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

Análise radiográfica associada com o desempenho germinativo e determinação
do vigor de sementes de café utilizando imagens digitalizadas de plântulas

Heiber Andres Trujillo Samboni

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

Piracicaba
2018

Heiber Andres Trujillo Samboni
Engenheiro Agrônomo

Análise radiográfica associada com o desempenho germinativo e determinação do vigor
de sementes de café utilizando imagens digitalizadas de plântulas

Orientador:
Dr. **FRANCISCO GUILHIEN GOMES JUNIOR**

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

Piracicaba
2018

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

Trujillo Samboni, Heiber Andres

Análise radiográfica associada com o desempenho germinativo e determinação do vigor de sementes de café utilizando imagens digitalizadas de plântulas / Heiber Andres Trujillo Samboni. - - Piracicaba, 2018.

76 p.

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

1. *Coffea arabica* L. 2. Raios X 3. Potencial fisiológico de sementes 4. Imagens digitais I. Título

DEDICATÓRIA

*A **Dios**, por ser la vida, el amor y el perdón; los componentes esenciales de un ser humano!*

*A mis padres **Humberto** y **Gladis**, a mis hermanos **Yina**, **Carlos**, **Oscar**, **Heily** y a mi cuñado **Wilinton**; mi familia, quienes constituyen mi mayor inspiración!*

*A mis padrinos **Pablo**, **Gloria** y a **Mayra**, por ser también mi familia!*

*A todos quienes hacen la agricultura, por que dignifican la vida de las personas apartir de lo noble de esta labor; A los **Agricultores**, en especial a los **Caficultores**, a los **Ingenieros agrónomos**, **Investigadores** y **Docentes**; es un honor compartir esta pasión!*

*A todos **ustedes** dedico!*

AGRADECIMENTOS

A Deus pelas capacidades e pelo Amor manifestado na minha família que sempre tem acreditado nos meus esforços, aos meus pais Humberto e Gladis, aos meus irmãos Yina, Carlos, Oscar, Heily e ao meu cunhado Wilinton por serem meu sustento.

Ao Brasil por ter me acolhido como minha casa e por ter me dado a possibilidade de viver uma experiência inesquecível. Às suas instituições, mas sobretudo, às pessoas.

À Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” pela honra de fazer parte da elite intelectual deste país como aluno em uma das melhores instituições de ensino superior.

À CAPES por incentivar minha atividade acadêmica com uma bolsa de estudos.

Ao querido orientador Francisco Guilhien Gomes Junior, simplesmente por ser o melhor orientador, não só nos aspectos acadêmicos mas também por me acompanhar como amigo neste processo. Sempre serei grato.

Ao prezado professor Silvio Moure Cicero por sua confiança depositada neste Colombiano e pela oportunidade de fazer parte da sua equipe. Sinto-me orgulhoso.

Aos professores Carlos Iván Cardozo Conde e Ana Dionísia da Luz Coelho Novembre, por ter apoiado esta etapa através dos ensinamentos e amizade.

Ao Padre Jairo Mota Castaño e à Cooperativa de cafeicultores CADEFIHUILA por ter me apoiado no início deste projeto de vida.

À técnica do Laboratório de Análise de Sementes Helena M. C. P. Chamma e aos funcionários Hodair, Luis Claudio, Adilson e Davi pela disposição ao apoio das minhas atividades.

Aos meus colegas e amigos do Pavilhão de Tecnologia de Sementes Mayara Rodrigues, Césia Flores, Fábio Diniz, Lucas Capelaro, Carina Oliveira, Danielle Castan e Natália Arruda pelos valiosos momentos de aprendizado que eles proporcionaram.

Aos meus amigos Diana Peña, Yuri Mena, Mayara Rodrigues, Maribel Rivera, Johana Veloza, Verónica Rondinel, Mahira Prieto, Yeimi Garcia, Alba Taborda, Mayra Londoño, Diego Urbina, Alex Velasquez, André Rodrigues, Hadd Nonato, Carlinhos Barreira, Robson Sousa por estarem presentes, não só nesta etapa, mas também em muitos outros momentos da minha vida.

A todos que tem desejado o melhor para mim. Obrigado por aqueles bons pensamentos e que a vida retorne muito mais a vocês!

*“Nos seres humanos
temos entendido mal
os conceitos mais importantes da vida:
o **AMOR** e o **PERDÃO**.
Por isso, vivemos em constante guerra”.*

H. Andres Trujillo S.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1. INTRODUÇÃO	9
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1. CAFÉ NO BRASIL E NO MUNDO	11
2.2. CARACTERÍSTICAS E FATORES QUE AFETAM A QUALIDADE DE SEMENTES DE CAFÉ	12
2.3. ANÁLISE RADIOGRÁFICA DE SEMENTES	14
2.4. AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES	16
2.5. DETERMINAÇÃO DO VIGOR DE SEMENTES UTILIZANDO IMAGENS DIGITALIZADAS DE PLÂNTULAS	17
3. MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1. GRAU DE UMIDADE	21
3.2. GERMINAÇÃO	21
3.3. EXPERIMENTO I - AVALIAÇÃO DA MORFOLOGIA INTERNA DAS SEMENTES POR MEIO DE RAIOS X E ASSOCIAÇÃO COM O DESEMPENHO DAS PLÂNTULAS	22
3.3.1 TESTE DE RAIOS X	22
3.3.2 EMERGÊNCIA DE PLÂNTULAS	23
3.3.3 VELOCIDADE DE EMERGÊNCIA DE PLÂNTULAS	23
3.3.4 COMPRIMENTO DA PARTE AÉREA DAS PLANTAS, DIÂMETRO DO CAULE E MASSA DE MATÉRIA SECA DA PARTE AÉREA	24
3.4. EXPERIMENTO II - AVALIAÇÃO DO VIGOR DAS SEMENTES POR MEIO DA ANÁLISE COMPUTADORIZADA DE IMAGENS DE PLÂNTULAS	24
3.4.1 ENVELHECIMENTO ACELERADO	25
3.4.2 CONDUTIVIDADE ELÉTRICA	25
3.4.3 ÍNDICE DE VELOCIDADE DE EMISSÃO DA RAIZ PRIMÁRIA	25
3.4.4 AVALIAÇÃO DO VIGOR, UNIFORMIDADE E COMPRIMENTO DE PLÂNTULAS COM <i>SEED VIGOR IMAGING SYSTEM</i> (SVIS®)	26
3.4.5 PROCEDIMENTO ESTATÍSTICO	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1. AVALIAÇÃO DA MORFOLOGIA INTERNA DAS SEMENTES POR MEIO DE RAIOS X E ASSOCIAÇÃO COM O DESEMPENHO DAS PLÂNTULAS	29
4.2. COMPARAÇÃO DA ANÁLISE COMPUTADORIZADA DE IMAGENS DE PLÂNTULAS COM TESTES CONVENCIONALMENTE UTILIZADOS PARA DETERMINAÇÃO DO VIGOR DAS SEMENTES	44
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	57
6. CONCLUSÕES	59
REFERÊNCIAS	60

RESUMO

Análise radiográfica associada com o desempenho germinativo e determinação do vigor de sementes de café utilizando imagens digitalizadas de plântulas

A análise radiográfica tem sido eficiente na identificação das principais alterações na morfologia interna de sementes e, juntamente com análise de imagens digitalizadas de plântulas, está sendo cada vez mais utilizada em programas de controle de qualidade de sementes devido à sua praticidade, objetividade e rapidez na obtenção dos resultados. Apesar dessas vantagens, ainda não existem pesquisas comprovando a eficiência dessas técnicas para análise de sementes de café. Assim, esta pesquisa teve como objetivos avaliar a morfologia interna de sementes de café (*Coffea arabica* L.) por meio da análise de imagens radiográficas e a sua relação com o desempenho germinativo e testar a eficiência da análise de imagens digitalizadas de plântulas pelo *Seed Vigor Imaging System* (SVIS®) na determinação do vigor, comparativamente com os testes convencionalmente utilizados. Foram utilizadas sementes dos cultivares Bourbon e Catucaí 20/15, cada cultivar representado por seis lotes. A pesquisa foi conduzida em dois experimentos. No experimento I foram avaliadas imagens radiográficas para identificação das principais alterações na morfologia interna das sementes e sua relação com o desempenho germinativo por meio do teste de emergência de plântulas. O experimento II foi realizado em duas épocas de avaliação e o vigor foi determinado por meio das avaliações de primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, condutividade elétrica, velocidade de emissão de raiz primária e análise de imagens digitalizadas de plântulas com o SVIS®. Concluiu-se que a análise de imagens radiográficas é eficiente na identificação das principais alterações na morfologia interna das sementes, relacionadas com malformações, danos por deterioração de tecidos e danos ocasionados pela broca-do-café, permitindo relacionar a ocorrência destes com o desempenho germinativo dos lotes de sementes. A análise de imagens digitalizadas de plântulas aos vinte dias de idade pelo SVIS® é eficiente na avaliação do vigor de lotes de sementes de café.

