporos causando elevado índice de doença e redução do estande na fase inicial do desenvolvimento do girassol (SALUSTIANO et al., 2005).

Diferentes espécies de *Alternaria*, presentes em sementes de plantas cultivadas quando armazenadas diminuem ou perdem a viabilidade do inóculo com o incremento do tempo (CROCHEMORE; PIZA, 1994; ROTEM, 1994); foi o que aconteceu nesta pesquisa, e isso pode ser explicado ao efeito da umidade relativa do ar, que foi em média de 76 % em ambiente não controlado (Tabela 3.6) e 30 % em câmara fria e seca, sendo esses valores abaixo da umidade requerida pelos fungos de campo que necessitam de pelo menos 90 % de umidade relativa do ar para se desenvolverem (DHINGRA, 1985).

Tabela 3.7 - Valores de incidência de fungos *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Alternaria* spp. nos diferentes lotes de sementes de girassol, cultivar Catissol 01, na segunda época de avaliação

LOTE		<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Alternaria</i> spp.
		(%).....		
Ambiente não controlado	1	23 a	4 a	6 b
	2	23 a	6 b	12 c
	3	24 a	6 b	10 c
	4	64 c	11 b	3 a
	5	23 a	1 a	15 c
	6	29 b	2 a	18 c
	7	28 a	7 b	3 a
	8	34 b	10 b	12 c
	9	35 b	7 b	6 b
	10	26 a	3 a	15 c
C.V.(%)		12,3	49,0	28,0
Câmara fria e seca	1	34 a	10 a	2 a
	2	28 a	9 a	2 a
	3	22 a	6 a	5 a
	4	31 a	13 a	1 a
	5	25 a	5 a	1 a
	6	27 a	5 a	4 a
	7	24 a	7 a	4 a
	8	31 a	12 a	3 a
	9	32 a	9 a	4 a
	10	30 a	7 a	2 a
C.V.(%)		17,0	38,0	50,0

Médias seguidas pela mesma letra na coluna e para cada ambiente não diferem entre si pelo Teste de Scott Knott a 5 % de probabilidade

3.3.2.2 Análise de Imagens de plântulas (*Seed Vigor Imaging System* – SVIS®)

Semelhante a primeira época de avaliação, as análises de variância dos dados revelaram diferenças de potencial fisiológico entre os lotes para os parâmetros avaliados, dentre estes, o comprimento de plântulas, o crescimento e a uniformidade de desenvolvimento das plântulas e índice de vigor (Tabela 3.8).

Na primeira época de avaliação, sob diferentes combinações entre crescimento e grau de uniformidade de crescimento de plântulas, a proporção de 50/50 foi a mais sensível para o cálculo do índice de vigor, entretanto, para esta época, foi verificado que a proporção 70/30

foi a melhor para identificar diferenças entre os lotes de forma similar à ocorrida nos testes de vigor tradicionais, como pode ser observado nas Tabelas 3.6 e 3.8.

O comprimento de plântulas revelou superioridade dos lotes 3 e 10 para os dois ambientes, juntamente com os lotes 2, 5, 6, 8, 9 e 10 em ambiente não controlado. A câmara fria e seca indicou os lotes 1, 2, 6, 5, 8 e 9 como os de comportamento intermediários, sendo que os três primeiros foram inferiores aos dois últimos. Os lotes 4 e 7 foram inferiores aos demais lotes quando armazenados nas duas condições de ambiente, sendo que em ambiente não controlado o lote 1 também teve esse comportamento (Tabela 3.8).

Cabe ressaltar, que os lotes indicados como superiores no comprimento de plântulas em ambiente não controlado, apresentaram semelhanças nos resultados obtidos no teste de emergência de plântulas em areia e a velocidade de emergência em areia (Tabelas 3.6 e 3.8).

Tanto o vigor quanto o potencial de armazenamento das sementes são influenciadas pelos teores de substâncias de reservas presentes e, de modo geral, quanto maior o teor de reservas nas sementes, maior será o vigor das plântulas originadas (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000); por isso, provavelmente, o comprimento de plântulas pode ser reduzido em função do avanço da deterioração, que provoca o consumo das reservas armazenadas nas sementes, que seria fonte de energia para a germinação e desenvolvimento das plântulas e, assim, originando plântulas menos vigorosas. Henning et al. (2010), verificaram que sementes de soja de alto vigor possuem maiores teores de proteínas solúveis, amido e açúcares solúveis e maior capacidade de mobilização de reservas na germinação, resultando em plântulas com melhor desempenho inicial.

