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

**Avaliação da estrutura e do potencial fisiológico de sementes de crotalária
por meio de recursos de análise de imagens**

Natália Arruda

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

**Piracicaba
2012**

Natália Arruda
Engenheiro Agrônomo

Avaliação da estrutura e do potencial fisiológico de sementes de crotalária por meio de recursos de análise de imagens

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

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

Piracicaba
2012

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

Arruda, Natália

Avaliação da estrutura e do potencial fisiológico de sementes de crotalária por meio de recursos de análise de imagens / Natália Arruda.- - Piracicaba, 2012.
55 p: il.

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

1. Crotalária 2. Germinação de sementes - Vigor 3. Plântulas 4. Raios X 5. Sementes - Fisiologia I. Título

CDD 633.562
A779a

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

Dedico

Aos Meus Pais,

Walmir e Lúcia

*Pelo carinho e dedicação e
por serem minha fortaleza e a razão do meu viver*

Aos meus irmãos

Isadora e Vitor

*Pela amizade e apoio nos momentos difíceis da minha vida e
por serem a razão da minha alegria*

Ofereço

Aos meus familiares,

*em especial meus avós paternos, Luiz e Benedicta,
meus avós maternos, Milton e Patrocínia.*

Aos meus cunhados,

Maurício e Daiane

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por todo amor que Ele tem por nós e pela presença constante em minha vida. Peço serenidade necessária para aceitar as coisas que não posso mudar, coragem para mudá-las e sabedoria para distingui-las;

À Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” pela oportunidade de realizar meu grande sonho em fazer Pós-Graduação;

Ao professor Silvio Moure Cicero, pela dedicada orientação, confiança, amizade, conhecimentos transmitidos e exemplo profissional;

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

À empresa Pirai Sementes, pela cessão das sementes para a realização desta pesquisa;

Aos professores do curso de Agronomia da UNESP – Ilha Solteira, em especial ao Prof. Dr. Marco Eustáquio de Sá e Prof. Dr. Gisele H. Vazquez, pelos conhecimentos transmitidos, ótimo relacionamento e pela minha formação acadêmica;

Aos professores Ana Dionísia da Luz Coelho Novembre e Julio Marcos Filho, pelos ensinamentos, pela amizade e pelo exemplo profissional;

Em especial, agradeço o Prof. Dr. Julio Marcos Filho, pelo convívio, paciência, ensinamentos, atenção e orientação nesta dissertação. Obrigada por tudo, sou e serei sempre grata ao Senhor;

À Helena M. C. P. Chamma, pela amizade, apoio, incentivo. Você é a nossa mãezinha sempre cuidando com muito carinho de todos que passam pelo Laboratório de Análise de Sementes;

Aos funcionários do laboratório, Adilson, Hodair, João, Ticão, Zezé e Ivanir 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;

Aos amigos do laboratório Cris, Vitinho, Vanessa, Rô, Si, Clíssia, Chiquinho, Marcão, Marcio, Renê, Jú, Nayara, Cibele, Mário, Larissa, Vivian e Helen pela amizade, paciência e companheirismo. Em especial a Rê, Denis (Pinga) e Paty, obrigada por todos os momentos de alegrias e tristezas, vocês sempre estavam do meu lado;

À minha amiga-irmã, Bruninha, que foi um presente de Deus na minha vida em Piracicaba, minha confidente, conselheira. Aprendi tanto com você nesses dois anos de convivência, que Deus continue te abençoando e te iluminando, muito sucesso e que você seja muito feliz.

À minha irmãzinha, Carti, que foi verdadeira providência e um anjo de Deus em minha vida, uma das pessoas mais determinadas que eu conheço, obrigada pela amizade, mesmo distante;

Aos amigos companheiros de moradia (Pensão Dona Toshie), pelo carinho, amizade e incentivo. Obrigada por serem minha família aqui em Piracicaba;

Aos amigos do GOU (Grupo de Oração Universitário), em especial, Deia, Tati, Mari e Gabizinha, pessoas iluminadas por Deus, obrigada pelas partilhas, alegrias e troca de experiências;

Aos amigos da Pós-graduação da ESALQ, em especial, Tati, Fabrícia, Sandrinha, Léo, Conan, Jú bahiana, Lore, Gustavo, Ana Paula, Felipe, Márcia, Ana Beatriz, por todos os momentos, intervalo de aulas, estudos, desesperos, orações e descontrações. Muito obrigada pela amizade e companheirismo;

As minhas amigas de Botucatu, Carlinha, Mirela, Flavinha, Grazy e Mayra, obrigada pela amizade de tantos anos;

As minhas amigas-irmãs de Ilha Solteira, Erika e Isabela (Fela) “A amizade sincera nunca é esquecida, apenas cristalizada, para um momento qualquer, e quando é reencontrada é de novo reacendida e vivida plenamente”;

Aos meus amigos de Ilha Solteira, em especial a XXX Turma de Agronomia, Mariana, LÍlian, Fabiana e Helena pela amizade, companheirismo e ensinamentos.

A minha família, meus irmão, meus avós, tios, cunhados, pelo amor, apoio e dedicação, que me possibilitaram cumprir mais uma etapa.

Aos meus amados pais digo muito obrigada, não há palavra que expresse minha gratidão e orgulho. Como agradecer a tantas renúncias, dedicação, conselhos, lições e as lágrimas derramadas. Vocês sempre serão meu porto seguro, meu exemplo de vida.

MUITO OBRIGADA!

Paciência

*Meu filho, se entrares para o serviço de Deus,
permanece firme na justiça e no temor,
e prepara a tua alma para a provação;
humilha teu coração espera com paciência,
dá ouvidos e acolhe as palavras de sabedoria;
não te perturbes no tempo da infelicidade,
sofre as demoras de Deus;
dedica-te a Deus, espera com paciência,
afim de que no derradeiro momento tua vida se enriqueça.*

Aceita tudo o que acontecer.

*Na dor, permanece firme;
na humilhação, tem paciência.*

*Pois é pelo fogo que se experimentam o ouro e prata,
e os homens agradáveis a Deus, pelo caminho da humilhação.*

*Põe tua confiança em Deus e ele te salvará;
orienta bem o teu caminho e espera nele.*

Conserva o temor a ele até na velhice.

(Eclesiástico 2)

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO.....	15
Referências	16
2 AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA DE SEMENTES DE <i>Crotalaria juncea</i> UTILIZANDO TESTE DE RAIOS X.....	17
Resumo	17
Abstract.....	17
2.1 Introdução.....	17
2.2 Desenvolvimento	19
2.2.1 Material e Métodos.....	19
2.2.1.1 Teor de água	19
2.2.1.2 Teste de raios X	19
2.2.1.3 Teste de germinação	21
2.2.1.4 Análise Estatística.....	22
2.3 Resultados e Discussão.....	22
2.4 Conclusão	30
Referências	30
3 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FISIOLÓGICO DAS SEMENTES DE CROTALÁRIA UTILIZANDO SISTEMA COMPUTADORIZADO DE ANÁLISE DE IMAGENS DE PLÂNTULAS (SVIS®)	33
Resumo	33
Abstract.....	33
3.1 Introdução.....	34
3.2 Desenvolvimento	36
3.2.1 Material e Métodos.....	36
3.2.1.1 Grau de umidade.....	36
3.2.1.2 Germinação.....	37
3.2.1.3 Primeira contagem de germinação	37
3.2.1.4 Envelhecimento acelerado	37
3.2.1.5 Emergência de plântulas em areia	37
3.2.1.6 Condutividade elétrica.....	38

3.2.1.7 Análise de imagens de plântulas com o auxílio do sistema computacional <i>Seed Vigor Imaging System</i> (SVIS [®]).....	38
3.2.1.8 Análise Estatísticas	42
3.3 Resultados e Discussão	42
3.3.1 Primeira época de avaliação.....	42
3.3.1.1 Grau de umidade, germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, porcentagem e velocidade de emergência de plântulas em areia, e condutividade elétrica.....	42
3.3.1.2 Análise de Imagens de plântulas (<i>Seed Vigor Imaging System</i> – SVIS [®])	45
3.3.2 Segunda época de avaliação.....	46
3.3.2.1 Grau de umidade, germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, porcentagem e velocidade de emergência de plântulas em areia, e condutividade elétrica.....	46
3.3.3.2 Análise de Imagens de plântulas (<i>Seed Vigor Imaging System</i> – SVIS [®])	48
3.4 Conclusão.....	50
Referências.....	50
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	55

RESUMO

Avaliação da estrutura e do potencial fisiológico de sementes de crotalária por meio de recursos de análise de imagens

A utilização de procedimentos rápidos e confiáveis para análise de sementes é fundamental para a tomada de decisões nas diferentes etapas do processo produtivo e definição do destino dos lotes de sementes. Neste sentido, os objetivos desta pesquisa foram: a) avaliar a estrutura de sementes de crotalária, utilizando raios X para avaliação das partes da semente, identificação de possíveis danos causados por injúrias mecânicas, por percevejo e tecidos deteriorados nas sementes e sua relação com a germinação; b) verificar a possibilidade de utilização do sistema computadorizado de análise de plântulas (SVIS[®]) para detectar diferenças de vigor entre lotes de sementes de *Crotalaria juncea*, em comparação com as informações fornecidas por testes tradicionalmente utilizados para a espécie. Foram utilizadas seis lotes de sementes de crotalária do cultivar IAC-KR1, tanto para avaliação da estrutura de sementes quanto para a análise de imagens 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. Inicialmente as sementes foram submetidas ao teste de raios X e ao teste de germinação. As plântulas normais, anormais e sementes mortas foram fotografadas e analisadas paralelamente às imagens radiográficas das sementes. Na segunda etapa da pesquisa, os seis lotes foram submetidos a testes de germinação e de vigor (primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, emergência de plântulas em areia e condutividade elétrica). Para determinação do vigor das sementes por meio do SVIS[®], as plântulas foram avaliadas aos três e quatro dias após a semeadura do teste de germinação, sendo obtidos dados referentes ao índice de uniformidade de desenvolvimento, vigor e comprimento de plântulas. Concluiu-se que a análise de imagens de raios X permite identificar danos mecânicos, por percevejo e tecidos deteriorados em sementes de crotalária e relacioná-las com a germinação; o SVIS[®] é uma alternativa viável para a avaliação do vigor de sementes de crotalária.