Palavras-chave: *Coffea arabica* L.; Raios X; Potencial fisiológico de sementes; Imagens digitais

ABSTRACT

Radiographic analysis associated with germination performance and vigor evaluation of coffee seeds using digitized images of seedlings

Radiographic analysis has been efficient in identifying the main changes in the internal morphology of seeds and, together with the digital image analysis of seedlings has been increasingly used in seed quality control programs due to its practicality, objectivity and rapid results. Despite these advantages, there are still no studies demonstrating the efficiency of these techniques for coffee seed analysis. The objective of this research was to evaluate the internal morphology of coffee seeds (*Coffea arabica* L.) by radiographic image analysis and their relation with germination performance. Furthermore, this research aimed to evaluate the efficiency of the Seed Vigor Imaging System (SVIS®) in determining seed vigor from digital seedling images in comparison to conventionally vigor tests. Seeds of the cultivars Bourbon and Catucaí 20/15 were used being each one represented by six seed lots. The research was conducted in two experiments. In experiment I radiographic images were taken to identify the main changes in the internal morphology of the seeds and establish a relationship with the germination performance by the seedling emergence test. The experiment II was carried out in two evaluation periods and seed vigor was determined by the germination first count, accelerated aging, electrical conductivity, primary root emission velocity and analysis of scanned seedlings images by SVIS®. It was concluded that radiographic analysis is efficient in identifying internal morphology alterations in the seeds related to malformations, damages by tissue deterioration and damages caused by coffee borer, allowing to relate the occurrence of these problems with germination performance. The digitized analysis of 20-day-old seedlings by SVIS® is efficient in evaluating the vigor of coffee seeds.

Keywords: *Coffea arabica* L.; X ray; Physiological potential of seeds; Digital images

1. INTRODUÇÃO

Uma das etapas mais importantes no estabelecimento da cultura do cafeeiro consiste na obtenção de mudas vigorosas e sadias. A instalação da maioria das lavouras comerciais de café é realizada por meio de mudas obtidas de sementes. Portanto, a produção de sementes de alta qualidade, considerando os atributos físico, fisiológico, genético e a sanidade torna-se fundamental para o sucesso da cultura, desde as etapas de instalação e desenvolvimento vegetativo até a fase produtiva.

As sementes de café, frequentemente, apresentam problemas relacionados com alterações na morfologia interna, como ocorrência de malformações, danos ocasionados por deterioração de tecidos pela ação de microrganismos e danos causados por pragas, principalmente pela broca-do-café, os quais podem refletir em prejuízos ao potencial fisiológico. Assim, para assegurar a utilização de sementes de alta qualidade e a produção de mudas vigorosas são necessários cuidados específicos durante todas as etapas de produção, ou seja, desde a fase de manejo das plantas no campo com suprimento adequado de água e nutrientes e controle fitossanitário até as avaliações de qualidade das sementes no laboratório visando identificar, principalmente, problemas de ordem física e fisiológica.

Atualmente, técnicas de análise de imagens estão sendo cada vez mais utilizadas para avaliação da morfologia interna e do vigor de sementes. Estas técnicas caracterizam-se por empregar recursos computadorizados, o que reduz o tempo para a análise e aumenta a padronização dos resultados. A análise radiográfica, por exemplo, é um método não destrutivo para avaliação da morfologia interna de sementes que, em poucos segundos, possibilita a identificação de malformações, de tecidos deteriorados e de diferentes tipos de injúrias em sementes como as mecânicas, as provocadas por insetos e as decorrentes de secagem com temperatura inadequada. Como as doses de radiação utilizadas são de baixa energia, não há prejuízos sobre o potencial fisiológico das sementes, permitindo realizar, subsequentemente à análise radiográfica, testes de germinação ou de vigor visando estabelecer relações de causa e efeito.

Na avaliação do potencial fisiológico de sementes são utilizados testes de germinação e de vigor com o objetivo de obter informações sobre o comportamento das sementes tanto quando submetidas em condições ótimas de germinação quanto

em condições adversas. Nesse contexto, a avaliação do vigor de sementes é fundamental para selecionar os lotes de sementes com mesma germinação mas com maior ou menor potencial de desempenho no campo.

A inclusão de novos procedimentos para avaliação do vigor de sementes sempre é desejável, principalmente quando proporcionam alta precisão e rapidez nos resultados e baixo custo. Assim, a análise do crescimento de plântulas por meio de recursos computadorizados tem sido cada vez mais frequente na avaliação do vigor de sementes. Dentre os sistemas utilizados para este fim podem ser citados o “Seed Vigor Imaging System” (SVIS®) e o Vigor-S, que se baseiam no processamento de imagens de plântulas, possibilitando avaliar índices de vigor, de uniformidade de desenvolvimento e de crescimento de plântulas, além da determinação do comprimento de plântulas. A eficiência desses sistemas já foi comprovada para determinação do vigor de sementes de várias espécies como soja, milho, feijão, melão, algodão, amendoim, alface, tomate, berinjela, dentre outras.

A determinação do vigor de sementes de café é realizada rotineiramente com base no porcentual de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação e por testes de envelhecimento acelerado, de condutividade elétrica e emergência de plântulas. Entretanto, ainda não há informações sobre a utilização da análise computadorizada de imagens de plântulas em sementes dessa espécie. A comprovação da eficiência deste método em apresentar resultados semelhantes aos dos testes convencionalmente utilizados para avaliação do vigor de sementes de café poderá abrir espaço para sua inserção nos programas de seleção de sementes e produção de mudas com alto padrão de qualidade.

Esta pesquisa teve como objetivos avaliar a morfologia interna de sementes de café (*Coffea arabica* L.) por meio da análise de imagens radiográficas e a sua relação com o desempenho germinativo e testar a eficiência da análise de imagens digitalizadas de plântulas pelo *Seed Vigor Imaging System* (SVIS®) na determinação do vigor, comparativamente com os testes convencionalmente utilizados.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Café no Brasil e no mundo

O café pertence à família Rubiaceae e ao gênero *Coffea*, que é representado por cerca de 70 espécies, envolvendo *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre. Nos quase 80 países tropicais e subtropicais onde é cultivado, o café representa grande importância econômica e social (SILVA et al., 1999; CLAY, 2004).

O Brasil é o maior produtor e exportador de café e o segundo maior consumidor do produto no mundo. No ano 2016 o grão representou o 9,8% das exportações Brasileiras. Atualmente, a área produtiva do café no Brasil está estimada em 2,22 milhões de hectares. São cerca de 287 mil produtores, em aproximadamente 1.900 municípios, que se distribuem em 15 Estados: Acre, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Goiás, Distrito Federal, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraná, Pernambuco, Rio de Janeiro, Rondônia e São Paulo. Ressalta-se que a cafeicultura brasileira é uma das mais exigentes em relação a questões sociais e ambientais. Havendo, portanto, uma preocupação em garantir produção sustentável e de alta qualidade para o atendimento das diferentes demandas mundiais (MAPA, 2017).

A instalação das lavouras comerciais de café é realizada por meio de mudas obtidas pelo uso de sementes. A utilização de mudas vigorosas e sadias está diretamente relacionada com o desenvolvimento uniforme das plantas (COSTA, 2003), sendo, portanto, um fator primordial para a formação das novas lavouras. Desta forma, a utilização de sementes de alta qualidade é um dos principais fatores responsáveis pela obtenção de mudas vigorosas, resultando em maior probabilidade de obtenção de plantas altamente produtivas (ARAUJO, 2008). A qualidade das sementes é o somatório de atributos genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários que afetam a capacidade de estabelecimento e desenvolvimento da planta (DELOUCHE e POTTS, 1974). Assim, para obtenção de sementes de alta qualidade é necessária a integração das etapas de produção, beneficiamento, armazenamento, análise e comercialização (TILLMANN, 2006).