O índice de vigor diferenciou o potencial fisiológico dos lotes, porém, houve pequena variação no ranqueamento entre índices para os dois ambientes de armazenamento. Em ambiente não controlado, os lotes 6 e 8 foram agrupados como inferiores no índice de vigor de 50/50 (IV1), mas foram superiores para o índice de vigor de 70/30 (IV2). Já para câmara fria e seca, o lote 5, que foi identificado como inferior no índice de vigor de 50/50 (IV1) revelou-se superior para o índice de vigor de 70/30 (IV2) (Tabela 3.8). Contudo, essas diferenças em valores foram mínimas, o que indica a possibilidade de uso de ambas proporções para avaliar o vigor, no entanto, os resultados do índice calculado usando a proporção 50/50 foram apresentados para possibilitar a comparação com a primeira época de avaliação, pois não seria correto comparar vigor entre épocas distintas utilizando diferentes proporções de crescimento de plântulas, sendo que este é um dos parâmetros afetados na deterioração das sementes.

Para sementes de soja, empresas certificadoras nos EUA realizam rotineiramente a análise SVIS[®], sendo consideradas sementes de alto vigor as que apresentam índices entre 800 a 1000 e baixo vigor com valores inferiores a 300 (MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009), porém, esses valores podem variar em função da espécie, cultivar, por isso é necessário o estudo de metodologia para cada cultura.

De maneira geral, os resultados do índice de vigor 50/50 (IV1) foram semelhantes aos obtidos nos testes de vigor para a maioria dos lotes armazenados para as duas condições de armazenamento, revelando maior potencial fisiológico dos lotes 3 e 10, para as duas condições de armazenamento, acompanhado dos lotes 2, 5, e 9 em ambiente não controlado. Esse ranqueamento também foi semelhante ao encontrado para o índice de vigor 70/30 (IV2), juntamente com os lotes 6 e 8 (Tabelas 3.6 e 3.8).

Os índices de crescimento e de uniformidade de desenvolvimento das plântulas apontaram o pior desempenho do lote 4 quando comparado aos demais para os dois ambientes de armazenamento, sendo que este não diferiu do lote 7 em ambiente de câmara fria e seca (Tabela 3.8). Paralelamente, como mostra a Tabela 3.6, esses resultados foram semelhantes aos obtidos dos testes de envelhecimento acelerado, emergência de plântulas em areia e velocidade de emergência em areia, para as duas condições de armazenamento.

Destaca-se também, que os dados da primeira época de avaliação (Tabela 3.1) mostram essa mesma tendência de inferioridade dos lotes 4 e 7 para os testes de primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, emergência de plântulas em campo e em areia e velocidade de emergência de plântulas em areia.

É importante destacar que houve redução do vigor para o índice de crescimento nas duas condições de armazenamento em relação à primeira época de avaliação, porém, o lote 4 foi o que apresentou maior redução, alcançando 148 para ambiente não controlado e 501 em câmara fria e seca (Tabela 3.8).

De maneira geral, a redução do potencial fisiológico de sementes ao longo do armazenamento foi identificada tanto nos testes tradicionais de vigor quanto na análise computadorizada das plântulas. Essa perda de vigor ocorreu em função de mudanças degenerativas que podem ocorrer durante o armazenamento, levando, eventualmente, à perda de viabilidade, sendo que as sementes muitas vezes não germinam mais sob aquelas condições consideradas favoráveis. Além disso, sabe-se que as sementes de girassol, por serem oleaginosas, são mais suscetíveis ao ataque de patógenos (JOCKER; JEPSEN, 2003) e a presença de fungos nessas sementes estaria relacionado aos baixos valores de vigor e germinação e alto índice de plântulas anormais infeccionadas (GOMES et al., 2006). Os

microrganismos também podem causar anormalidades e lesões nas plântulas, bem como deterioração de sementes, causando apodrecimento das mesmas e dificultando o diagnóstico correto da qualidade fisiológica do lote (PIVETA et al., 2010).