Palavras-chave: *Crotalaria juncea*; Raios X; SVIS[®]; Germinação; Vigor

ABSTRACT

Evaluation of the structure and physiological potential of sun hemp seeds using image analysis

Fast and reliable procedures for analyzing seeds are fundamental for taking decisions during the different production stages and defining the destination of seed lots. Therefore, the objectives of this study were: a) to study the structure of sun hemp seeds with X-ray to evaluate the seed parts and identify possible damage caused by mechanical injuries, stink bugs and deteriorated tissues and their relation to germination; b) verify the possibility of using a computerized seedling analysis system (SVIS[®]) to detect differences in vigor between seed lots of *Crotalaria juncea*, and compare the results with those obtained from vigor tests used for the species. Six lots of the sun hemp cultivar IAC-KR1 were used to evaluate seed structure and also to analyze seedling images. The internal morphology seed was analyzed only at the beginning of the study whereas the computer analysis of seedling images and the other vigor tests were done at two different times, four months apart. The seeds were first submitted to X-ray and germination tests. Normal and abnormal seedlings and dead seeds were photographed and analyzed at the same time as the seed X-ray images. In the second stage of the study, the six lots were submitted to germination and vigor (first germination count, accelerated aging, seedling emergence in sand and electrical conductivity) tests. To determine the seed vigor using the SVIS[®], the seedlings were evaluated three and four days after sowing for the germination test, when data on the uniformity development index, vigor and seedling length were obtained. It was concluded that the analysis of X-ray images is efficient for identifying mechanical damage, stink bug damage and deteriorated tissues and allowed to establish an association between their occurrence and germination; the SVIS[®] is a viable alternative for evaluating the vigor of sun hemp seeds.

Keywords: *Crotalaria juncea*; X-ray; SVIS[®]; Germination; Vigor

1 INTRODUÇÃO

A crotalária (*Crotalaria juncea* L.) é uma leguminosa originária da Índia e Ásia Tropical, com ampla adaptação às regiões tropicais. Trata-se de uma espécie subarborescente de porte alto (2,0 a 3,0 m), pubescente, de caule ereto, semilenhoso, ramificado na parte superior, com talos estriados. As folhas são unifoliadas (simples), com pecíolo quase nulo, sésseis, elípticas, lanceoladas e mucronadas e com nervura principal fortemente pronunciada. As flores possuem de 2 a 3 cm de comprimento (15 a 50 flores por inflorescência). Possui vagens longas, densamente pubescentes, com 10 a 20 grãos de coloração verde-acinzentada, reniformes e de face lisa (CALEGARI, 2002).

É cultivada em muitos países para a produção de fibras, como na Ásia tropical e Rússia meridional (CALEGARI et al., 1993). A fibra extraída da casca de crotalária é mais durável do que a da juta e é utilizada na fabricação de cordas, tapetes, lonas, cordames e na indústria de papel para cigarros. As hastes secas e o feno são utilizados como forrageira para os animais domésticos.

No Brasil, a *Crotalaria juncea* foi introduzida inicialmente para a produção de fibras, mas se difundiu como planta condicionadora de solo. Utilizada como cobertura viva, contribui para o incremento da fertilidade e redução da erosão do solo. Além dessas características, tem sido muito utilizada como adubo verde em países tropicais, devido à grande produção de biomassa em um curto período de tempo (60 a 90 dias), incremento de matéria orgânica ao solo e sequestro de carbono, além de fixar nitrogênio atmosférico.

Na literatura vários trabalhos tem mencionado a crotalária como leguminosa com alto potencial para a adubação verde, em sistemas de rotação ou em consórcio, com efeitos consideráveis na produtividade de culturas de grande expressão econômica como milho, trigo, arroz, café, algodão e, principalmente, na cana de açúcar. Sua utilização tem crescido consideravelmente pela sua eficiência no controle de populações de nematoides e na supressão de plantas daninhas.

O uso da adubação verde proporciona viabilidade econômica e sustentabilidade aos sistemas de produção, por reduzir a necessidade da aplicação de nitrogênio sintético e pela diminuição de aplicação de agroquímicos.

O sucesso da atividade de produção de crotalária, assim como o de qualquer outra espécie multiplicada por sementes, se inicia com a utilização de sementes de alta qualidade; no caso da crotalária, uma das principais limitações à produção de sementes é a ocorrência de insetos nocivos. As principais pragas são a lagarta-das-vagens (*Utethesia ornatrix*) que ataca a

inflorescência e as vagens e o percevejo (*Thyanta perditor*) que ataca a vagem e as sementes. Outro fator importante é a desuniformidade na maturação das sementes que pode provocar sérias perdas na colheita.

A ocorrência de danos mecânicos em sementes também tem gerado grande preocupação entre os pesquisadores e produtores; portanto, o controle da ocorrência destes danos é de suma importância dentro do processo de produção de sementes visto que podem acarretar perdas significativas de qualidade das sementes, com relação aos atributos físicos, fisiológicos e sanitário. Portanto a utilização de procedimentos eficientes para análise de sementes é fundamental para identificar esses problemas e permitir a adoção de procedimentos para solucioná-los.

Nos últimos anos houve avanço no uso de sistemas automatizados para a avaliação do potencial fisiológico e avaliação da estrutura de sementes, destacando-se, respectivamente, a análise de imagens de plântulas (SVIS[®]) e o teste de raios X, pois são testes rápidos e confiáveis que auxiliam na tomada de decisões para aprimoramento da qualidade e definição do destino dos lotes de sementes. Na literatura há diversos trabalhos com resultados promissores para diferentes espécies; porém, para sementes de espécies utilizadas como adubo verde são escassas estas informações.

Diante do exposto, os objetivos dessa pesquisa foram relacionar a morfologia interna de sementes de *Crotalaria juncea*, por meio de imagens radiográficas, com a germinação e verificar a possibilidade de utilização do sistema de análise de imagens automatizado de plântulas, para detectar diferenças de vigor entre lotes de sementes de *Crotalaria juncea*, possibilitando oferecer alternativas para a composição de programas de controle de qualidade.

Referências

- CALEGARI, A. Rotação de culturas e uso de plantas de cobertura. In: Adubos verdes: espécies, características, ações e vantagens, diferentes métodos, plano de rotação e correção orgânica de acidez no perfil do solo. **Agroecologia Hoje**, Botucatu, n. 14, p. 12, 2002.
- CALEGARI, A; ALCÂNTARA, P.B.; MIYASAKA, S.; AMADO, T.J.C. Caracterização das principais espécies de adubos verdes. In: COSTA, M.B.B. da. (Coord.). **Adubação verde no sul do Brasil**. Rio de Janeiro: AS-PTA, 1993. p. 206-319.

2 AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA DE SEMENTES DE *Crotalaria juncea* UTILIZANDO TESTE DE RAIOS X

Resumo

O teste de raios X é um teste rápido, simples, não destrutivo e de alta precisão, que possibilita examinar com detalhes, a morfologia interna da semente, identificar áreas danificadas, sua localização e tipos de danos. Neste contexto, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar a eficiência do teste de raios X e relacionar a estrutura de sementes de *Crotalaria juncea* com a germinação. Foram utilizados seis lotes de sementes de *Crotalaria juncea*, cultivar IAC-KR1. As sementes foram submetidas aos testes de raios X e germinação. As plântulas normais, anormais e sementes mortas foram fotografadas e analisadas paralelamente às imagens radiográficas das sementes. Verificou-se que a análise de imagens radiográficas é eficiente na identificação de danos mecânicos, danos por percevejos e tecidos deteriorados em sementes de *Crotalaria juncea*, permitindo estabelecer relação entre sua ocorrência e o prejuízo causado à germinação.

Palavras-chave: Análise de imagens; Morfologia interna; Germinação

Abstract

The X-ray test is a simple, fast, non-destructive and highly precise test to evaluate the internal seed morphology, damaged areas, their location and type. The objective of the present study was to evaluate the efficiency of the X-ray test and relate the structure of *Crotalaria juncea* seeds to germination. Six lots *Crotalaria juncea* seeds of the IAC-KR1 cultivar were submitted to the X-ray test and the first germination count. Normal and abnormal seedlings and dead seeds were photographed and the results compared with the seed X-ray images. Results showed that an analysis of X-ray images is efficient for identifying mechanical damage, stink bug damage and deteriorated tissues in *Crotalaria juncea* seeds and allowed to establish an association between their occurrence and germination.

Keywords: Image analysis; Internal morphology; Germination

2.1 Introdução

O estabelecimento bem sucedido de culturas de expressão econômica requer a utilização de sementes de alta qualidade. Técnicas simples e rápidas que forneçam com precisão, informações a respeito da qualidade de sementes podem contribuir para a seleção de lotes em programas de controle de qualidade e, consequentemente, aumentar a eficiência do sistema de produção.

A semente de soja, assim como a semente de crotalária é muito sensível ao dano mecânico, uma vez que as partes vitais do eixo embrionário estão situadas sob tegumento pouco espesso, que praticamente não lhe oferece proteção (FRANÇA NETO; HENNING,

1984); assim, injúrias mecânicas, causadas durante os processos de colheita e de beneficiamento das sementes, são uma das principais causas da redução da sua qualidade (PAIVA; MEDEIROS; FRAGA, 2000), podendo levar à condenação dos lotes de sementes.

Dentre os recursos disponíveis para análise de sementes, o uso do teste de raios X, técnica recomendada pela “International Seed Testing Association” – ISTA (2004) é de grande valia muitas espécies, por ser um teste não destrutivo, rápido e com a finalidade básica de detectar anormalidades morfológicas e estruturais da semente e identificar suas causas.

O princípio da técnica consiste na absorção de raios X em diferentes quantidades pelos tecidos das sementes, dependendo da espessura, densidade e composição desses tecidos, além do comprimento de onda da radiação (SIMAK, 1991; BINO; AARTSE, BURG van der, 1993; ISTA, 2004). As sementes são colocadas entre uma fonte de baixa energia de raios X e um filme fotossensível. Quando os raios X atravessam a semente e atingem o filme, é criada uma imagem latente. Após o processamento do filme, uma imagem de sombras claras e escuras é formada, criando uma imagem permanente no filme radiográfico. As áreas mais escuras da radiografia correspondem àquelas partes em que os raios X penetram mais facilmente, enquanto áreas mais claras representam partes mais densas da semente (SIMAK, 1991).

O teste de raios X tem sido utilizado em pesquisas com sementes desde a década de cinquenta, quando Simak e Gustafsson (1953) demonstraram sua viabilidade para a avaliação da qualidade de sementes de *Pinus sylvestris* L. Assim, essa técnica foi empregada em trabalhos de melhoramento genético, possibilitando a detecção de anormalidades em embriões e a determinação do seu estágio de desenvolvimento, bem como no isolamento de embriões mutantes de *Arabidopsis thaliana* (BINO; AARTSE, BURG van der, 1993). Também permitiu relacionar a morfologia de sementes com a germinação ou morfologia das plântulas de diversas espécies agrícolas e florestais (BURG van der et al., 1994; BATTISTI et al., 2000; MACHADO; CICERO, 2003; OLIVEIRA; CARVALHO; DAVIDE, 2003; MONDO; CICERO, 2005; PUPIM et al., 2008; PINTO et al., 2009a; CARVALHO; ALVES; OLIVEIRA, 2010; GAGLIARDI; MARCOS-FILHO, 2011; KOBORI; CICERO; MEDINA, 2012)

O teste de raios X também foi eficiente para identificar injúrias por “umidade” em sementes de soja (OBANDO-FLOR et al., 2004; FORTI; CICERO; PINTO, 2010) e por percevejo em sementes de soja (OBANDO-FLOR et al., 2004; PINTO et al., 2009b) e de feijão (FORTI; CICERO; PINTO, 2008), avaliação de fissuras em sementes de arroz (MENEZES et al., 2012), além de injúrias mecânicas em sementes de milho (CICERO et al.,

1998; CARVALHO et al., 1999; CICERO; BANZATTO JUNIOR, 2003; GOMES JUNIOR; CICERO, 2012).