2.2. Características e fatores que afetam a qualidade de sementes de café

O fruto do cafeeiro é uma drupa constituída por dois lóculos (ovário bilocular), cada lóculo contém um óvulo, que estão cobertos por um endocarpo (pergaminho). Com o desenvolvimento normal do fruto cada óvulo dá origem a uma semente, sendo estas cobertas por uma película prateada que corresponde a restos do tegumento (RENA e MAESTRI, 1986; ILLY e VIANI, 1995).

Vários fatores de natureza biótica e abiótica podem interferir na produção de sementes de café de alta qualidade. Durante a formação dos frutos e sementes pode ocorrer o ataque da broca-do-café (*Hypothenemus hampei* Ferrari, 1867) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) que, quando não provoca a queda do fruto, reduz a densidade das sementes que permanecem na planta. A fêmea, após o acasalamento, perfura o fruto geralmente na região da coroa e deposita seus ovos em uma galeria construída no endosperma da semente; tanto as larvas como os adultos causam danos consideráveis aos frutos e sementes (DAMON, 2000).

Além dos danos por broca, os lotes de sementes de café apresentam outros tipos de alterações, como por exemplo, as relacionadas à deterioração dos tecidos. As causas deste tipo de dano correspondem principalmente à interação das sementes com as condições do ambiente e aos processos em que estas são submetidas. Fatores, como a umidade favorecem a incidência de patógenos, principalmente fungos que prejudicam a qualidade física das sementes de café, pela deterioração das estruturas (ROSA et al., 2005).

Na ocorrência de sementes deterioradas, o processo de formação também pode estar relacionado. Segundo Caixeta, (2013) a posição de desenvolvimento do fruto no ápice da planta e nas pontas dos ramos está sujeita a temperaturas mais elevadas e maior intensidade luminosa. Sendo este um fator capaz de prejudicar a qualidade da semente devido à maturação acelerada, porem do processo de deterioração (MATIELLO, 1995; MATIELLO et al., 2010). A translocação de compostos como a sacarose para a periferia do endosperma também antecipa os processos de deterioração das sementes, pela rápida decomposição (CORTEZ, 2001).

Sobre o aparecimento de sementes malformadas, embora não estejam completamente esclarecidas às razões da ocorrência deste tipo problema, crê-se

que isso é determinado pelo genótipo (cultivar) e a sua interação com o ambiente (MENDES e BACCHI, 1940; GOULART et al., 2007).

O beneficiamento é outro fator que interfere diretamente na qualidade física e fisiológica da semente, já que sementes que são submetidas a beneficiamento mecânico são mais suscetíveis à ocorrência de danos, que podem interferir sobre a germinação. Arcila et al. (2007), observaram que sementes de café que sofreram algum tipo de dano mecânico durante o beneficiamento originaram até 10% de plântulas malformadas.

Entretanto, deve-se considerar que a intensidade de ocorrência e de interferência qualitativa desses problemas em sementes de café é variável em função da espécie, do cultivar, das condições de produção, modalidade de colheita e do processo utilizado na extração das sementes (GIOMO, 2003).

Além dos problemas que podem ocorrer durante a produção de sementes de café, há o inconveniente da perda rápida da viabilidade durante o armazenamento e da lenta e desuniforme germinação e emergência de plântulas. Esses fatores acarretam em aumento considerável do período para formação das mudas e em dificuldades para instalação da cultura no campo (SGUAREZI et al., 2001; EIRA et al., 2006). Para a análise da germinação de sementes de café em condições controladas de laboratório são necessários 30 dias (BRASIL, 2009) e a emergência das plântulas ocorre aproximadamente 50 dias após a semeadura, dependendo das condições ambientais (MAESTRI e VIEIRA, 1961).

A lenta germinação de sementes de café está relacionada com a presença de inibidores naturais (principalmente na película prateada) ou ao balanço hormonal, relacionados a baixos teores de substâncias semelhantes ao ácido giberélico (VÁLIO, 1976; PEREIRA et al., 2002; SILVA et al., 2004). A presença de compostos fenólicos são também possíveis inibidores da germinação de sementes de café (VIEIRA, 1991). Outros fatores como a presença do endocarpo (pergaminho) que pode impedir a absorção de água e O_2 pela semente (RENA e MAESTRI, 1986; LIMA et al., 2002) e a ocorrência de injúrias mecânicas ou por deterioração de tecidos por ação de microrganismos também são citados como causa da lenta germinação e redução do potencial fisiológico de sementes dessa espécie.

2.3. Análise radiográfica de sementes

Desde a descoberta dos raios X por Wilhelm Conrad Röntgen, em 1895, sua aplicação tem sido ampla e frequente ao longo dos anos. A análise de imagens radiográficas é baseada no princípio da atenuação (redução na intensidade causada pela absorção) de um feixe de radiação com comprimentos de onda de 0.01 a 10 nanômetros, transmitido através de um objeto. Essa redução em intensidade depende da densidade (quantidade de material por volume) e da composição atômica do objeto (GOMES JUNIOR e VAN DUIJN, 2017).

O primeiro registro na literatura sobre a análise radiográfica de sementes foi feito por Simak e Gustafsson, em 1953, na Suécia. Esses pesquisadores avaliaram a morfologia interna para identificação de anormalidades embrionárias em sementes de espécies florestais. Dez anos depois, Stark e Adams utilizaram o teste de raios X para identificação de sementes vazias, malformadas e infestadas por insetos, em espécies florestais (SILVA et al., 2013). Posteriormente, vários trabalhos confirmaram o teste de raios X como um método rápido e eficiente para análise da morfologia interna de sementes. Este método é vantajoso pelo fato de não comprometer a viabilidade das sementes, devido à baixa dose de radiação utilizada, possibilitando a realização de outros testes com as mesmas amostras (BINO et al., 1993; ISTA, 1995).

A radiografia é caracterizada pela formação de imagens com diferentes níveis de cinza após a interação da radiação com os tecidos da semente. Dependendo da composição atômica dos elementos químicos e da densidade dos tecidos, a imagem é formada com tons de cinza mais escuros (tecidos compostos por elementos com número atômico baixo, como $H = 1$, $C = 6$, $N = 7$ ou espaços vazios no interior da semente) ou tons de cinza mais claros (tecidos com maior densidade e número atômico dos elementos constituintes).

Na análise radiográfica de sementes é importante considerar também o grau de umidade da semente. Segundo Simak (1991), o teor de água das sementes pode influenciar a densidade ótica, ou seja, quanto menor a umidade, maior a densidade ótica, o que facilitaria a visualização das partes internas das sementes através da imagem radiográfica. Souza et al. (2008), avaliando sementes de *Platypodium elegans* Vog (jacarandá-branco), verificaram que o baixo teor de água das sementes (6 - 8%) levou a uma maior densidade ótica, possibilitando melhor visualização da

morfologia interna das sementes radiografadas. Vale ressaltar que cada espécie possui características próprias de densidade e composição, que são fatores que interferem na visualização das partes das sementes (ALMEIDA et al., 2007).

Um dos requisitos básicos para identificação de problemas associados com o potencial fisiológico de sementes é a averiguação da sua morfologia interna (GOMES JUNIOR, 2010). A análise de sementes através das imagens radiográficas tem permitido o estabelecimento de relações entre integridade, morfologia e potencial fisiológico (MARCOS FILHO et al., 2010).

Em várias espécies florestais, a análise radiográfica tem sido realizada eficientemente para identificação de sementes predadas por insetos, sementes malformadas e vazias e com presença de tecidos deteriorados, permitindo estabelecer relação com a germinação (MACHADO e CICERO, 2003; OLIVEIRA et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2004; PUPIM et al., 2008; MASETTO et al., 2008; SOUZA et al., 2008; ALBUQUERQUE e GUIMARÃES, 2008; CARVALHO et al., 2009; AMARAL et al., 2011).