Tabela 3.8 - Resultados referentes ao comprimento individual de plântulas (Comp.), índices de vigor (IV1 e IV2) baseados em diferentes proporções (crescimento/uniformidade) crescimento de plântulas (C), grau de uniformidade de crescimento (U) e de dez lotes de sem sementes de girassol, cultivar Catissol 01, na segunda época experimental

	LOTE	Comp. (mm)	IV1 (50/50)(-).....	IV2 (70/30)	C	U
Ambiente não controlado	1	3,7 b	556 b	495 b	403 b	710 b
	2	7,0 a	736 a	694 a	633 a	839 a
	3	7,3 a	742 a	704 a	647 a	837 a
	4	2,4 b	259 c	214 c	148 c	370 c
	5	7,0 a	736 a	709 a	670 a	802 a
	6	5,4 a	669 b	636 a	587 a	750 b
	7	3,7 b	612 b	586 b	501 b	674 b
	8	5,1 a	648 b	630 a	604 a	693 b
	9	6,5 a	698 a	648 a	575 a	820 a
	10	7,6 a	760 a	712 a	638 a	881 a
	C.V.(%)	25,2	10,9	11,4	13,8	12,0
Câmara fria e seca	1	7,5 c	749 c	710 b	654 b	842 b
	2	7,8 c	766 c	737 b	693 b	848 b
	3	10,0 a	860 a	846 a	835 a	894 a
	4	5,4 d	651 d	591 c	501 c	799 c
	5	9,1 b	821 b	810 a	793 a	849 b
	6	7,5 c	757 c	720 b	665 b	848 b
	7	4,9 d	629 d	520 c	483 c	775 c
	8	8,6 b	800 b	775 b	738 b	862 b
	9	8,8 b	811 b	785 b	794 a	864 b
	10	10,1 a	870 a	860 a	845 a	894 a
	C.V.(%)	10,4	4,9	6,2	8,6	3,2

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas e para cada ambiente não diferem entre si pelo Teste de Scott Knott a 5% de probabilidade

Desta maneira, os resultados desta pesquisa proporcionaram resultados interessantes a respeito da determinação do potencial fisiológico de sementes de girassol. As análises automatizadas pelo software SVIS[®] permitiram identificar diferenças de vigor entre lotes de

sementes nas duas épocas de avaliação, com poder germinativo elevado, médio e baixo, de maneira comparável aos resultados de outros testes recomendados pela pesquisa.

Com isso, a análise computadorizada de plântulas pode representar uma alternativa viável para a avaliação do vigor de sementes e com eficiência equivalente aos testes de vigor tradicionalmente utilizados, constituindo, dessa forma, uma ferramenta a mais para integrar-se aos programas de controle de qualidade das empresas produtoras de sementes.

3.4 Considerações Finais

Procedimentos rápidos que visam à avaliação da qualidade de sementes são cada vez mais estudados. Os testes de vigor recomendados para avaliação da qualidade das diversas espécies, concomitante ao conjunto de técnicas com desenvolvimento relativamente recente, como a análise de imagens de sementes e de plântulas, tem mostrado grande potencial para estudos básicos e aplicados na avaliação da qualidade das sementes.

O *software* SVIS[®], que foi desenvolvido pela Universidade Estadual de Ohio, avalia o vigor das sementes utilizando técnicas de imagens computadorizadas de plântulas para determinação de padrões de vigor. A vantagem deste programa inclui a rápida obtenção de resultados e a precisão, já que minimiza os erros humanos de avaliação de cálculo, estimativas e medições. Entretanto a eficiência da utilização do teste para investigação do vigor depende da adequação do sistema para cada cultura em particular.

Nesta pesquisa, a utilização da análise computadorizada de plântulas de girassol com o uso pelo *software* SVIS[®], forneceu resultados rápidos, consistentes e coerentes com os resultados obtidos nos testes tradicionalmente utilizados tanto na primeira como na segunda época de avaliações e pôde-se constatar, ainda, diminuição do vigor das sementes após quatro meses de armazenamento. Portanto, o SVIS[®] demonstrou ser uma importante técnica na avaliação do vigor das sementes de girassol e a utilização deste poderá auxiliar em futuros trabalhos, com a vantagem de minimizar os erros de interpretação humana, quando realizados manualmente, permitindo a obtenção de valores mais precisos e comparáveis.