O teste de raios X tem sido considerado eficiente para avaliação de danos mecânicos em sementes, pois 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; BURG van der, 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, objetivo desta pesquisa foi avaliar a eficiência do teste de raios X em relacionar a estrutura de sementes de *Crotalaria juncea* com a germinação.

2.2 Desenvolvimento

2.2.1 Material e Métodos

A pesquisa foi conduzida 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, em Piracicaba/SP. Foram utilizados seis lotes de sementes de crotalária (*Crotalaria juncea*), cultivar IAC-KR1, e conduzidas as avaliações discriminadas a seguir.

2.2.1.1 Teor de água

O teor de água foi determinado antes da instalação dos testes de raios X e de germinação, pelo método da estufa a 105 °C (± 3), durante 24 horas (BRASIL, 2009), em duas amostras de 5 g. Os resultados foram expressos em percentagem média (base úmida) por lote.

2.2.1.2 Teste de raios X

O teste de raios X foi realizado em oito repetições de vinte e cinco sementes por lote. As sementes foram dispostas em uma lâmina de plástico transparente, colocando-se uma fita adesiva dupla-face transparente para fixar as sementes em posição adequada (todas as sementes foram posicionadas com o eixo embrionário voltado para cima). As sementes foram

numeradas de acordo com a posição ocupada na lâmina de plástico de maneira que pudessem ser identificadas nas avaliações posteriores. Em seguida, a lâmina com as sementes foi colocada no interior de um equipamento digital de raios X, Faxitron modelo MX-20 DC-12, com ajuste automático do tempo de exposição e da intensidade de raios X, acoplado a um computador Core 2 Duo (3.16 GHz, 2 GB de memória RAM, Hard Disk de 160 GB) e monitor MultiSyne (LCD 1990SX de 17 polegadas) e submetidas a uma distância de 19,1 cm da fonte de emissão de radiação. As imagens geradas foram salvas no disco rígido do computador para posterior análise. As sementes radiografadas foram retiradas da lâmina de plástico e transferidas para bandeja de acrílico com células individuais, numerando-se na mesma ordem em que estavam na lâmina de plástico. Posteriormente, as sementes foram submetidas a teste de germinação.

Os danos mecânicos, por percevejo e tecidos deteriorados observados na análise radiográfica das sementes, receberam notas de acordo aos critérios contidos na Tabela 2.1, seguindo a classificação feita por Cicero et al. (1998) para sementes de milho e modificado para sementes de *Crotalaria juncea*. Desta maneira, foram atribuídas as notas 1.1, 1.2, 1.3, 2.1, 2.2, 2.3, 3.1, 3.2 e 3.3, sendo o primeiro e o segundo número de cada notação corresponde ao eixo embrionário e aos cotilédones, respectivamente.

Paralelamente ao teste de raios X, a plântula ou a semente morta oriunda de cada semente após o teste de germinação, foi fotografada por meio de uma câmera digital Nikon, modelo D1, acoplada a um computador Pentium 4 (3.0 GHz, 1 GB de memória RAM, Hard Disk de 160 GB e um monitor de 21 polegadas). As imagens radiográficas das sementes foram observadas no monitor do computador, paralelamente às imagens fotográficas das plântulas ou das sementes mortas, possibilitando um diagnóstico preciso das relações entre os danos (não severo e severo) e a observação de plântulas normais, de plântulas anormais ou de sementes mortas.

Tabela 2.1 – Critérios utilizados para caracterizar as notas para os danos mecânicos, por percevejos e tecidos deteriorados observados no eixo embrionário e nos cotilédones da semente de *Crotalaria juncea* do cv. IAC-KR1, por meio das imagens de raios X

Nota	Eixo embrionário	Cotilédones
1	Ausência de dano mecânico, de dano por percevejo e de tecidos deteriorados.	Ausência de dano mecânico, de dano por percevejo e de tecidos deteriorados.
2	Ausência de dano mecânico, porém, há dano por percevejo e tecidos deteriorados em menor extensão nas partes vitais (dano não severo).	Dano mecânico de pequena extensão sem perda de parte dos cotilédones, dano por percevejo e tecidos deteriorados em pequena extensão (dano não severo).
3	Dano mecânico em maior extensão que provoque a secção e perda do eixo embrionário, dano por percevejo e tecidos deteriorados em maior extensão nas partes vitais (dano severo).	Dano mecânico em maior extensão resultando perda de parte dos cotilédones, danos por percevejo e tecidos deteriorados em maior extensão (dano severo).

2.2.1.3 Teste de germinação

Realizado em papel toalha umedecido com água em uma proporção, em massa, de 1 : 2,5 (papel e água). As sementes, previamente numeradas (identificadas), foram distribuídas sobre duas folhas de papel-toalha (no terço superior do substrato, para permitir o desenvolvimento das plântulas de maneira individualizada), cobertas com outra folha. Os rolos foram mantidos em germinador, a 20-30°C, e a avaliação foi realizada no quarto dia após a semeadura, de acordo com os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Em seguida as plântulas normais (cujas sementes apresentavam algum tipo de dano), as plântulas anormais e as sementes mortas foram fotografadas e as imagens foram salvas em disco rígido do computador para posterior análise.

2.2.1.4 Análise Estatística

Os resultados provenientes da análise de imagens não foram analisados estatisticamente. O número de sementes classificadas dentro de cada nota e o total de plântulas normais, anormais e sementes mortas foram calculados em percentuais em relação à amostra de 200 sementes por lote. A interpretação dos resultados de raios X foi confrontada com as imagens fotográficas das plântulas ou das sementes mortas provenientes do teste de germinação.

2.3 Resultados e Discussão

O teor de água das sementes de *Crotalaria juncea* variou de 8,2 a 9,1% (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; 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.

Tabela 2.2 – Resultados do teor de água (%) dos seis lotes de sementes de *Crotalaria juncea* do cv. IAC-KR1

Lotes	Teor de água (%)
1	9,0
2	8,3
3	8,2
4	8,6
5	9,1
6	9,1

Para sementes de crotalária estes teores de água (8,2 - 9,1%) não apresentou dificuldade para a visualização do eixo embrionário e dos cotilédones (Figura 2.1). Em estudos realizados com análise de raios X em sementes de soja (PINTO; CICERO; FORTI, 2007) e feijão (FORTI; CICERO; PINTO, 2008), também foram possíveis visualizar a estrutura das sementes com teor de água superior a 9 %. É importante ressaltar que cada espécie possui características próprias de densidade e composição química, fatores que interferem significativamente na visualização das partes das sementes radiografadas.

Figura 2.1 – Identificação das partes da semente de crotalária (a): tegumento (tg), eixo embrionário (ex) e cotilédone (cot); semente má formada (b)

Na análise das imagens radiografadas observou-se baixo percentual de sementes mal formadas (a percentagem foi de no máximo 0,05 % do total de 1200 sementes). A semente mal formada não tinha outros tipos de danos; sendo assim, observou-se apenas a má formação do eixo embrionário ou dos cotilédones; assim, estas sementes receberam as notas de acordo com a localização da má formação, originando plântula normal (nota 1.2) ou anormal (notas 3.1 e 1.3).

Os resultados do teste de raios X para os seis lotes de *Crotalaria juncea* do cultivar IAV-KR1 podem ser observados na Tabela 2.3. De acordo com análise da estrutura das sementes verifica-se que as sementes de crotalária apresentaram vários tipos de danos, entre eles, dano mecânico, dano por percevejo e danos associados aos tecidos deteriorados, os quais proporcionaram prejuízo à germinação das sementes, uma vez que, os danos considerados severos, resultaram em plântulas anormais ou em sementes mortas.

Observando ainda a Tabela 2.3, verifica-se que as sementes que tiveram as notas 1.1 (ausência de danos no eixo) e 1.2 (dano não severo nos cotilédones) originaram mais de 65% de plântulas normais, isto foi observado para os lotes 1, 2, 3 e 4, tendo destaque para o lote 1 com 77% de plântulas normais (notas 1.1 e 1.2).

Também foi observado que sementes de crotalária com ausência de danos (nota 1.1) originaram plântulas anormais ou não germinaram. Isto foi verificado nos lotes 2 e 3 que tiveram as maiores porcentagens, 8 e 10% respectivamente, de plântulas anormais e no lote 6 maior porcentagem (2%) de sementes mortas (Figura 2.2). Conforme Burg van der et al. (1994), algumas sementes que apresentaram aspecto normal no teste de raios X, podem ter problemas na germinação, possivelmente devido a infecções por microrganismos ou por estarem fisiologicamente comprometidas.

Tabela 2.3 – Valores médios (%) de plântulas normais (PN), de plântulas anormais (PA), de sementes mortas (SM) e de sementes duras (SD) obtidos na primeira contagem do teste de germinação e respectivas notas atribuídas às imagens de raios X em seis lotes de sementes de *Crotalaria juncea* do cv. IAC-KR1

Nota ¹	Lote 1				Lote 2				Lote 3			
	PN	PA	SM	SD	PN	PA	SM	SD	PN	PA	SM	SD
1.1	73,0	4,5	-	1,5	56,5	8,0	-	1,0	59,5	10,0	-	-
1.2	4,0	-	-	-	3,0	-	-	-	4,0	-	-	-
1.3	-	1,5	-	-	-	0,5	-	-	-	0,5	-	-
2.1	0,5	-	-	-	0,5	-	-	-	1,5	-	-	-
2.2	1,0	-	-	-	0,5	-	-	-	2,5	-	-	-
2.3	-	-	0,5	-	0,5	2,0	1,0	-	-	3,5	-	-
3.1	-	7,5	0,5	-	-	6,0	0,5	-	-	7,5	-	-
3.2	-	0,5	-	-	-	3,5	1,0	-	-	2,0	-	-
3.3	-	4,5	0,5	-	-	13,0	2,5	-	-	7,0	2,0	-
T	78,5	18,5	1,5	1,5	61,0	33,0	5,0	1,0	67,5	30,5	2,0	-

Nota ¹	Lote 4				Lote 5				Lote 6			
	PN	PA	SM	SD	PN	PA	SM	SD	PN	PA	SM	SD
1.1	60,5	5,5	0,5	0,5	49,5	6,5	0,5	-	51,0	5,5	2,0	-
1.2	7,0	-	-	-	7,5	-	-	-	5,5	-	-	-
1.3	-	2,0	-	-	-	2,0	-	-	-	0,5	-	-
2.1	2,0	-	-	-	1,5	-	-	-	2,5	-	-	-
2.2	1,0	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-
2.3	-	1,5	-	-	-	2,5	0,5	-	-	2,0	0,5	-
3.1	-	9,0	1,0	-	-	10,5	1,0	-	-	13,0	5,0	-
3.2	-	2,0	1,0	-	-	2,5	0,5	-	-	1,5	0,5	-
3.3	-	5,5	1,0	-	-	11,0	3,0	-	-	5,5	5,0	-
T	70,5	25,5	3,5	0,5	59,5	35,5	5,5	-	59,0	28,0	13,0	-

¹O primeiro número refere-se ao 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

De acordo com a porcentagem de plântulas normais (Tabela 2.3) das sementes de crotalaria que apresentaram as notas 1.1, 1.2, 2.1 e 2.2, verifica-se numericamente que o lote 1 teve melhor desempenho, enquanto os lotes 5 e 6 foram os que apresentaram os piores desempenhos.