Entre as espécies cultivadas, a eficiência da análise radiográfica tem sido comprovada na identificação de injúrias mecânicas em sementes de milho (CICERO et al., 1998; CICERO e BANZATTO JUNIOR, 2003), de milho doce (GOMES JUNIOR e CICERO, 2012), de soja (FLOR et al., 2004; PINTO et al., 2009), de feijão (FORTI et al., 2008; MONDO et al., 2009), de amendoim (MARCHI, 2010) e de *Crotalaria juncea* L. (ARRUDA et al., 2016), danos causados por percevejo em sementes de soja (FLOR et al., 2004; PINTO et al., 2009), de feijão (FORTI et al., 2008) e de *Crotalaria juncea* L. (ARRUDA et al., 2016), danos causados por caruncho em sementes de feijão-caupi (MELO et al., 2010), injúrias por “umidade” em sementes de soja (PINTO et al., 2007) e de feijão (FORTI et al., 2008), injúrias provocadas pela secagem em sementes de arroz (MENEZES et al., 2012), lesões associadas com tecidos deteriorados em sementes de pinhão manso (PINTO et al., 2009), de amendoim (MARCHI, 2010) e de *Crotalaria juncea* L. (ARRUDA et al., 2016).

Ainda, a análise radiográfica tem possibilitado identificar sementes com alterações na morfologia interna, caracterizando-se como malformadas ou completamente vazias. Pesquisas realizadas com sementes de pimentão (DELL'AQUILA et al., 2007), mamão (SANTOS et al., 2009) e berinjela (SILVA et al., 2012b) evidenciaram relação entre a ocorrência de sementes malformadas com a

perda de germinação. Assim, a utilização da análise radiográfica para avaliação da morfologia interna de sementes de café poderá auxiliar na seleção das melhores sementes para assegurar eficiência no processo de produção de mudas.

2.4. Avaliação do potencial fisiológico de sementes

O potencial fisiológico reúne informações sobre a germinação e o vigor das sementes. A avaliação da germinação e a identificação de amostras com maior probabilidade de apresentar desempenho eficiente em campo ou durante o armazenamento, geralmente é realizada em laboratório (MARCOS FILHO, 2015). A importância da determinação do vigor de sementes tem sido atribuída, basicamente, aos resultados superestimados do desempenho das sementes no teste de germinação, utilizado rotineiramente para avaliação do potencial fisiológico de sementes sob condições controladas (WATERS e BLANCHETTE, 1983; MARCOS FILHO, 1999). Os testes de vigor se constituem em métodos de uso cada vez mais rotineiro pela indústria de sementes na determinação do potencial fisiológico (SANTOS et al., 2011).

Segundo a *Association of Official Seed Analysts* - AOSA (1983), o vigor é definido como as propriedades das sementes que determinam o potencial de emergência rápida e uniforme e o desenvolvimento de plântulas normais, sob ampla diversidade de condições de ambiente. Paralelamente, a *International Seed Testing Association* - ISTA (2004) define o vigor como o conjunto de propriedades que determinam a atividade e o desempenho de lotes de sementes com germinação aceitável, sob ampla variação de condições de ambiente.

A avaliação do vigor de sementes tem evoluído à medida que os testes disponíveis vêm sendo aperfeiçoados, permitindo a obtenção de resultados consistentes e reproduzíveis (MARTINS et al., 2002), como também quando novos procedimentos são introduzidos. A avaliação do vigor de sementes de café tem sido realizada por diferentes testes, como o teste de envelhecimento acelerado na determinação do potencial fisiológico entre lotes (HILST et al., 2012), nas diferenças no vigor de sementes armazenadas em distintas temperaturas (ARAUJO et al., 2008) e diferenças no vigor de sementes após o beneficiamento (GIOMO et al., 2008); o teste de condutividade elétrica na diferenciação do potencial fisiológico de lotes (MALTA et al., 2005; COSTA e CARVALHO, 2006; HILST et al., 2012) e

diferenças do potencial fisiológico de sementes pelo acondicionamento (CARVALHO et al., 2012); o teste de velocidade de emergência em sementes com diferentes tamanhos (FAVARIN et al., 2003) e diferenças do vigor pelo o beneficiamento (GIOMO et al., 2008); o teste de exudados (MALTA et al., 2005; HILST et al., 2012) e o teste de comprimento de raiz primária na determinação de diferenças do potencial fisiológico entre lotes de sementes (MACEDO et al., 2008; ARAUJO et al., 2008).

2.5. Determinação do vigor de sementes utilizando imagens digitalizadas de plântulas

Segundo Marcos Filho (2010b) na determinação direta ou indireta do vigor de sementes três abordagens são predominantes: na primeira, a verificação da resposta das sementes submetidas à condição de estresse, como testes de frio, envelhecimento acelerado, deterioração controlada e germinação a temperatura subótima; na segunda, é avaliado o estado metabólico atual da semente, como atividades de enzimas e de integridade de membrana (teste de condutividade elétrica e lixiviação de potássio); finalmente há procedimentos para identificar diferenças no vigor de sementes baseando-se no desempenho de plântulas em condições controladas de laboratório ou em campo (teste de velocidade de germinação ou emergência de plântulas, crescimento de plântulas ou suas partes, massa de matéria seca ou classificação de vigor de plântulas).

Um dos métodos mais eficientes para a avaliação do vigor de sementes consiste na determinação da velocidade e da uniformidade de crescimento das plântulas (HOFFMASTER et al., 2003). Conforme Dan et al. (1987), sementes mais vigorosas originam plântulas com maior taxa de crescimento pois possuem maior capacidade de transformação e de suprimento de reservas dos tecidos de armazenamento e da maior incorporação destes pelo eixo embrionário. 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*) e pela Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, a ABRATES.

Segundo Baalbaki et al. (2009), a determinação da taxa de crescimento de plântulas consiste em um modelo ideal para utilização de tecnologias

computadorizadas para avaliação do vigor, pois permitem reprodutibilidade e objetividade nas avaliações. Assim, uma das possibilidades com potencial para conferir maior rapidez e consistência às informações obtidas sobre o vigor de sementes é o uso da análise computadorizada de imagens de plântulas.

As técnicas de análise de imagens para avaliação do crescimento de plântulas são relatadas na literatura desde a década de 1960, sendo um dos primeiros sistemas, o desenvolvido por Jones e Cobb nos Estados Unidos da América em 1963; o sistema foi construído de maneira que um dispositivo móvel permitisse que uma câmera captasse imagens, possibilitando a avaliação do comprimento de um grupo de cinco plântulas de cenoura e de alface, ao mesmo tempo (KEEFE e DRAPER, 1988; KEEFE, 1990; McCORMAC et al., 1990). Posteriormente, outros sistemas automatizados foram propostos, porém tiveram pouca repercussão e aplicação prática.

Um dos sistemas que apresentou uma aplicação mais significativa foi proposto por Sako et al. (2001). Esses pesquisadores desenvolveram uma metodologia para captar imagens de plântulas e efetuar determinações simultâneas do comprimento de hipocótilo, da raiz primária, da plântula inteira e da relação raiz/hipocótilo, durante a germinação de sementes de alface. O sistema, denominado *Seed Vigor Imaging System* (SVIS®), fornece informações sobre o vigor das sementes após o processamento das imagens em computador, com o uso de software específico, considerando, também, a velocidade e a uniformidade de desenvolvimento das plântulas. Posteriormente, os esforços dos idealizadores do SVIS® e de outros pesquisadores foram dirigidos para a sua adequação visando a avaliação de imagens de plântulas de outras espécies, como a soja (HOFFMASTER et al., 2003; HOFFMASTER et al., 2005), milho (HOFFMASTER et al., 2005) e melão (MARCOS FILHO et al., 2006). Atualmente, por iniciativa de pesquisadores brasileiros, estão sendo desenvolvidos outros sistemas com princípios semelhantes ao SVIS®, como o sistema para análise automatizada do vigor de sementes – Vigor-S. Pesquisas realizadas com sementes de soja (SILVA e GOMES JUNIOR, 2014) e de milho (CASTAN et al., 2018) comprovaram a eficiência do Vigor-S, produzindo informações compatíveis com as obtidas na análise SVIS®.

Embora o SVIS® tenha sido desenvolvido nos Estados Unidos, mais especificamente na Ohio State University (OSU), houve predominância do desenvolvimento das pesquisas envolvendo este sistema por pesquisadores

brasileiros. Os trabalhos foram conduzidos, basicamente, pela atuação de estudantes e pesquisadores brasileiros em programas de intercâmbio e de atualização profissional na universidade americana.