3.5 Conclusão

A análise computadorizada de imagens de plântulas de girassol, com o uso do *software* SVIS[®], é uma boa alternativa para avaliação do vigor, com eficiência equivalente aos teste de vigor tradicionalmente utilizados.

Referências

- ALBUQUERQUE, M.C.; MORO, F.V.; FAGIOLI, M.; RIBEIRO, M.C. Testes de condutividade elétrica e de lixiviação de potássio na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de girassol. **Revista Brasileira de Sementes**, Campinas, v. 23, n. 1, p. 1-8, jan./fev. 2001.
- ALBUQUERQUE, M.C.F.; CARVALHO, N.M. Effects of the environmental stress on the emergence of sunflower (*Helianthus annuus* L.), soybean (*Glycine max* L. Merrill) and maize (*Zea mays* L.) seeds with different evels of vigor. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 31, p. 465-479, 2003.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. **Seed vigor testing handbook**. Wageningen, 1983. 88 p. (Handbook on seed testing. Contribution, 32).
- BARBOSA, R.M.; COSTA, D.S.; SÁ, M.E. Envelhecimento acelerado em sementes de alface. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 11, p. 1899-1902, nov. 2011.
- BARROS, D.I.; NUNES, H.V.; DIAS, D.C.F.S.; BHERING, M.C. Comparação entre testes de vigor para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de tomate. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 24, n. 2, p.12-16, 2002.
- BELLETTINI, N.M.T.; ENDO, R.M.; MIGLIORANZA, E.; SANTIAGO, D.C. Patogenicidade de fungos associados às sementes e plântulas de amendoim cv. Tatu. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 2, p. 167-172, abr./jun. 2005.
- BERGAMIN FILHO, A. Curvas de progresso da doença. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. eds. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 602-626.
- BEVILAQUA, G.A.; PIEROBOM, C.R. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de aveia-preta (*Avena strigosa* Schreb) da zona sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 17, n. 1, p. 19-22, 1995.
- BHERING, M.C.; DIAS, D.C.F.S.; GOMES, J.M.; BARROS, D.I. Métodos para avaliação do vigor de sementes de pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, Campinas, v. 22, n. 2, p. 171-175, 2000.
- BRANCALION, P.H.S.; NOVENBRE, A.D.L.C.; RODRIGUES, R.R. Temperatura ótima de germinação de sementes de espécies arbóreas brasileiras. **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v. 32, n. 4 p. 15-21, 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 395 p.
- BRAZ, M.R.S.; ROSSETTO, C.A.V. Correlação entre testes para avaliação da qualidade de sementes de girassol e emergência das plântulas em campo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 7, p. 2004-2009, out. 2009.

- BRAZ, M.R.S.; BARROSI, C.S.; CASTRO, F.P.; ROSSETTO, C.A.V. Testes de envelhecimento acelerado e deterioração controlada na avaliação do vigor de aquênios de girassol. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, p. 1857-1863, out. 2008.
- CALDEIRA, C.M. **Testes rápidos para avaliação da qualidade de sementes de girassol**. 2010. 88 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: Funep, 2000. 588 p.
- CASAROLI, D.; GARCIA, D.C.; MUNIZ, M.F.B.; MENEZES, N.L. Qualidade sanitária e fisiológica de sementes de abóbora variedade menina brasileira. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 158-163, 2006.
- CASTRO, C.; FARIAS, J. R. B. Ecofisiologia do girassol. In: LEITE, R. M. V. L. de C.; BRIGHENTI, A. M.; CASTRO, C. **Girassol no Brasil**. Londrina: CNPSo, 2005. p. 163-218.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Girassol: acompanhamento de safra brasileira: grãos, sétimo levantamento, abril 2012**. Brasília, 2012. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_04_11_15_04_18_boletim_abril_2012.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2012.
- CONCEIÇÃO, A.M.; MELO, C.B.; SARMENTO, C.A.P. Contaminação por *Aspergillus flavus* e *A. fumigatus* em sementes de girassol (*Helianthus annuus*) utilizados na alimentação de psitacídeos. **Revista Biotemas**, Florianópolis, v. 32, n. 2, p. 145-148, jun. 2010.
- CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS DE PINHÃO-MANSO, 2., 2011, Brasília. **Predição de ganho genético em pinhão-manso via índices de seleção**. Brasília, 2011.
- CROCHEMORE, M.L.; PIZA, S.M.T. Germinação e sanidade de sementes de nabo forrageiro conservadas em diferentes embalagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 677-680, 1994.
- DELL'AQUILA, A. Pepper seed germination assessed by combined X-radiography and computer-aided imaging analysis. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 51, p. 777-781, 2007.
- DHINGRA, O. Prejuízos causados por microrganismos durante o armazenamento de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 7, n. 1, p. 139-146, 1985.
- FAGUNDES, M.H. **Sementes de girassol: alguns comentários**. Brasília: CONAB, 2009. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/download/cas/especiais/Semente-de-Girassol.pdf>>. Acesso em: 18 nov. 2011.
- 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, July/Aug. 2011.
- GAY, C.; CORBINEAU, F.; CÔME, C. Effects of temperature and oxygene on seedgerminati on and seedling growth in sunflower (*Helianthus annuus* L.), **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v. 31, p. 193-200, 1991.