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 (CARVALHO; OLIVEIRA, 2006).

Figura 2.2 – Imagem radiográfica de semente de *Crotalaria juncea* do cv. IAC-KR1, com ausência de danos nas partes da semente (a), originando plântula anormal (b)

Os lotes tiveram baixa incidência de danos considerados não severos (nota 2.1 e 2.2); estes danos, na maioria das vezes, foram associados a tecidos deteriorados, originando plântula normal; porém, quando o dano não severo ocorreu no eixo embrionário e severo nos cotilédones (nota 2.3), foram originadas plântulas anormais ou as sementes não germinaram; normalmente neste caso houve danos por deterioração dos tecidos (eixo embrionário ou mais de 50% dos cotilédones) e dano mecânico ou por percevejo (cotilédones).

Na Tabela 2.3, verificou-se que todos os lotes tiveram, em média, cerca de 50% de plântulas anormais e de sementes não germinadas originadas por sementes com danos severos no eixo embrionário (nota 3.1) ou danos severos no eixo embrionário e nos cotilédones (nota 3.3), ou seja, a ocorrência de plântulas anormais e sementes mortas foram mais evidentes quando o dano (mecânico, por percevejo e tecido deteriorado) foi localizado no eixo embrionário. Como se pode observar, o lote 6, apresentou maior porcentagem de plântulas anormais e sementes mortas com a nota 3.1 (13 e 5% respectivamente) e o lote 2 com 13% de plântulas anormais originadas de sementes com nota 3.3.

Na Tabela 2.4 estão contidas as descrições dos principais tipos de danos observados de um total de 1200 sementes avaliadas, envolvendo os seis lotes de sementes dessa pesquisa. Por exemplo, sementes que, pelo teste de raios X, receberam nota 3.2, podem ser caracterizadas por trincas ou fissuras, tecidos deteriorados ou dano por percevejo no eixo embrionário. Os danos nos cotilédones, para serem considerados não severos, podem ser caracterizados por: tecidos deteriorados, fissuras ou trincas, dano por percevejos; entretanto, esses danos devem estar distantes do eixo embrionário e menos de 50% (análise visual) dos cotilédones. Em alguns casos podem ocorrer dois ou mais tipos de danos em uma única semente.

Tabela 2.4 – Descrição e percentual de ocorrência dos principais tipos de danos observados em sementes de *Crotalaria juncea* do cv. IAC-KR1, avaliadas por meio do teste de raios X

Descrição dos danos	Ocorrência ¹	Exemplos
Trincas ou fissuras nos cotilédones, sem atingir o eixo embrionário (notas 1.2 e 1.3)	1,92 %	Figura 2.5 a
Trincas ou fissuras em diversas partes da semente (notas 2.3, 3.1, 3.2 e 3.3)	16,67 %	Figura 2.4 a, c
Dano por percevejo nos cotilédones, sem atingir o eixo embrionário (notas 1.2 e 1.3)	0,67 %	Figura 2.3 a
Dano por percevejo e fissuras no eixo embrionário e nos cotilédones (notas 2.2, 2.3, 3.1, 3.2 e 3.3)	3,58 %	Figuras 2.8a e 2.9 a
Tecidos deteriorados nos cotilédones, sem atingir o eixo embrionário (notas 1.2 e 1.3)	3,33 %	Figura 2.7 a
Tecidos deteriorados em diversas partes da semente (notas 2.3, 3.2 e 3.3)	4,17 %	Figura 2.6 a

¹Percentual em relação ao total de 1200 sementes avaliadas por meio do teste de raios X

Entre as sementes analisadas, aquelas que foram notificadas com dano severo no eixo embrionário e nos cotilédones (2.3, 3.1, 3.2 e 3.3), representados pelas trincas e fissuras em diversas partes da semente, foram as de maior ocorrência, com 16,67 %. Por outro lado, as sementes que apresentavam o dano por percevejo nos cotilédones (Figura 2.3), sem atingir o eixo embrionário (notas 1.2 e 1.3), tiveram menores ocorrências, com 0,67 % (Tabela 2.4).

Figura 2.3 – Imagem radiográfica de semente de *Crotalaria juncea* do cv. IAC-KR1 (a), apresentando dano por percevejo nos cotilédones (nota 1.3), originando plântula anormal (b)

Nas Figuras 2.4 a e 2.4 c, observam-se danos severos causados por trincas ou fissuras em diversas partes das sementes, resultando em sementes mortas (Figuras 2.4 b e 2.4 d). É importante destacar esse tipo de dano foi o que ocorreu com maior frequência nas sementes em estudo; a crotalária, pertencente da mesma família da soja tem o mesmo problema, suas sementes são muito sensíveis ao dano mecânico, uma vez que as partes vitais do eixo embrionário (radícula, hypocótilo e plúmula) estão situadas sob um tegumento pouco espesso, que praticamente não lhes oferece proteção.

A principal fonte de injúrias mecânica é a operação de colheita (FRANÇA NETO; HENNING, 1984). Segundo Calegari et al. (1993) a colheita é um dos principais limites para produção de sementes de crotalária, devido a maturação desuniforme, pois há muita perda na colheita por deiscência das vagens ou por dano mecânico imediato ou latente.

Outra verificação importante é que algumas sementes, além dos danos mecânicos (trincas ou fissuras), também apresentavam manchas escuras associadas a tecidos deteriorados, indicado com a seta na Figura 2.4 c.

Figura 2.4 – Imagens radiográficas de sementes de *Crotalaria juncea* do cv. IAC-KR1 (a, c), apresentando dano mecânico no eixo embrionário e nos cotilédones (nota 3.3), resultando em sementes mortas (b, d)

Na Figura 2.5, o dano mecânico severo (1.3) observado próximo ao eixo embrionário (Figura 2.5 a) é muito importante, pois impede a translocação de substâncias de reservas dos cotilédones para a região meristemática, resultado em plântula anormal (Figura 2.5 b).

Figura 2.5 - Imagem radiográfica de semente de *Crotalaria juncea* do cv. IAC-KR1 (a), com ausência de dano mecânico no eixo embrionário e danos mecânicos severos nos cotilédones (nota 1.3), originando plântula anormal (b)

Nesta pesquisa também foi observado 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, também houve casos em que houve perda total da região do eixo embrionário, e consequentemente, resultaram em sementes

mortas. Por outro lado, foram observadas plântulas normais provenientes de sementes com rupturas ou perdas de parte dos cotilédones. Nestes casos, as plântulas apresentavam menor tamanho em relação às oriundas de sementes intactas ou com danos não severos restritos aos cotilédones e distante do eixo embrionário.

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

Na Tabela 2.4, observa-se que 4,17% das sementes apresentam danos severos ocasionados por deterioração dos tecidos em diversas partes da semente (Figura 2.6 a). Estas sementes na maioria das vezes resultaram em plântulas anormais ou sementes mortas. Observa-se também que 3,33% das sementes apresentavam danos não severos (nota 1.2) e severos (1.3) ocasionados por deterioração dos tecidos nos cotilédones sem atingir o eixo embrionário, originando assim, plântulas normais (nota 1.2) e anormais (nota 1.3) (Figura 2.7).

As sementes que apresentavam danos severos nos cotilédones (mais de 50% de tecidos deteriorados ou próximo ao eixo embrionário) e no eixo embrionário na maioria das vezes resultaram em plântulas anormais ou sementes mortas, principalmente quando o dano era no eixo embrionário. Essa constatação também foi observada por Mondo e Cicero (2005) em sementes de milho.

Na Figura 2.8, observa-se dano por percevejos e fissuras no eixo embrionário e nos cotilédones (notas 2.3, 3.1, 3.2, e 3.3), representando 3,68 % do total de sementes analisadas, resultando em plântulas anormais (Figura 2.8 b) ou sementes mortas. Pela análise das imagens radiográficas, foi possível observar que as sementes que apresentaram danos por percevejo no eixo embrionário, resultaram, em sua maioria, sementes mortas (Figura 2.9 b).

Segundo França Neto, Kryzanowski e Costa (1998), o dano ocasionado pela picada do percevejo, dependendo do local e extensão da área lesionada, como o eixo embrionário, torna a semente incapaz de germinar, uma vez que essa região é vital nos processos metabólicos, pois aí estão inseridas as partes do embrião (plúmula, hipocótilo e radícula) que darão origem a futura plântula.

Figura 2.6 - Imagem radiográfica de semente de *Crotalaria juncea* do cv. IAC-KR1 (a), apresentando tecido deteriorado no eixo embrionário e nos cotilédones (nota 3.3), originando plântula anormal (b)

Figura 2.7 - Imagem radiográfica de semente de *Crotalaria juncea* do cv. IAC-KR1 (a), apresentando tecido deteriorado nos cotilédones (nota 1.2), originando plântula normal (b)

Figura 2.8 - Imagem radiográfica de semente de *Crotalaria juncea* do cv. IAC-KR1 (a), apresentando dano mecânico no eixo embrionário e dano mecânico e por percevejo nos cotilédones (nota 3.3), originando plântula anormal (b)

Figura 2.9 – Imagem radiográfica de semente de *Crotalaria juncea* do cv. IAC-KR1 (a), apresentando dano por percevejo no eixo embrionário (nota 3.1), resultando em semente morta (b)

O teste de raios X apresentou eficiência na avaliação da estrutura das sementes de crotalária e pôde-se verificar que a presença de danos mecânicos, por percevejo e de tecidos deteriorados considerados severos na região do eixo embrionário e nos cotilédones resultaram em plântulas anormais ou em sementes mortas. Por outro lado, ficou evidente que essas ocorrências nos cotilédones, classificadas como pouco severos, de maneira geral, não prejudicaram a germinação.

2.4 Conclusão

A análise de imagens de raios X é eficiente na identificação de danos mecânicos, danos por percevejo e danos associados à deterioração de tecidos em sementes de *Crotalaria juncea*, permitindo estabelecer relação entre sua ocorrência e 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.; BURG, W.J. van der. Non destructive X-ray of Arabidopsis embryo mutants. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 3, p. 167-170, 1993.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 395p.
- 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.

CALEGARI, A.; ALCÂNTARA, P.B.; MIYASAKA, S.; AMADO, T.J.C. Caracterização das principais espécies de adubos verde. In: COSTA, M.B.B. da. (Coord.). **Adubação verde no sul do Brasil**. Rio de Janeiro: AS-PTA, 1993. p. 206-319.