No Brasil, as pesquisas utilizando o SVIS® têm sido coordenadas ou conduzidas no Laboratório de Análise de Imagens do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ), Universidade de São Paulo (USP), em Piracicaba, SP, mediante um convênio existente entre a OSU e a ESALQ, garantindo o direito de uso do software para fins científicos. A eficiência desse sistema tem sido comprovada para avaliação do vigor de sementes de várias espécies que possuem morfologia de plântulas semelhante à das espécies contempladas pelo software. Dentre essas espécies são destacadas o milho doce (GOMES JUNIOR et al., 2009; ALVARENGA et al., 2012), a mamona (KOBORI et al., 2010), o amendoim (MARCHI et al., 2011), a *Crotalaria juncea* L. (SILVA et al., 2012), o trigo (SILVA et al., 2012b), o quiabo (KIKUTI e MARCOS FILHO, 2013), feijão (GOMES JUNIOR et al., 2014), a berinjela (SILVA e CICERO, 2014a), o tomate (SILVA e CICERO 2014b), o pimentão (DIAS et al., 2014), o algodão (ALVARENGA e MARCOS FILHO, 2014; DUARTE, 2017) e o girassol (ROCHA et al., 2015). Para todas essas espécies, os resultados mostraram equivalência comparável a outros testes utilizados rotineiramente para avaliação do vigor. Entretanto, ainda não foram realizadas pesquisas visando testar a eficiência deste método para avaliação do vigor de sementes de café.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida nos Laboratórios de Análise de Sementes e de Análise de Imagens do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (USP/Esalq), em Piracicaba, SP.

Foram avaliadas sementes de café (*Coffea arabica* L.) dos cultivares Bourbon e Catucaí 20/15, representados cada um por seis lotes com diferenças no potencial fisiológico. A pesquisa foi conduzida em dois experimentos: Experimento I - avaliação da morfologia interna das sementes por meio de raios X e associação com o desempenho das plântulas; experimento II- comparação da análise de imagens digitalizadas de plântulas com testes convencionalmente utilizados para determinação do vigor das sementes. As avaliações do experimento I foram realizadas numa época experimental (outubro de 2017 a fevereiro de 2018) e as avaliações do experimento II foram realizadas em duas épocas (julho e outubro de 2017). Entre as épocas, as sementes foram armazenadas em embalagem plástica em condições de temperatura média de 20 °C (VOSSEN, 1979).

Inicialmente, foi realizada a caracterização dos lotes relacionada ao grau de umidade das sementes e à germinação.

3.1. Grau de umidade

Foi determinado pelo método de estufa a 105 °C (± 3 °C), durante 24 horas, utilizando duas amostras de 5 gramas de sementes para cada lote. Após esse período as sementes foram pesadas e determinado o conteúdo a água. Os resultados foram expressos em porcentagem média (base úmida), segundo as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

3.2. Germinação

Teste realizado com quatro repetições de 50 sementes para cada lote (sementes sem pergaminho), em rolos de papel-toalha umedecidos com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do papel. Os rolos foram colocados em

germinador a 30 °C, por 30 dias. As contagens foram realizadas aos 15 (primeira contagem de germinação) e aos 30 dias após a instalação do teste e, as avaliações, realizadas de acordo com os critérios estabelecidos nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais para cada lote.

3.3. Experimento I - avaliação da morfologia interna das sementes por meio de raios X e associação com o desempenho das plântulas

A avaliação da morfologia interna das sementes por meio da análise radiográfica foi realizada visando identificar malformações, tecidos deteriorados e injúrias causadas por broca-do-café. Essa avaliação foi realizada para cada lote e cultivar.

3.3.1 Teste de raios X

Foram radiografadas 100 sementes sem pergaminho, de cada lote, posicionadas a 28,6 cm da fonte de emissão de raios X, utilizando-se um equipamento digital Faxitron X-Ray, modelo MX-20 DC-12, acoplado a um computador Core 2 Duo (3.16 GHz, 3 GB de memória RAM, HD de 160 GB) e monitor MultiSync (LCD 1990SX de 17 polegadas). As sementes foram fixadas, em grupos de 20, sobre uma folha de acetato transparente (210 x 297 mm) utilizando fita adesiva dupla face. Após as radiografias, as imagens foram salvas no computador em formato JPEG (Joint Photographics Experts Group) e as sementes foram transferidas para uma bandeja de plástico com células individualizadas, mantendo-se a mesma identificação que receberam no momento da radiografia. Com base na interpretação das imagens radiográficas, foram calculados para cada lote e cultivar os percentuais de ocorrência de sementes intactas, malformadas, apresentando tecidos deteriorados e atacadas pela broca-do-café. Foram consideradas sementes intactas aquelas completas e bem desenvolvidas, livres de patógenos, sem danos ocasionados por ação mecânica ou por insetos, sendo identificadas como do tipo chatas, mocas, conchas e triangulares (Figura 2b). Com as sementes radiografadas foi realizado o teste de emergência de plântulas e os

resultados do desempenho das plântulas foram confrontados com as imagens radiográficas.

3.3.2 Emergência de plântulas

As sementes radiografadas foram semeadas entre areia em caixas de plástico (32 cm x 28 cm x 10 cm) contendo perfurações no fundo para permitir a drenagem. As sementes foram distribuídas de maneira que pudessem ser identificadas conforme a análise radiográfica, sobre uma camada de 5 cm de areia e cobertas com uma camada de 1 cm. A areia foi umedecida com quantidade de água equivalente a 60% da capacidade de retenção e, as caixas, mantidas em ambiente não controlado. As condições de temperatura e de umidade relativa do ar foram monitoradas por meio dos registros em termohigrógrafo (marca Novus, modelo LogBox-RHT-LCD). A avaliação de plântulas foi realizada a cada três dias contabilizando o número de plântulas emergidas para cada lote até a estabilização. Foram consideradas como emergidas as plântulas que apresentavam as folhas cotiledonares envoltas pelo endosperma (folhas cotiledonares não expandidas) no estágio de "palito de fósforo" (ASCANIO, 1994). Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas emergidas para cada lote.

3.3.3 Velocidade de emergência de plântulas

A velocidade de emergência de plântulas foi determinada juntamente com o teste de emergência de plântulas, sendo a contagem realizada a cada três dias, até se estabilizar a emergência. Para a determinação do índice de velocidade de emergência de plântulas foi utilizada a equação proposta por Maguire (1962).

$$IVE = N_1/D_1 + N_2/D_2 + \dots + N_n/D_n$$

Onde:

IVE: índice de velocidade de emergência;

$N_1, N_2, \dots, N_n$ = número de plântulas normais na primeira, segunda até a última contagem, respectivamente;

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

3.3.4 Comprimento da parte aérea das plantas, diâmetro do caule e massa de matéria seca da parte aérea

Estas avaliações foram realizadas 120 após a semeadura das sementes radiografadas. O comprimento da parte aérea das plantas foi determinado a partir da superfície do substrato até a inserção do último par de folhas utilizando uma régua graduada em milímetros e os resultados foram expressos em centímetros; o diâmetro do caule foi determinado 2 cm abaixo do ponto de inserção das folhas cotiledonares utilizando paquímetro digital, com resultados expressos em mm; a massa de matéria seca da parte aérea foi determinada em estufa a 70°C durante 72 horas, conforme Favarin et al. (2003). A parte aérea de cada planta foi colocada individualmente em sacos de papel, a pesagem foi realizada utilizando balança digital com precisão de três casas decimais (0,001 g) e os resultados foram expressos em miligramas por planta. Os valores médios de comprimento da parte aérea, diâmetro do caule e massa de matéria seca da parte aérea foram obtidos dividindo os valores correspondentes à soma dos dados de cada parâmetro pelo número total de sementes.

3.4. Experimento II - avaliação do vigor das sementes por meio da análise computadorizada de imagens de plântulas

As sementes foram submetidas às avaliações de vigor por meio da primeira contagem de germinação (item 3.2), envelhecimento acelerado, condutividade elétrica e emissão da raiz primária (apenas na segunda época de avaliação). Posteriormente, os resultados dessas avaliações foram comparados com os obtidos na análise computadorizada de imagens de plântulas.