GOMES JUNIOR, F.G.; CICERO, S.M. X-Ray analysis to assess mechanical damage in sweet corn seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v. 34, n. 1, p. 78-85, 2012.

GOMES, D.P.; Bringel, J.M.; Moraes, M.F.H.; Gomes, J.J.A.; Leite, R.M.V.B.C. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de girassol cultivadas em Timon, MA. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 32, n. 3, p. 291-293, jul./set. 2006.

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**, Lincoln, v. 31, n. 1, p. 95-100, 2009.

GOULART, A.C.P. Suscetibilidade de cultivares de algodoeiro a *Rhizoctonia solani* e benefícios do tratamento de sementes com fungicidas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 3, p. 222-228, maio/jun. 2007.

HENNING, F.A.; MERTZ, L.M.; JACOB JUNIOR, E.B.; MACHADO, R.D.; FISS, G.; ZIMMER, P.D. Composição química e mobilização de reservas em sementes de soja de alto e baixo vigor. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 3, p. 727-734, 2010.

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

HOFFMASTER, A.L.; FUJIMURA, K.; McDONALD, M.B.; BENNETT, M.A. An automated system for vigour testing three-day-old soybean seedling. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 33, n. 1, p. 701-713, 2003.

HUMPHERSON-JONES, F.M. Epidemiology and control of dark leaf spot of brassicas. In: CHELKOWSKI, J.; VISCONTI, A. (Ed.). **Alternaria: biology, plant diseases and metabolites**. Amsterdam: Elsevier, 1992. p. 267-288.

ITO, M.F.; BACCHI, L.M.A.; MARINGONI, A.C.; MENTEN, J.O.M. Comparação de métodos para detecção de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. em sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.). **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 18, n. 3, p. 262-268, 1992.

JOKER, D.; JEPSEN, J. *Jatropha curcas* L. Seed Leaflet, **Humbleback**, Denmark, n. 83, p. 1-2, Aug. 2003.

MACHADO, J.C. **Patologia de sementes: fundamentos e aplicações**. Brasília: MEC; ESAL; FAEPE, 1988. 106 p.

MAEDA, J.A.; RAZERA, L.F.; LAGO, A.A.; UNGARO, M.R.G. Discriminação entre lotes de sementes de girassol através do teste de envelhecimento rápido. **Bragantia**, Campinas, v. 45, n. 1, p. 133-141, 1986.

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

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

_____. 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. 3, p.1-24.

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

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

MARCOS FILHO, J.; NOVENBRE, A.D.C.; PESCARIN CHAMMA, H.M.C.P. Tamanho das sementes e o teste de envelhecimento acelerado para soja. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, n. 3, p. 473-482, 2000.

MARCOS FILHO, J.; BENNETT, M.A.; EVANS, A.S.; 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. 507-519, 2006.

MARCOS FILHO, J.; KOMATSU, Y.H.; NOVENBRE, A.D.L.C.; FRAIN, P.; DEMÉTRIO, C.G.B. Tamanho de sementes e desempenho de girassol: II. Vigor. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 8, n. 2, p. 21-32, 1986.

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.

MENDONÇA, E.A.F. de; AZEVEDO, S.C. de; GUIMARÃES, S.C.; ALBUQUERQUE, M.C.F. Testes de vigor em sementes de algodoeiro herbáceo. **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v. 30, n. 3, p. 1-9, 2008.

MENTEN, J.O.M. **Patógenos em sementes: detecção, danos e controle químico**. São Paulo: CibaAgro, 1995. 321 p.