CARVALHO, M.L.M.; OLIVEIRA, L.M. Raios X na avaliação da qualidade de sementes. **Informativo Abrates**, Curitiba, v. 16, n. 1/3, p. 2-3, 2006.

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

CARVALHO, M.L.M.; VAN AELST, A.C.; VAN ECK, J.W.; HOEKSTRA, F.A. Preharvest stress cracks in maize (*Zea mays* L.) kernels as characterized by visual, X-ray and low temperature scanning electron microscopical analysis: effect on kernel quality. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 9, n. 3, p. 227-236, 1999.

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.

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

_____. Avaliação da evolução de danos por “umidade” e redução do vigor em sementes de soja, cultivar TMG113-RR, durante o armazenamento, utilizando imagens de raios-X e testes de potencial fisiológico. **Revista Brasileira de Sementes**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 123-133, 2010.

FRANÇA NETO, J.B.; HENNING, A.A. **Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA – CNPSo, 1984. 39 p. (Circular Técnica, 9).

FRANÇA NETO, J.B.; KRYZANOWSKI, F.C.; COSTA, N.P. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1998. 72 p. (EMBRAPA-CNPSo Documentos, 116).

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

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

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

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**, Viçosa, 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.

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

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

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**, Londrina, v. 25, n. 1, p. 116-120, 2003.

PAIVA, L.E.; MEDEIROS, S.F.; FRAGA, A.C. Beneficiamento de sementes de milho colhidas mecanicamente em espigas: efeitos sobre danos mecânicos e qualidade fisiológica. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 24, p. 846-856, 2000.

PINTO, T.L.F.; CICERO, S.M.; FRANÇA-NETO, J.B.; FORTI, V.A. An assessment of mechanical and stink bug damage in soybean seed using X-ray analysis test. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.37, n.1, p.110-120, 2009a.

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, 2009b.

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 Sementes**, Londrina, v. 29, n. 3, p. 28-34, 2007.

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.

3 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FISIOLÓGICO DAS SEMENTES DE CROTALÁRIA UTILIZANDO SISTEMA COMPUTADORIZADO DE ANÁLISE DE IMAGENS DE PLÂNTULAS (SVIS®)

Resumo

Técnicas simples e rápidas que forneçam com precisão, informações a respeito da qualidade de sementes podem contribuir para a seleção de lotes em programas de controle qualidade e, conseqüentemente, aumentar a eficiência do sistema de produção. Neste contexto a presente pesquisa teve como objetivo avaliar a eficiência do sistema computadorizado de análise de imagens de plântulas (*Seed Vigor Imaging System* – SVIS®), em comparação a outros testes, para determinação do vigor de sementes de crotalária. Foram utilizados seis lotes de sementes de *Crotalaria juncea*, cultivar IAC-KR1, avaliados em duas épocas, com intervalo de 4 meses; os lotes de sementes permaneceram em ambiente controlado (20 °C e $\pm$ 45 % de UR do ar). Para determinar o potencial fisiológico, os lotes de sementes foram submetidos a testes de germinação e de vigor (primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, emergência de plântulas em areia e condutividade elétrica). Para determinação do vigor das sementes por meio do SVIS®, as plântulas foram avaliadas aos três e quatro dias após a semeadura do teste de germinação, sendo obtidos dados referentes ao índice de vigor, à uniformidade de desenvolvimento e comprimento de plântulas. Verificou-se que análise computadorizada de imagens de plântulas com quatro dias de idade, utilizando-se o *software* SVIS®, é eficiente para avaliação do vigor de sementes de crotalária.

Palavras-chaves: *Crotalaria juncea*; Análise de imagens; Vigor

Abstract

Simple and fast techniques, which provide accurate information on seed quality can help in lot selection for quality control programs and, consequently, increase production efficiency. Therefore, the objective of the current study was to evaluate the efficiency of the computerized system of seedling image analysis (*Seed Vigor Imaging System* – SVIS®), and compare the results to those from other tests for determining the vigor of sunn hemp seeds. Six lots of seeds of the cultivar IAC-KR1 were evaluated at two different times, four months apart; the seed lots were kept in a controlled environment (20 °C and $\pm$ 45 % de RH). The physiological potential of the seed lots was determined by submitting them to germination and vigor (first germination count, accelerated aging, seedling emergence in sand and electrical conductivity) tests. To determine seed vigor with the SVIS®, the seedlings were evaluated three and four days after sowing for the germination test, when data on the uniformity development index, vigor and seedling length were obtained. The computerized analysis of the images of 4-day old seedlings with the SVIS® software was considered efficient for evaluating the vigor of sunn hemp seeds.

Keywords: *Crotalaria juncea*; Image analysis; Vigor

3.1 Introdução

O estabelecimento do estande constitui a base para a formação de lavouras produtivas. No entanto, existem poucos trabalhos realizados com, o intuito de avaliar o potencial fisiológico das sementes de *Crotalaria juncea*. Esta é uma espécie muito importante, para utilização como adubo verde e pelo valor econômico como planta fibrosa.

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 (BRASIL, 2009). Por outro lado, Baalbaki et al. (2009) 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).

Os testes de vigor, de uso cada vez mais rotineiro pela indústria de sementes, constituem-se em instrumento imprescindível na determinação do potencial fisiológico de sementes. As empresas produtoras e as instituições oficiais têm incluído esses testes em programas internos de controle de qualidade para garantia do potencial fisiológico das sementes destinadas a comercialização (MARCOS-FILHO, 2005).

De acordo com Delouche (2004), o vigor está diretamente relacionado a taxa de deterioração da semente; à medida que esta avança, diminui a resistência ou tolerância da semente aos estresses ambientais e a emergência de plântulas em campo.

Vieira (1994) destacou a importância da utilização de vários testes para avaliação do vigor das sementes, uma vez que estas podem mostrar reações variáveis diante da exposição as diferentes situações específicas de cada teste. O teste de condutividade elétrica tem sido amplamente aceito e utilizado (PANOBIANCO; VIEIRA, 2007; VANZOLINI; NAKAGAWA, 2005), sendo capaz de estimar rapidamente o potencial de desempenho de sementes em campo, mediante a determinação da taxa de lixiviação de solutos das sementes em água, como aminoácidos e íons inorgânicos, refletindo o grau de deterioração das membranas celulares (POWELL, 1986; PANOBIANCO; VIEIRA, 2007; PANOBIANCO; VIEIRA; PERECIN, 2007; VIEIRA et al., 2008; SILVA et al., 2012)

O teste de envelhecimento acelerado baseia-se no princípio de que a taxa de deterioração é aumentada consideravelmente pela exposição das sementes à temperatura e

umidade relativa do ar elevadas. Desse modo, lotes de sementes com alto vigor manterão sua germinação após serem submetidos a esse estresse, enquanto os de baixo vigor terão sua germinação reduzida (BAALBAKI et al., 2009). É capaz de estimar eficientemente o vigor de sementes de soja (DUTRA; VIEIRA, 2004), amendoim (ROSSETTO; LIMA; GUIMARAES, 2004), lentilha (MAKKAWI; GASTEL, 2007), feijão caupi (DUTRA; TEOFILLO, 2007).

Um dos métodos mais importantes para a avaliação do vigor de sementes consiste na determinação da velocidade e uniformidade de crescimento (HOFFMASTER et al., 2003). Assim, os testes que avaliam o crescimento de plântulas são sugeridos pelas duas principais associações internacionais que reúnem tecnologistas de sementes (ISTA – International Seed Testing Association e AOSA - Association of Official Seed Analysts), apresentando eficiência na avaliação do potencial fisiológico de sementes de várias espécies. Esses testes podem consumir período de tempo relativamente amplo e produzir resultados variáveis entre laboratórios e analistas. Diante disso, o uso da análise computadorizada de imagens constitui uma das alternativas inovadoras, favorecendo tanto a redução do período necessário para a condução do teste, como a consistência das informações obtidas.

McCormac, Keefe e Draper (1990) utilizaram a análise computadorizada de imagens, para avaliar o vigor de sementes, determinando o comprimento da raiz primária de plântulas de alface e cenoura. Posteriormente, Sako et al. (2001) desenvolveram um sistema automatizado para avaliação do vigor de sementes de alface, denominado *Seed Vigor Imaging System* (SVIS[®]), o qual gera valores referentes ao índice de vigor, uniformidade de desenvolvimento, crescimento e comprimento de plântulas. Este sistema também tem demonstrado eficiência na avaliação do potencial fisiológico de sementes de outras espécies, como soja (HOFFMASTER et al., 2003; HOFFMASTER et al., 2005; MARCOS-FILHO, KIKUTI, LIMA, 2009), milho (HOFFMASTER et al., 2005; OTONI, McDONALD, 2005), milho doce (ALVARENGA, MARCOS-FILHO, GOMES JUNIOR, 2012), melão (MARCOS-FILHO et al., 2006), pepino (CHIQUITO; GOMES JUNIOR; MARCOS-FILHO, 2012) e crotalária (SILVA et al., 2012).

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

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

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

De acordo com Gomes Junior et al. (2009), o procedimento para avaliação do vigor de sementes por meio do SVIS[®] é simples e os resultados para uma amostra podem ser obtidos dentro de dois a três minutos. Outras vantagens desse sistema incluem a eliminação do erro humano, aumentando a confiabilidade dos dados para fins de comparação e a possibilidade de arquivamento das imagens para análise posterior.

Diante do exposto, o objetivo desta pesquisa foi verificar a possibilidade de utilização do sistema computadorizado de análise de plântulas (SVIS[®]) para detectar diferenças de vigor entre lotes de sementes de *Crotalaria juncea*, em comparação com as informações fornecidas pelos testes de vigor utilizados para a espécie.

3.2 Desenvolvimento

3.2.1 Material e Métodos

A pesquisa foi conduzida 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, em Piracicaba/SP. Foram utilizados seis lotes de sementes de crotalária (*Crotalaria juncea*), cultivar IAC-KR1. A pesquisa foi realizada em duas épocas, espaçadas de quatro meses, período em que as sementes foram armazenadas em ambiente controlado (20 °C e $\pm$ 45 % de UR do ar). Nas duas épocas, foram conduzidas as avaliações discriminadas a seguir.

3.2.1.1 Grau de umidade

O grau de umidade foi determinado nas duas épocas, antes da instalação de todos os testes e após o teste de envelhecimento acelerado. Foi realizado pelo método da estufa a 105

°C (± 3), durante 24 horas (BRASIL, 2009), em duas amostras de 5 g. Os resultados foram expressos em percentagem média (base úmida) por lote.

3.2.1.2 Germinação

Conduzido com oito repetições de 25 sementes por lote, em papel toalha umedecido com água em uma proporção, em massa, de 1 : 2,5 (papel e água). Os rolos foram mantidos em germinador a 20-30°C e, as avaliações, realizadas no quarto e décimo dia após a semeadura, de acordo com os critérios estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em percentagem média de plântulas normais para cada lote.