3.4.1 Envelhecimento acelerado

As sementes foram colocadas em caixas de plástico (11 cm x 11 cm x 3 cm) como compartimentos individuais (mini-câmaras) e distribuídas em camada simples sobre uma tela metálica suspensa no interior da caixa contendo 40 ml de água. As caixas foram tampadas e mantidas em câmara de envelhecimento (tipo B.O.D.) regulada a 41 °C e umidade relativa do ar superior a 90% (MARCOS FILHO, 1999), durante 72 horas. Após esse período foi conduzido o teste de germinação conforme descrito no item 3.2, sendo a avaliação realizada quinze dias após a instalação do teste, de acordo com Araujo (2008). Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais para cada lote.

3.4.2 Condutividade elétrica

Quatro repetições de 25 sementes fisicamente puras de cada lote foram pesadas em balança com precisão de três casas decimais (0,001 g), colocadas para embeber em copos de plástico (200 ml) contendo 75 ml de água deionizada, durante 24 horas a 25 °C. Após o período de embebição, a condutividade elétrica da solução foi determinada por meio de leitura com condutivímetro da marca Digimed, modelo DM-32 e os resultados expressos em $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ de semente, segundo Carvalho et al. (2012).

3.4.3 Índice de velocidade de emissão da raiz primária

Quatro repetições de 50 sementes de cada lote foram colocadas a germinar em rolos de papel-toalha, conforme os procedimentos descritos para o teste de germinação (item 3.2). As avaliações consistiram na contagem e retirada de plântulas cujas raízes primárias haviam sido emitidas, com no mínimo 2 mm de comprimento, conforme Machado et al. (2012). Este procedimento foi repetido diariamente sempre no mesmo horário até quando se encerrou a emissão da raiz primária. No final das contagens foi calculado o índice de velocidade de emissão da raiz primária, de acordo com a equação proposta por Maguire (1962) usada para o cálculo da velocidade de germinação (item 3.3.3).

3.4.4 Avaliação do vigor, uniformidade e comprimento de plântulas com *Seed Vigor Imaging System (SVIS®)*

Inicialmente, foram realizadas avaliações preliminares para verificar a idade das plântulas mais adequada para análise, visando à obtenção das imagens. Para obtenção das plântulas, utilizaram-se cinco repetições de 20 sementes por lote, distribuídas em duas fileiras no terço superior sobre duas folhas de papel-toalha e cobertas com uma terceira folha. O papel foi umedecido com a quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a sua massa e os rolos foram mantidos em germinador a 30 °C durante 20 dias. Em seguida, as plântulas e as sementes não germinadas foram transferidas para uma folha de E.V.A. (Ethylene Vinyl Acetate) de coloração azul com dimensões de 30 cm x 22 cm a fim de proporcionar o contraste necessário para análise pelo sistema e digitalizadas no escâner HP Scanjet 200 instalado de maneira invertida no interior de uma caixa de alumínio (60 cm x 50 cm x 12 cm), ajustado na resolução 100 dpi e acoplado a um computador.

As imagens foram processadas pelo *Seed Vigor Imaging System (SVIS®)* sendo gerados índices de uniformidade de desenvolvimento de plântulas e de vigor, variação de 0 a 1000 (Figura 1) e o comprimento total de plântulas (em centímetros) utilizando a conversão 1 pixel = 0,0254 cm (SAKO et al., 2001; HOFFMASTER et al., 2003; MARCOS FILHO et al., 2006).

Figura 1. Imagens de plântulas de café do cultivar Bourbon, com 20 dias de idade, analisadas pelo software *Seed Vigor Imaging System* (SVIS®); as plântulas analisadas são marcadas em vermelho e as sementes não germinadas são marcadas na cor verde; nos retângulos inferiores são indicados o índice de vigor (*Vigor Index* = 793), número de plântulas analisadas (*Seedlings Measured* – Total = 20) e o comprimento individual (mm) da plântula demarcada na cor azul (*Individual Measurements* – Growth = 50.04); no retângulo à direita são indicados os índices de crescimento (*Growth* = 775) e de uniformidade (*Uniformity* = 836) da amostra.

Para a obtenção dos resultados com o uso do SVIS®, fixou-se o comprimento de 1,8 polegadas (4,57 cm) como o máximo esperado para plântulas de café com 20 dias de idade (germinação a 30 °C); a fixação desse comprimento máximo de plântula foi baseada em testes preliminares com amostras dos lotes dos cultivares de café. A contribuição do valor do crescimento e da uniformidade para o cálculo do índice de vigor foi de 70 % e 30 %, respectivamente.

3.4.5 Procedimento estatístico

Para os testes de germinação, testes convencionais de vigor e análise de imagens digitalizadas de plântulas com SVIS® foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado. Os dados obtidos foram submetidos à análise da variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, usando o

programa estatístico “InfoStat” (DI RIENZO et al., 2008). A análise estatística foi realizada separadamente para cada cultivar.

A análise das imagens do teste de raios X foi realizada mediante o confronto das imagens individuais de cada semente com os resultados do teste de emergência de plântulas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Avaliação da morfologia interna das sementes por meio de raios X e associação com o desempenho das plântulas

As imagens radiográficas possibilitaram identificar a ocorrência de sementes intactas, sementes com malformações, sementes com tecidos deteriorados e sementes atacadas pela broca-do-café, para os dois cultivares. Os percentuais de ocorrência de cada tipo de injúria em cada lote e cultivar estão apresentados na Tabela 1. Variações quanto ao percentual de ocorrência de sementes com malformações, sementes com tecidos deteriorados e sementes atacadas pela broca-do-café foram observadas entre os cultivares e entre os lotes avaliados.

A principal variação morfológica observada entre sementes intactas dos dois cultivares correspondeu ao tamanho; independentemente do lote, as sementes do cultivar Bourbon mostraram-se maiores em relação ao cultivar Catucaí 20/15 (Figura 2a). Embora possa ocorrer influência do genótipo, as diferenças observadas no tamanho das sementes entre os cultivares podem ser atribuídas, principalmente, às variações das condições edafoclimáticas em que foram produzidas. Segundo Aguiar et al. (2004) o tamanho das sementes de café pode variar em função do local de cultivo, das condições climáticas e de manejo durante o ciclo produtivo. Porém quando produzidas em mesmo ambiente as sementes dos cultivares Bourbon e Catucaí 20/15 apresentam pequena variação de tamanho (CONSORCIO PESQUISA CAFÉ, 2017).

Para o cultivar Bourbon, o percentual de sementes intactas variou de 88% (lote 5) a 96% (lotes 1 e 3). Já, para o cultivar Catucaí 20/15, a variação entre lotes foi maior, equivalente a 12 pontos percentuais (Tabela 1).

Tabela 1. Porcentagem de ocorrência de sementes intactas, malformadas, com tecidos deteriorados e atacadas pela broca-do-café avaliadas por meio da análise radiográfica em seis lotes de sementes de café de cada cultivar, Bourbon e Catucaí 20/15.

Cultivar Bourbon				
Lote	Intactas	Malformadas	Deterioradas	Broca-do-café
(%)				
1	96	2	1	1
2	93	0	6	1
3	96	0	3	1
4	95	2	3	0
5	88	3	9	0
6	94	2	3	1
Cultivar Catucaí 20/15				
7	82	2	13	3
8	92	0	2	6
9	91	1	5	3
10	94	0	5	1
11	91	2	2	5
12	91	0	5	4

Com relação às sementes com alterações em sua estrutura interna nos lotes, para o cultivar Bourbon, os maiores percentuais foram observados para sementes com tecidos deteriorados (1 a 9%), seguida pela ocorrência de sementes malformadas (máximo de 3%) e com danos provocados pela broca-do-café (1%) (Tabela 1). De maneira similar, para o cultivar Catucaí 20/15, a menor ocorrência foi de sementes malformadas (máximo de 2%) e com danos provocados pela broca-do-café (1 a 6%), sendo os maiores percentuais observados para sementes com tecidos deteriorados, com valores de 2 a 13% (Tabela 1).