MENTEN, J.O.M.; LIMA, L.C.S.F.; FRARE, V.C.; RABALHO, A.A. Evolução dos produtos fitossanitários para tratamento de sementes no Brasil. In: ZAMBOLIM, L. **Sementes: qualidade fitossanitária**. Viçosa: UFV, 2005. p. 333-374.

NASCIMENTO, W.M.O.; CRUZ, E.D.; MORAES, M.H.D.; MENTEN, J.O.M. Qualidade sanitária e germinação de sementes de *Pterogyne nitens* Tull. (Leguminosae – Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 28, p. 149-153, 2006.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: Mac Millan Press. 1979. v. 1, 739 p.

OHLSON, O.C.; KRZYZANOWSKI, F.C.; CAIEIRO, J.T.; PANOBIANCO, M. Teste de envelhecimento acelerado em sementes de trigo. **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v. 32, n. 4 p. 118-124, 2010.

OLIVEIRA, S.R.S.; NOVENBRE, A.D.L.C. Teste de condutividade elétrica para as sementes de pimentão. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 27, n. 1, p. 31-36, 2005.

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

PEÑALOZA, P.; ROSALES, G.R.; McDONALD, M.B.; BENNETT, M. A. Lettuce (*Lactuca sativa* L.) seed quality evaluation using seed physical attributes, saturated salt accelerated aging and the seed vigour imaging system. **Electronic Journal of Biotechnology**, Valparaíso, v. 8, n. 3, p. 1-9, 2005.

PIVETA, G.; MENEZES, V.O.; PEDROSO, D.C.; MUNIZ, M.FB.; BLUME, E.; WIELEWICKI, A.P. Superação de dormência na qualidade de sementes e mudas: influência na produção de *Senna multijuga* (L. C. Rich.) Irwin e Barneby. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 40, n. 2, p. 281-288, 2010.

POZZI, C.R.; BRAGHINI, R.; BRAGHINI, R.; ARCARO, R.P.; ZORZETE, P.; ISRAEL, A.L.M.; POZAR, I.O.; DENUCCI, S.; CORRÊA, B. Mycoflora and occurrence of alternariol and alternariol monomethyl ether in Brazilian sunflower from sowing to harvest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, p. 5824-5828, 2005.

ROTEM, J. **The genus Alternaria: biology, epidemiology and pathogenicity**. Saint Paul: APS Press, 1994. 326 p.

ROVERI JOSÉ, S.C.B.; ANTONIETA NASSIF SALOMÃO, A.N.; MUNDIM, R.C.; PÁDUA, J.G. Umidificação de sementes de girassol após ultrassecagem em sílica gel e câmara de secagem. **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v. 31, n. 3, p. 16-26, 2009.

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.

SALUSTIANO, M.E.; MACHADO, J.C.; PITTIS, J.E. Patogenicidade de *Alternaria helianthi* (hansf.) e *Alternaria zinniae* (pape) ao girassol a partir de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 27, n. 1, p. 138-143, 2005.

SANTOS, J.F.; ALVARENGA, R.O.; TIMÓTEO, T.S.; CONFORTO, E.C.; MARCOS FILHO, J. VIEIRA, R.D. Avaliação do potencial fisiológico de lotes de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v. 33, n. 4 p. 743-751, 2011.

SATURNINO, H.M.; PACHECO, D.D.; KAKIDA, J.; TOMINAGA, N.; GONÇALVES, N.P. Produção de oleaginosas para o biodiesel. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 26, n. 229, p. 44-74, 2005.

SILVA, M.S.; BROMMONSCHENKEL, S.H.; FARIA, J.M.R.; BORGES, E.E.L. Partial characterization of genes from the embryonic axis of *Melanoxylon brauna* Schott. (Leguminosae-Caesalpinioideae) seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v. 34, n. 1 p. 29-38, 2012.

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

VENKTESH, A.; PRAKASH, V. Functional properties of the total proteins of sunflower *Helianthus annuus* L.) seed – effect of physical and chemical treatments. **Journal of agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 41, p. 18-23, 1993.

VIEIRA, M.G.G.C.; CARVALHO, M.L.M.; MACHADO, J.C. **Controle de qualidade de sementes**. Lavras: UFLA; FAEPE, 1999. 113 p.