3.2.1.3 Primeira contagem de germinação

Os resultados representaram as porcentagens de plântulas normais computadas no quarto dia após a instalação do teste de germinação (item 3.2.1.2)

3.2.1.4 Envelhecimento acelerado

O teste de envelhecimento acelerado foi realizado segundo o método proposto por McDonald e Phaneendranath (1978) descrito por Marcos-Filho (1994), colocando-se uma camada única de sementes sobre a tela de inox ajustada dentro de uma caixa de plástico transparente (11 cm x 11 cm x 3,5 cm), contendo 40 mL de água. Após a colocação da tampa, as caixas foram mantidas no interior de uma câmara incubadora do tipo BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) durante o período de 48 horas a 41 °C. Ao término desse período, foram colocadas para germinar oito repetições de 25 sementes segundo, a metodologia descrita o teste de germinação (item 3.2.1.2). A avaliação foi realizada aos quatro dias após a semeadura e os resultados expressos em percentuais de plântulas normais para cada lote.

3.2.1.5 Emergência de plântulas em areia

O teste de emergência de plântulas em areia foi conduzido com quatro repetições de 50 sementes por lote, distribuídas na superfície de uma camada de 5 cm de areia colocada em caixas de plástico (32 cm x 28 cm x 10 cm). Após a semeadura, a cobertura foi efetuada com uma camada de 2 cm de areia; o umedecimento do substrato foi efetuado com quantidade de água correspondente a 60 % da capacidade de retenção do substrato. As caixas foram expostas a temperatura ambiente durante o período de 14 dias.

Diariamente foi registrado o número de plântulas emersas até décimo quarto dia após a semeadura. As plântulas consideradas emersas foram aquelas que apresentavam os cotilédones perpendiculares com a superfície do substrato. 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.

Aos 14 dias após a semeadura o teste foi concluído, computando-se, também, a porcentagem média de emergência de plântulas para cada lote.

3.2.1.6 Condutividade elétrica

O teste de condutividade elétrica foi realizado pelo sistema massal, segundo metodologia proposta pelo comitê de vigor da AOSA (VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999). Inicialmente, foram realizados testes preliminares para determinar o período mais adequado de embebição das sementes, tendo sido selecionado o período de 4 horas, conforme Silva et al. (2012). Quatro repetições de 50 sementes fisicamente puras, previamente pesadas em balança com três casas decimais (0,001 g), foram colocadas em copos de plástico com capacidade de 200 mL, contendo 75 mL de água deionizada. Os copos foram mantidos em germinador durante 4 horas a 25°C. Após esse período, a leitura da condutividade elétrica da solução foi realizada utilizando o aparelho da marca DIGIMED®, modelo DM-31. Os valores das leituras de cada repetição foram divididos pela massa inicial, sendo os resultados expressos em $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ de sementes.

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

Para obtenção das plântulas para análise de imagens, foram utilizadas quatro repetições de 25 sementes para cada lote, distribuídas em duas fileiras situadas no terço superior da superfície de duas folhas de papel toalha umedecido com água em proporção, em massa, de 1:2,5 (papel e água), coberta por uma outra folha. Os rolos foram mantidos em germinador a 20-30°C, em ausência de luz, durante 3 e 4 dias. Em seguida, as imagens das

plântulas de cada repetição, foram captadas em escâner HP Scanjet 2004, montado de maneira invertida no interior de uma caixa de alumínio com 60 cm x 50 cm x 12 cm e operado por *software* Photosmart, com resolução de 100 dpi.

As plântulas de cada repetição foram transferidas do papel toalha para uma folha de cartolina preta com 30 cm x 22 cm (correspondente ao tamanho da área útil atingida pelo escâner), colocada sobre a plataforma interna da caixa metálica. As imagens captadas foram salvas no disco rígido do computador e, em seguida, analisadas pelo sistema *Seed Vigor Imaging System* (SVIS®).

Nessa análise, o eixo raiz-hipocótilo de cada plântula é marcado em vermelho e as sementes mortas em verde; no entanto, foram necessárias correções manuais, realizadas com auxílio do “mouse”, para ajustar partes das plântulas e sementes mortas que não foram marcadas automaticamente. Após a análise e avaliação de todas as plântulas o *software* gerou automaticamente valores numéricos referentes a índices de vigor (IV) e de uniformidade de desenvolvimento (IU) conforme descrito por Hoffmaster et al. (2003). O índice de vigor é resultante da combinação entre os índices de crescimento e de uniformidade de desenvolvimento, que podem variar de um valor mínimo de zero a um máximo de 1000 (Figura 3.1).

Figura 3.1 – Imagem analisada no *software* SVIS® de uma amostra de plântulas de *Crotalaria juncea* do cv IAC-KR1, com indicações da marcação do eixo raiz-hipocótilo (em vermelho e azul), do índice de vigor (902) e uniformidade de desenvolvimento de plântulas (891)

Os valores para o tamanho máximo de plântulas foram estabelecidos preliminarmente, ou seja, quatro polegadas (10,16 cm) para plântulas com três dias de idade e sete polegadas (17,78 cm) para plântulas com quatro dias de idade. Para a composição do índice de vigor foi utilizada a seguinte composição: $IV\ 70/30 = \{(0,7 \times IC) + (0,3 \times IU)\}$ (Figura 3.2).

Depois de computados os valores de índice de vigor e de uniformidade de desenvolvimento, o cursor é posicionado sobre cada plântula e acionado, indicando automaticamente o valor correspondente ao comprimento da plântula demarcada em milímetros, depois foram transformados em centímetros (Figura 3.3).

Figura 3.2 – Imagem analisada no *software* SVIS[®] de uma amostra de plântulas de *Crotalaria juncea* do cv IAC-KR1, indicação do *ProgramParameters*, onde é ajustado o tamanho máximo de plântula com três dias (4 polegadas), a proporção crescimento (70)/ uniformidade (30) para o cálculo do índice de vigor e o comprimento das plântulas (mm)

Figura 3.3 - Imagem analisada no *software* SVIS[®] de uma amostra de plântulas de *Crotalaria juncea* do cv IAC-KR1, com indicação da marcação do eixo raiz-hipocótilo (em vermelho), semente morta (em verde) e do comprimento da plântula 92,46 mm (em azul)

3.2.1.8 Análise Estatísticas

Os resultados obtidos em cada época foram analisados separadamente, utilizando delineamento inteiramente casualizado. Os resultados foram submetidos a análise de variância e, as médias, comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Os resultados dos testes que não apresentaram distribuição normal e homogeneidade de variância foram transformados de acordo com a opção recomendada pelo *software* SAS[®] (SAS Institute, 2000). Embora os resultados tenham sido transformados para a execução da análise estatística, foram apresentadas as médias dos resultados 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, porcentagem e velocidade de emergência de plântulas em areia, e condutividade elétrica

Os resultados da caracterização inicial dos seis lotes de sementes de crotalária na primeira época de avaliação podem ser observados na Tabela 3.1. O grau de umidade inicial das sementes variou entre 8,2 a 9,1 %. Essa pequena variação, proporciona maior segurança, indicando que esse parâmetro não afetou o comportamento das sementes durante os testes conduzidos. Segundo Marcos-Filho (1999b) sempre que possível é conveniente a comparação de amostras que apresentam o mesmo grau de umidade antes do envelhecimento dos testes de vigor, embora as diferenças de 1 a 2 % não sejam comprometedoras.

Os lotes utilizados nesta pesquisa apresentam potencial fisiológico estatisticamente semelhante (Tabela 3.1), sendo que a porcentagem de plântulas normais variou de 60 a 75 %; estes valores atendem os padrões para comercialização de sementes de crotalária, dentro do limite de ≥ 60 % de germinação (BRASIL, 2008). O uso de lotes com poder germinativo semelhante é recomendável para que sejam comparados os desempenhos em testes de vigor, sendo importante, também, o uso de lotes que atendam as exigências estabelecidas para a comercialização (POWELL, 1986; MARCOS-FILHO, 1999a). No entanto, embora não detectado pela análise estatística, os lotes 5 e 6 apresentaram germinação inferior.

O potencial fisiológico de sementes é compreendido como a soma da capacidade germinativa e do vigor. Portanto, o uso de testes de vigor possibilita 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).

Os testes de vigor tradicionalmente utilizados para avaliar o potencial fisiológico das sementes, de modo geral, forneceram respostas semelhantes, no qual os lotes 1 e 3 destacaram-se positivamente em relação aos demais e, os lotes 5 e 6, negativamente (Tabela 3.1).

Tabela 3.1 - Valores médios do grau de umidade (GU), germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), envelhecimento acelerado (EA), grau de umidade após o envelhecimento acelerado (GUEA), porcentagem de emergência de plântulas em areia (EM), índice de velocidade de emergência de plântulas em areia (VE) e condutividade elétrica (CE) de seis lotes de sementes de *Crotalaria juncea* do cv IAC-KR1, na primeira época de avaliação

LOTE	GU	G	PCG	EA	GUEA	EM	VE	CE
	%.....							($\mu\text{s.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$)
1	9,0	75 a ^(*)	72 ab	71 a	25,8	82 a	23,4 a	50,6 a
2	8,3	72 a	70 ab	68 ab	24,5	76 ab	22,3 a	63,2 b
3	8,2	75 a	74 a	74 a	21,4	81 a	25,4 a	57,6 ab
4	8,6	75 a	72 ab	67 ab	24,0	73 ab	20,6 ab	52,7 a
5	9,1	60 a	58 b	52 c	25,8	53 c	14,8 c	84,1 c
6	9,1	69 a	66 ab	57 bc	27,5	59 bc	16,7 bc	86,3 c
CV(%)	-	12,9	9,6	8,3	-	10,9	11,3	6,6

^(*)Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$)

No teste de primeira contagem de germinação foi possível verificar desempenho superior somente para o lote 3, entretanto o lote 5 apresentou o pior desempenho. De acordo com Nakagawa (1999), o teste de primeira contagem baseia-se no princípio de que as amostras que apresentam maior porcentagem de plântulas normais na primeira contagem, estabelecidas pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009), são mais vigorosas. O autor acrescenta que, indiretamente, está se realizando uma avaliação de velocidade de germinação, pois maior porcentagem à primeira contagem significa que as sementes desta amostra germinaram mais rapidamente que as demais.

O grau de umidade inicial das sementes para o teste de envelhecimento acelerado variou de 8,2 a 9,1%; após o teste variou de 21,4 a 27,5%, não afetando o comportamento das sementes durante a realização do teste, embora esta variação tenha sido mais ampla que a desejada. No teste de envelhecimento acelerado (Tabela 3.1) verificou-se que os lotes 1 e 3

originaram maior percentagens de plântulas normais, enquanto o lote 5 apresentou menor percentagem de plântulas normais. Segundo Baalbaki et al. (2009) no teste de envelhecimento acelerado as sementes de baixa qualidade deterioram-se mais rapidamente do que as mais vigorosas, apresentando queda acentuada de sua viabilidade, fato observado para os lotes 5 e 6.