Conforme pode ser observado nas Figuras 2b, 2c, 2d e 2e, a categoria de sementes intactas foi composta por diferentes tipos, ou seja, sementes chatas, mocos, conchas e triangulares. As sementes desta categoria foram facilmente identificadas durante a interpretação das imagens radiográficas, pois apresentaram ausência de manchas de tonalidade cinza mais escuro (característica de sementes

malformadas ou com presença de tecidos deteriorados), assim como ausência de galerias de tonalidade cinza escuro que são sinais típicos das injúrias provocadas pela broca-do-café (Figuras 2f, 2g, 2h e 2i).

A análise radiográfica é baseada na absorção de raios X em diferentes quantidades pelos tecidos das sementes, esta absorção depende da densidade e composição desses tecidos, além do comprimento de onda da radiação (SIMAK, 1991; BINO et al., 1993; ISTA, 2004; GOMES JUNIOR e VAN DUIJN, 2017). As áreas mais escuras da imagem correspondem àquelas partes em que os raios X penetram mais facilmente, enquanto que áreas mais claras representam partes mais densas da semente (SIMAK, 1991).

Embora persista a subjetividade e o caráter destrutivo dos métodos, atualmente os testes mais utilizados na detecção de danos em sementes de café são o teste de tetrazólio; teste “verde rápido” e de tintura de iodo, utilizados por Zonta et al. (2008) na determinação de danos mecânicos, o teste “Lercafé” utilizado por Reis (2010) na determinação de deterioração de partes do endosperma e por Zonta et al. (2008) na verificação de danos por broca-do-café e danos ocasionados por secagem. Assim, a introdução do teste de raios X poderá substituir procedimentos corriqueiramente utilizados na inspeção da morfologia de sementes de café com maior rapidez precisão nos resultados, por apresentar caráter não destrutivo.

Na identificação de sementes malformadas pela análise radiográfica não foram constatadas alterações no tamanho que pudessem ser relacionadas com a maior ou menor ocorrência de sementes com esse tipo de problema; a caracterização típica foi à formação parcial do endosperma na região central da semente, conforme pode ser observado na Figura 2f. Segundo Goulart et al. (2007), durante o desenvolvimento do fruto do cafeeiro fatores como o genótipo, condições ambientais durante o manejo e desenvolvimento dos frutos, posição do fruto na planta mãe e época de colheita podem provocar o aparecimento de lócus infertilizados ou vazios que levam à produção de sementes malformadas. As variações apresentadas nas sementes de cada cultivar sugerem que estas ocorreram devido às características ambientais em que as sementes foram expostas durante as etapas de produção.

Nesta pesquisa, a análise radiográfica representou um método eficiente para a avaliação da morfologia interna de sementes de café e a identificação de

alterações físicas que possam estar associadas com a perda de germinação. Várias pesquisas realizadas com diferentes espécies evidenciaram a eficiência do teste de raios X na identificação de injúrias mecânicas (CICERO e BANZATTO JUNIOR, 2003; FLOR et al., 2004; FORTI et al., 2008; MONDO et al., 2009; GOMES JUNIOR e CICERO, 2012; DUARTE, 2017), injúrias provocadas por insetos (FLOR et al., 2004; MASETTO et al., 2007; FORTI et al., 2008; CARVALHO et al., 2009), injúrias provocadas por secagem inadequada (MENEZES et al., 2012), injúrias provocadas por “umidade” (FLOR et al., 2004; PINTO et al., 2007; FORTI et al., 2010), sementes com malformação de tecidos (MELO et al., 2009; CARVALHO et al., 2010; DUARTE, 2017) e sementes com presença de tecidos deteriorados (MONDO e CICERO, 2005; CARVALHO et al., 2009; SILVA et al., 2012; ARRUDA et al., 2016; DUARTE, 2017).

Figura 2. Imagens radiográficas de sementes dos cultivares Catucaí 20/15 e Bourbon, (a) e exemplo de sementes intactas do tipo chata (b), moca (c), concha (d) e triangular (e), de sementes malformadas (f, g), de semente com tecidos deteriorados (h) e de semente com injúrias provocadas pela broca-do-café (i). O retângulo vermelho delimita a região do eixo embrionário. A barra corresponde a 1 cm.

Embora seja um procedimento que não avalia as condições fisiológicas e metabólicas de sementes, a análise de raios X permite estabelecer relações com o potencial fisiológico, pois as baixas doses de radiação necessárias para análise de sementes não provocam alterações na constituição atômica dos tecidos. Assim,

nesta pesquisa, as sementes radiografadas foram submetidas ao teste de emergência de plântulas visando, exclusivamente, estabelecer relação entre a ocorrência de danos físicos com o desempenho fisiológico.

Os resultados médios de porcentagem de emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência de plântulas, altura de plântula, diâmetro do caule e massa seca da parte aérea de plântula, correspondentes às sementes radiografadas do cultivar Bourbon, estão apresentados nas Figuras 3 e 4.

Figura 3. Porcentagem de emergência de plântulas e índice de velocidade de emergência (IVE) de plântulas de café do cultivar Bourbon. *Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A porcentagem de emergência de plântulas do cultivar Bourbon variou de 74 a 90%, os melhores desempenhos foram observados para os lotes 4 e 6 e o lote 5 foi classificado como o menos vigoroso, seguido do lote 2. O pior desempenho dos lotes 5 e 2 também foi constatado pelos menores valores do índice de velocidade de emergência de plântulas; diferenças estatísticas foram detectadas entre o lote 5 e os lotes 1, 3, 4 e 6 (Figura 3).

É importante enfatizar que todos os lotes de sementes foram submetidos às mesmas condições ambientais durante o período do teste de emergência de plântulas; as temperaturas variaram de 23 a 28°C e a umidade relativa do ar foi entre 67 e 78%. Portanto, o teste de emergência de plântulas possibilitou identificar, com segurança, diferenças de potencial fisiológico entre os lotes de sementes.

Figura 4. Valores médios de altura de plântula (cm), diâmetro do caule (mm) e massa seca de plântula (parte aérea) (mg) obtidas de sementes de café do cultivar Bourbon. As barras correspondem ao erro padrão da média.

Com relação às avaliações de altura de plântula e diâmetro do caule, o melhor desempenho foi observado para os lotes 4 e 6. As plântulas do lote 5 apresentaram menor altura (5,12 cm) em comparação aos demais lotes e, juntamente com o lote 2, diâmetro do caule inferior ao das plântulas dos lotes 3, 4 e 6 (Figura 4). Referente à massa seca da parte aérea das plântulas verificou-se que o lote 4 originou plântulas mais vigorosas (97,7 mg por plântula) em comparação com os demais lotes. As sementes dos lotes 5 originaram plântulas com massa seca de aproximadamente 70,0 mg (Figura 4).

A análise comparativa das imagens radiográficas das sementes com o desempenho das plântulas evidenciou relação entre a emergência de plântulas e a ocorrência sementes malformadas, sementes com tecidos deteriorados e sementes com injúrias provocadas pela broca-do-café. Conforme se pode observar na Tabela 1, o lote 5, que apresentou a menor porcentagem de sementes intactas, foi o com menor percentual de emergência de plântulas (Figura 3). Relações semelhantes também ocorreram para as avaliações de altura de plântula e diâmetro do caule (Figura 4). Esses resultados concordam com outros trabalhos realizados em diferentes espécies como o de Cicero e Banzatto Junior, (2003) que evidenciaram a relação entre os danos mecânicos com os prejuízos no desempenho fisiológico em sementes de milho. Forti et al. (2008) fizeram esta mesma constatação com danos mecânicos e os causados por percevejos em sementes de feijão. Do mesmo modo, Carvalho et al. (2009) identificaram danos internos por deterioração em sementes de abóbora que afetaram negativamente o potencial fisiológico.

A análise da relação entre a ocorrência de alterações na morfologia interna com a emergência de plântulas, para cada semente, evidenciou que sementes com tecidos deteriorados quase sempre não germinaram (Figura 5). Por outro lado, todas as sementes com injúrias provocadas pela broca-do-café não germinaram. As sementes identificadas com a notação D dentro do quadrado de coloração vermelha ou verde representam, respectivamente, sementes com tecidos deteriorados que não germinaram ou que originaram plântulas normais. Essa mesma lógica aplica-se para sementes intactas (I), sementes malformadas (M) e sementes com injúrias provocadas pela broca-do-café (B).