A porcentagem emergência de plântulas em areia revelou superioridade dos lotes 1 e 3 e a inferioridade do lote 5. Este ranqueamento dos lotes foi semelhante ao verificado nos testes de envelhecimento acelerado e primeira contagem de germinação.

Ainda no teste de emergência de plântulas em areia (Tabela 3.1) observou-se que a porcentagem de emergência de plântulas dos lotes 5 e 6 foi acentuadamente inferior aos demais. Isto não foi surpreendente, pois esses lotes apresentavam menor germinação (mesmo não diferindo estatisticamente dos outros lotes) e vigor; essa redução atribuiu-se ao decréscimo natural do potencial fisiológico das sementes em função das transformações degenerativas características da deterioração.

O índice de velocidade de emergência de plântulas em areia acusou inferioridade para o lote 5 e melhor desempenho dos lotes 1, 2 e 3. A época (Julho/2011) da condução do teste de emergência e velocidade de emergência de plântulas em areia a temperatura média foi de 19,7°C, sendo que a temperatura mínima e máxima foram 12,4 e 26,9 °C, respectivamente.

No teste condutividade elétrica (Tabela 3.1) os lotes 1 e 4 tiveram comportamento superior aos dos demais lotes. Neste teste houve uma diferença no ranqueamento dos lotes em relação aos demais testes, pois o lote 4 geralmente teve comportamento intermediário; entretanto, os lotes 5 e 6 apresentaram comportamento inferior, resultado já relatado para os outros testes. Os lotes 1 e 4 foram mais eficientes na reorganização das membranas celulares durante o processo de embebição, tendo o menor perda de exsudatos e indiretamente alto vigor. Sementes com menor potencial fisiológico resultante do processo deterioração tem diminuída sua capacidade de reorganização de membranas celulares, o que proporciona maior perda de solutos para o meio, resultando em redução de seus tecidos de reservas e da velocidade e porcentagem de germinação (PANOBIANCO; VIEIRA; PERECIN, 2007).

Diante do exposto, verificou-se que o ranqueamento dos lotes ocorreu de forma semelhante; porém, nos teste de primeira contagem e velocidade de emergência de plântulas (primeira época) e porcentagem de emergência de plântulas e velocidade de emergência (segunda época) ocorreu de forma distinta. Considerando que os testes de vigor são baseados em princípios diferentes, é necessário analisar o conjunto de informações, e com isso,

diminuir os erros associados à decisão de se aceitar ou rejeitar um lote de sementes para armazenamento ou semeadura (MENDONÇA et al., 2008).

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

Na Tabela 3.2, verificou-se os resultados da avaliação do potencial fisiológico das sementes de *Crotalaria juncea* do cultivar IAC-KR1, em plântulas com três e quatro dias de idade, analisadas por meio do *software* SVIS®.

As análises dos resultados obtidos para as plântulas com três dias de idade revelaram diferenças significativas entre os lotes, para todos os parâmetros, com exceção para o índice de uniformidade de desenvolvimento, em que não houve diferença significativa (Tabela 3.2).

Para o índice de vigor e comprimento de plântulas com três dias de idade (Tabela 3.2), verificou-se que os lotes 2 e 3 foram superiores aos demais lotes, entretanto, os lotes 5 e 6 foram inferiores, porém, para o comprimento de plântulas somente o lote 5 teve comportamento inferior aos demais lotes. Comparando a classificação dos lotes desses parâmetros com os testes de vigor, o lote 2 foi superior aos demais lotes, somente no teste de índice de velocidade de emergência de plântulas em areia (Tabela 3.1); nos outros testes este lote teve comportamento intermediário.

Tabela 3.2 – Resultados referentes ao índice de vigor (IV), uniformidade de desenvolvimento (IU) e comprimento de plântulas (Comp.) de seis lotes de *Crotalaria juncea* do cv IAC-KR1, na primeira época de avaliação

LOTE	IV	IU	Comp. (cm)	IV	IU	Comp. (cm)
	3 dias			4 dias		
1	802 ab ^(*)	843 a	6,0 ab	877 a	852 a	12,1 a
2	842 a	855 a	6,7 a	798 ab	842 a	10,9 ab
3	873 a	869 a	7,0 a	864 a	865 a	12,2 a
4	792 ab	835 a	6,2 ab	843 a	848 a	11,8 a
5	659 b	823 a	4,6 b	658 ab	819 ab	8,0 b
6	648 b	793 a	4,5 ab	644 b	761 b	8,2 b
CV (%)	9,6	4,1	13,7	3,74	8,23	12,3

^(*)Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey (p ≤ 0,05)

Ainda na Tabela 3.2, as análises dos resultados obtidos para as plântulas com quatro dias de idade revelaram diferenças significativa do potencial fisiológico entre os lotes para todos os parâmetros (índice de vigor, uniformidade de desenvolvimento e comprimento de plântulas).

Para os parâmetros, índice de vigor e comprimento de plântulas detectaram o melhor desempenho dos lotes 1, 3 e 4 e identificaram o pior desempenho dos lotes 5 e 6; porém o índice de vigor identificou apenas o lote 5 com desempenho inferior. O período de quatro dias para avaliar as plântulas permitiu classificar os lotes em diferentes níveis de vigor mais eficaz que o período de três dias, pois apresentou resultados semelhantes aos obtidos nos testes de vigor, principalmente para a porcentagem de emergência de plântulas. Chiquito, Gomes Junior e Marcos-Filho (2012), avaliando o vigor das sementes de pepino com o uso do *software* SVIS[®], também verificaram que plântulas com quatro dias de idade, indicaram resultados mais precisos e confiáveis, pois as plântulas tiveram tempo suficiente para se estabelecer e, dessa forma, houve possibilidade de diferenciar de forma mais clara o potencial fisiológico dos lotes.

Cabe ressaltar que o índice de uniformidade de desenvolvimento foi o parâmetro menos sensível para o ranqueamento dos lotes na primeira época, pois a avaliação das plântulas com três dias, não acusou diferenças significativas, já aos quatro dias, esse parâmetro acusou apenas a inferioridade do lote 6.

3.3.2 Segunda época de avaliação

3.3.2.1 Grau de umidade, germinação, primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, porcentagem e velocidade de emergência de plântulas em areia, e condutividade elétrica

Os resultados referentes aos seis lotes de sementes de *Crotalaria juncea* do cultivar IAC-KR1, na segunda época de avaliação encontram-se na Tabela 3.3. O grau de umidade das sementes no momento da instalação dos testes variou entre 8,1 a 9,0 % e após o teste de envelhecimento acelerado variou entre 18,4 a 23,1%. Assim como na primeira época de avaliação, as diferenças do grau de umidade entre os lotes de sementes não devem ter influenciado os resultados dos testes realizados.

As análises dos resultados obtidos revelaram diferenças significativas entre os lotes, para todos os testes realizados. De maneira geral, as informações obtidas foram semelhantes à primeira época de avaliação, em que os lotes 5 e 6 foram destacados como os menos vigorosos em praticamente em todos os testes conduzidos; paralelamente, os lotes 1 e 3, cujo maior potencial fisiológico foi detectado na primeira época, repetiram esse comportamento na segunda época (Tabela 3.3).

Pode-se verificar redução na porcentagem de germinação em relação à primeira época de avaliação somente para os lotes que se enquadraram no comportamento intermediário (lote 2 e 4) e para os que tiveram desempenho inferior (lote 5 e 6), conforme mostra a Tabela 3.3. A diminuição da capacidade germinativa ocorre durante o período de armazenamento é normal, devido á deterioração gradativa durante esse período (SATURNINO et al., 2005).

No teste de primeira contagem de germinação, observou-se que o ranqueamento dos lotes foi semelhante ao do teste de germinação; isto não foi verificado na primeira época de avaliação.

Tabela 3.3 - Valores médios do grau de umidade (GU), germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), envelhecimento acelerado (EA), grau de umidade após o envelhecimento acelerado (GUEA), porcentagem de emergência de plântulas em areia (EM), índice de velocidade de emergência de plântulas em areia (VE) e condutividade elétrica (CE) de seis lotes de sementes de *Crotalaria juncea* do cv IAC-KR1, na segunda época de avaliação

LOTES	GU	G	PC	EA	GUEA	EM	VE	CE
			%					($\mu\text{s.cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$)
1	8,3	84 a ^(*)	79 a	81 a	22,5	79 ab	24,4 a	49,3 a
2	8,2	67 b	66 b	63 cd	18,4	83 ab	24,4 a	66,2 b
3	8,2	85 a	83 a	71 b	19,3	84 a	24,7 a	54,3 a
4	8,1	74 b	71 b	68 bc	22,7	73 ab	21,6 a	58,9 ab
5	8,7	59 c	52 c	52 e	22,9	62 c	17,9 b	84,1 c
6	9,0	59 c	57 c	58 de	23,1	57 c	14,7 c	82,6 c
CV(%)	-	3,9	4,6	4,7	-	6,1	6,6	7,6

^(*)Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$)

No teste de envelhecimento acelerado, o ranqueamento dos lotes em superiores e inferiores foi semelhante à primeira época de avaliação e também foi condizente com os resultados dos testes de vigor, na segunda época de avaliação. Vale ressaltar que na segunda época de avaliação, o teste de envelhecimento acelerado se destacou como o teste de maior poder discriminatório dos lotes, indicando claramente os lotes com comportamento superior (lote 1), intermediário (lote 3) e inferior (lote 5).

Para a porcentagem de emergência de plântulas em areia (Tabela 3.3), observaram-se resultados semelhantes à primeira época de avaliação; entretanto, na primeira época o lote 1 também foi mais vigoroso, já o lote 6 teve comportamento intermediário. O índice de velocidade de emergência de plântulas em areia acusou inferioridade para o lote 6, quando comparado com aos demais e destacou os lotes 1, 2, 3 e 4 como os melhores. De acordo com

estes resultados, o índice de velocidade de emergência de plântulas, comparando com os outros testes de vigor, foi o teste com menor poder discriminatório dos lotes superiores; este resultado também foi observado na primeira época de avaliação.

Ainda no teste de emergência de plântulas em areia alguns lotes (2, 3 e 6) verificou-se maior percentagem de plântulas normais na segunda época de avaliação comparando com a primeira época (Tabela 3.1), para o índice de velocidade de emergência de plântulas isto também foi verificado para os lotes 2 e 6 (Tabela 3.3). Importante destacar que na segunda época de avaliação o teste de emergência de plântulas em areia foram conduzidos em Dez/2011, onde a temperatura média foi de 24,5 °C, sendo que a temperatura mínima e máxima foi de 18,4 e 30,5 °C, respectivamente; como a crotalária é uma espécie tropical a temperatura que favoreceu o desempenho das sementes.

Para o teste de condutividade elétrica (Tabela 3.3), na segunda época de avaliação, o ranqueamento dos lotes foi semelhante ao teste de germinação, primeira contagem de germinação; porém, o envelhecimento acelerado e porcentagem de emergência de plântulas classificaram apenas o lote 1 e 4 como lote mais vigoroso, respectivamente. Vieira et al. (2004) indicaram a determinação da condutividade elétrica da água de imersão como um dos testes mais sensíveis para avaliar o vigor, uma vez que no processo de deterioração um dos eventos iniciais é a perda da integridade das membranas. As sementes com baixo vigor tendem a apresentar desorganização na estrutura das membranas celulares, permitindo um aumento na lixiviação de solutos. Silva et al. (2012), avaliando sementes de crotalária, verificaram que os períodos de embebição de 4 e 8 horas foram mais uniformes, para classificação dos lotes.

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

Na Tabela 3.4, verificou-se os resultados da avaliação do potencial fisiológico das plântulas de *Crotalaria juncea* do cultivar IAC-KR1, com três e quatro dias de idade, analisados por meio do *software* SVIS®.

As análises dos resultados obtidos para as plântulas com três dias de idade revelaram diferença significativa entre os lotes somente para o índice de uniformidade; este resultado não foi semelhante à primeira época, pois este índice foi o único parâmetro que não acusou diferenças entre os lotes (Tabela 3.3).

Para o índice de uniformidade de desenvolvimento com três dias de idade (Tabela 3.3), os lotes 1 e 3 foram superior aos demais lotes, entretanto, o lote 6 foi que apresentou comportamento inferior. Nesta época de avaliação o ranqueamento dos lotes, identificado por

esse parâmetro, foi semelhante ao teste de germinação, primeira contagem de germinação, emergência de plântulas em areia e condutividade elétrica, com exceção para lote 5, pois nestes testes este lote foi classificado com baixo vigor comparado com os demais lotes.

Ainda na Tabela 3.3, os resultados obtidos para as plântulas com quatro dias de idade revelaram diferenças significativa no potencial fisiológico dos lotes, para todos os parâmetros (índice de vigor, uniformidade e comprimento de plântulas).

Tabela 3.4 - Resultados referentes ao índice de vigor (IV), uniformidade de desenvolvimento (IU) e comprimento de plântulas (Comp.) de seis lotes de *Crotalaria juncea* do cv IAC-KR1, na segunda época de avaliação

LOTE	IV	IU	Comp. (cm)	IV	IU	Comp. (cm)
	3 dias			4 dias		
1	869 a ^(*)	867 a	7,0 a	853 ab	863 a	12,2 ab
2	846 a	796 ab	7,4 a	875 ab	859 a	12,5 ab
3	928 a	865 a	8,0 a	942 a	847 ab	15,2 a
4	893 a	795 ab	7,7 a	833 abc	837 ab	11,4 bc
5	822 a	797 ab	6,7 a	711 c	791 b	8,6 c
6	847 a	749 b	6,7 a	778 bc	790 b	10,4 bc
CV (%)	5,4	4	11,9	6,5	3,4	11,1

^(*)Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$)

Para índice de vigor e comprimento de plântulas, verificou-se que os lotes tiveram comportamento semelhante, ou seja, o lote 3 apresentou comportamento superior, o lote 5 apresentou o pior desempenho. Este ranqueamento foi semelhante aos testes de vigor realizados na segunda época, principalmente para o teste de porcentagem de emergência de plântulas em areia. Trabalhando com sementes de soja, Marcos-Filho, Kikuti e Lima (2009) também constataram que o SVIS[®] possui eficiência comparável à do teste de envelhecimento acelerado; contudo, essa sensibilidade foi mais acentuada quando o sistema foi utilizado para a avaliação do crescimento de plântulas.

Para o índice de uniformidade, observou-se superioridade dos lotes 1 e 2, inferioridade dos lotes 5 e 6; como na primeira época, o índice de uniformidade foi o menos sensível comparando com os outros parâmetros.

Os resultados obtidos pela análise de imagens de plântulas, principalmente com quatro dias de idade, comparando com os testes de vigor, verificou-se que o lote 3 foi superior e 5 inferior aos demais lotes. Isto também foi verificado na primeira época de avaliação; porém os parâmetros índice de vigor e comprimento de plântulas, apontaram também o lote 6 como inferior.

Desta maneira as análises automatizadas SVIS[®] para sementes de crotalária devem ser realizadas quando as plântulas tiverem quatro dias de idade, diferentemente da pesquisa realizada com sementes de crotalária por Silva et al. (2012), a qual verificou que o sistema computadorizado de análise de plântulas SVIS[®] foi eficiente, porém para plântulas com três dias de idade.

Diante do exposto, ficou evidenciada a possibilidade da inclusão de análise computadorizada de imagens de plântulas na avaliação do potencial fisiológico de sementes de crotalária, pois além da coerência dos resultados obtidos nos demais testes utilizados, o uso deste sistema pode trazer vantagens como rapidez na obtenção dos resultados, maior confiabilidade e precisão e menor subjetividade da análise, pois se evitam falhas por diferenças de critérios de avaliação utilizados pelos analistas de diferentes laboratórios (MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009). Testes 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 (GOMES JUNIOR et al., 2009).

Como em sementes de crotalária, 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), milho doce (ALVARENGA; MARCOS-FILHO; GOMES JUNIOR, 2012) melão (MARCOS FILHO et al., 2006), soja (HOFFMASTER et al., 2003; MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009) e pepino (CHIQUITO; GOMES JUNIOR; MARCOS-FILHO, 2012).

3.4 Conclusão

A análise computadorizada de imagens de plântulas de *Crotalaria juncea*, com o uso do *software* SVIS[®] é uma alternativa para detectar diferenças de vigor entre lotes, com eficiência equivalente aos testes de vigor tradicionalmente utilizados para a espécie.

Referências

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

BAALBAKI, R.; ELIAS, S.; MARCOS-FILHO, J.; McDONALD, M.B. **Seed vigor testing handbook**. Ithaca: Association of Official Seed Analysts, 2009. 341 p. (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, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Instrução Normativa n. 30, de 21 de maio de 2008. (**Estabelece os padrões para produção e comercialização de sementes de espécies forrageiras de clima tropical**). Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, Anexo IV, 23 maio, 2008.

_____. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 395 p.

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

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.

DELOUCHE, J.C. Germinação, Deterioração e Vigor da Semente. **Revista Seed News**, Pelotas, v.6, n.6, p.1-8, 2004.

DUTRA, A.S.; TEOFILO, E.M. Envelhecimento acelerado para avaliar o vigor de sementes de feijão caupi. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v.29, n.1, p.193-197, 2007.

DUTRA, A.S.; VIEIRA, R.D. Envelhecimento acelerado como teste de vigor para sementes de milho e soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 3, p. 715-721, 2004.

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.

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.

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.

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.

MAKKAWI, M.; GASTEL, A.J.G.M. Effect of accelerated ageing on germination and vigor in lentil (*Lens culinaris* Medikus) seed. **Journal of New Seeds**, Dhaid, v. 8, n. 3, p. 87-98, 2007.

MARCOS-FILHO, J. Teste de envelhecimento acelerado. In VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Teste de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 133-149.

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

_____. Teste de envelhecimento acelerado. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999b. 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.; 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.

McCORMAC, A.C.; KEEFE, P.D.; DRAPER, S.R. Automated vigour testing of field vegetables using image analysis. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 18, n. 1, p. 103-112, 1990.

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

NAKAGAWA, J. Teste de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes** Londrina: ABRATES, 1999. cap. 2, p.1 –24.

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.

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.

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

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

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.

POWELL, A.A. Cell membranes and seed leachate conductivity in relation to the quality of seed for sowing. **Journal of Seed Technology**, Zurich, v. 10, n. 2, p. 81-100, 1986.

ROSSETTO, C.A.V.; LIMA, T.M.; GUIMARAES, E.C. Envelhecimento acelerado e deterioração controlada em sementes de amendoim. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 8, p. 795-801, 2004.

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.

SAS INSTITUTE. **Statistical Analysis System**: getting started with the SAS learning. Cary, 2000. 8 p.

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

VANZOLINI, S.; NAKAGAWA, J. Teste de condutividade elétrica em sementes de amendoim. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 27, n. 2, p. 151-158, 2005.

VIEIRA, R.D. Teste de condutividade elétrica. In: VIEIRA, R.D.; CARVALHO, N.M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 103-132.

VIEIRA, R.D.; KRZYŻANOWSKI, F.C. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYŻANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 1-26.

VIEIRA, R.D.; SCAPPA NETO, A.; BITTENCOURT, S.R.M.; PANOBIANCO, M. Electrical conductivity of the seed soaking solution and soybean seedling emergence. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 61, n. 2, p. 164 -168, 2004.

VIEIRA, R.D.; TEKRONY, D.M.; EGLI, D.B.; BRUENNING, W.P.; PANOBIANCO, M. Temperature during soybean seed storage and the amount of electrolytes of soaked seeds solution. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, p. 496-501, 2008.

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

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação da estrutura de sementes é importante tanto para a caracterização de espécies pouco estudadas quanto para a melhoria da qualidade de lotes de sementes, no que se diz respeito aos atributos físico e fisiológico, visto que a informação sobre a existência de sementes com anormalidades morfológicas e estruturais são desejáveis, pois podem influenciar nos resultados de germinação.

A análise de imagens de raios X para a avaliação da estrutura de sementes, além de não danificar as sementes, permite obter resultados relacionados com os de outros testes, como por exemplo, o teste de germinação, contribuindo para a consistência das informações, pois os procedimentos podem ser reproduzidos sem a interferência humana.

O *software* SVIS[®] avalia o vigor das sementes por meio da análise de imagens computadorizadas de plântulas. A vantagem desse programa inclui a rápida obtenção de resultados e a precisão. Entretanto, a eficiência da utilização do teste para a determinação do vigor depende da adequação do sistema para cada espécie avaliada.

Nesta pesquisa, a análise de imagens de raios X foi eficiente na identificação de danos mecânicos, danos por percevejo e danos associados à deterioração de tecidos em sementes de *Crotalaria juncea*, permitindo estabelecer relação entre sua ocorrência e prejuízos causados à germinação. Além disso, foi possível verificar, numericamente, que o lote 1 teve comportamento superior e os lotes 5 e 6 apresentaram comportamento inferior aos demais lotes.

A utilização da análise computadorizada de plântulas de crotalária com o uso do *software* SVIS[®], forneceu resultados rápidos, consistentes e coerentes com os resultados obtidos nos testes tradicionalmente utilizados tanto na primeira como na segunda época de avaliação. Portanto, foi possível classificar os lotes 1 e 3 como o mais vigoroso e os lotes 5 e 6 com desempenhos inferiores aos dos demais lotes. Esses resultados foram coerentes com os obtidos no teste de germinação associados à análise de imagens de raios X, mesmo sendo numericamente.

As pesquisas desses recursos de análise de imagens devem continuar com o intuito de estabelecer relações entre a estrutura das sementes e o potencial fisiológico, é uma importante iniciativa, que poderá produzir informações muito importantes para a evolução do conhecimento dirigido para o controle de qualidade de sementes.