Pela análise da Figura 5 pode-se observar que algumas sementes intactas não germinaram e o número de sementes com esse comportamento variou entre lotes, no lote 5, por exemplo, 17% das sementes intactas não germinaram, ao passo que, para os lotes 4 e 6, essa relação foi de apenas 5,3 e 6,4% respectivamente. Estas observações permitiram constatar o caráter físico do teste de raios X, sendo que este permite analisar atributos morfológicos da semente, sem identificar problemas relacionados ao seu estado fisiológico. Segundo Burg et al. (1994), algumas sementes que se apresentam normais no teste de raios X podem ter problemas na germinação, possivelmente devido a infecções por microrganismos não perceptíveis nas imagens ou por estas estarem fisiologicamente mortas.

Figura 5. Diagrama representativo da relação entre semente intacta (I), semente malformada (M), semente com tecidos deteriorados (D) e semente com injúrias provocadas pela broca-do-café (B) identificadas pela análise radiográfica e relação com a formação de plântula normal (verde) ou semente não germinada (vermelho), em seis lotes de sementes do cultivar Bourbon.

Com relação ao cultivar Catucaí 20/15, os resultados médios de porcentagem de emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência de plântulas, altura de plântula, diâmetro do caule e massa seca da parte aérea de

plântula, correspondentes às sementes radiografadas estão apresentados nas Figuras 6 e 7.

Figura 6. Porcentagem de emergência de plântulas e índice de velocidade de emergência (IVE) de plântulas de café do cultivar Catucaí 20/15. *Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

A porcentagem de emergência de plântulas variou de 44 a 74%, os melhores desempenhos foram observados para os lotes 11 e 12; o lote 7 foi classificado como o menos vigoroso, seguido dos lotes 8, 9 e 10. O pior desempenho do lote 7 também foi constatado pelo menor valor do índice de velocidade de emergência de plântulas e diferenças estatísticas foram detectadas entre o lote 7 e os lotes 11 e 12 (Figura 6).

Com relação às avaliações de altura de plântula, o melhor desempenho foi observado para os lotes 11 e 12. As plântulas do lote 7 apresentaram a menor altura referente aos outros lotes, a média foi de apenas de 2,03 cm. Resposta semelhante foi observada para o diâmetro do caule (Figura 7).

Referente à massa seca da parte aérea das plântulas verificou-se que o lote 12 originou plântulas mais vigorosas (69,74 mg por plântula) acompanhado pelos

lotes 11 e 9 e sendo superiores aos lotes 7, 8 10. As sementes do lote 7 originaram plântulas com a menor massa seca, aproximadamente 34,06 mg (Figura 7). Avaliações de desempenho de plântulas de café do cultivar Catucaí AM 2SL, conduzidas por Araujo et al. (2016), apresentaram valores superiores aos obtidos nesta pesquisa quanto ao índice de velocidade emergência (2,82), emergência de plântulas (96%), diâmetro de caule (1,93 mm) e altura da plântula (5,3 cm) com 150 dias de idade. Os resultados obtidos por este pesquisador podem ter sido influenciados por fatores como a maior idade das plântulas na avaliação, o substrato utilizado (terra: esterco e nutrientes) e os recipientes próprios para mudas que foram usados (sacos de polietileno). Em relação às condições do ambiente, estas não são relatadas pelo autor.

Figura 7. Valores médios de altura de plântula (cm), diâmetro do caule (mm) e massa seca de plântula (parte aérea) (mg) obtidas de sementes de café do cultivar Catucaí 20/15. As barras correspondem ao erro padrão da média.

Os resultados das avaliações das plântulas indicam que a variação no tamanho das sementes do cultivar Catucaí 20/15, verificado no teste de raios X (Figura 2a), também foi um fator determinante na geração de plântulas de baixa

qualidade em relação às variáveis fisiológicas de desenvolvimento (comprimento da parte aérea, diâmetro do caule e massa seca). As sementes de café de maior tamanho ou maior densidade geram plântulas de qualidade superior do que sementes de menor tamanho ou menor densidade, determinada pelo crescimento (FAVARIN et al., 2003; GIOMO et al., 2004). Isso evidencia a importância da seleção de sementes a partir de características físicas, visando à obtenção de mudas mais homogêneas.

Assim como ocorreu para o cultivar Bourbon, a análise comparativa das imagens radiográficas das sementes do cultivar Catucaí 20/15 e o desempenho das plântulas evidenciou relação entre falhas na emergência de plântulas e a ocorrência sementes malformadas, sementes com tecidos deteriorados e sementes com injúrias provocadas pela broca-do-café. O lote 7, que apresentou a menor porcentagem de sementes intactas (Tabela 1), foi o que apresentou o menor percentual de emergência de plântulas (Figura 6). Relações semelhantes também ocorreram para as avaliações de altura de plântula, diâmetro do caule e massa seca da parte aérea das plântulas (Figura 7).

A análise da relação entre a ocorrência alterações na morfologia interna com a emergência de plântulas, para cada semente, evidenciou que a totalidade das sementes malformadas não germinou, sementes com tecidos deteriorados quase sempre não germinaram e, em alguns casos, sementes com injúrias provocadas pela broca-do-café originaram plântulas normais (Figura 8).

De forma similar ao que foi observado para o cultivar Bourbon, algumas sementes intactas do cultivar Catucaí 20/15 não germinaram e o número de sementes com esse comportamento variou entre lotes; no lote 7, por exemplo, este comportamento foi mais evidente com ausência de germinação em 48% das sementes intactas, ao passo que, para o lote 12, essa relação foi de 23% (Figura 8).

Observa-se na Tabela 1 que os lotes 8 a 12 apresentaram percentuais similares de sementes intactas, ou seja, de 91 a 94%. Entretanto, a proporção de sementes intactas que originaram plântulas normais foi variável entre esses lotes, conforme pode ser observado na Figura 8. Esses resultados comprovam a afirmação de Burg et al. (1994) sobre a análise radiográfica e sua propriedade em avaliar, exclusivamente, atributos físicos de sementes.

Figura 8. Diagrama representativo da relação entre semente intacta (I), semente malformada (M), semente com tecidos deteriorados (D) e semente com injúrias provocadas pela broca-do-café (B) identificadas pela análise radiográfica e relação com a formação de plântula normal (verde) ou semente não germinada (vermelho), em seis lotes de sementes do cultivar Catucaí 20/15.

Exemplos de sementes com tecidos deteriorados e com injúrias provocadas pela broca-do-café que originaram plântulas normais no teste de emergência de plântulas estão apresentados na Figura 9. Conforme discutido anteriormente, a principal vantagem da análise radiográfica consiste na possibilidade de submeter à

semente avaliada a testes fisiológicos, pois se trata de um procedimento não destrutivo. Entretanto, dois fatores são fundamentais para a interpretação correta das imagens e o estabelecimento adequado da relação entre a ocorrência de injúrias internas com o desempenho germinativo: o primeiro consiste no conhecimento do princípio do teste de raios X e, o segundo, no conhecimento da morfologia interna da semente que está sendo analisada.

Figura 9. Imagens radiográficas de sementes de café do cultivar Catucaí 10/15 apresentando tecidos deteriorados (a) e injúrias provocadas pela broca-do-café (b) que originaram plântula normal (c) no teste de emergência de plântulas. As barras correspondem a 1cm.

Nesta pesquisa, a formação de plântulas normais a partir de sementes com ocorrência tecidos deteriorados e com injúrias provocadas pela broca-do-café pode ser atribuída diretamente à localização dessas injúrias. Analisando as imagens radiográficas das sementes da Figura 9 é possível constatar que as injúrias ocorreram no endosperma das sementes e em posição oposta à região do eixo embrionário (seta na Figura 9a e círculo na Figura 9b). Portanto, o fator determinante para constatar efeitos negativos na germinação é verificar se a injúria está ocorrendo ou não em uma região vital da semente, como o eixo embrionário. Resultados obtidos por Pinto et al. (2007), verificaram que os danos por umidade classificados como não severos na região do eixo e cotilédones, pouco interferiram na germinação das sementes de soja. Na mesma linha, dados reportados por Forti et al. (2008) em sementes de feijão, indicaram que a maioria das sementes sem

danos mecânicos e sem danos por percevejos originaram plântulas normais; entanto, esses mesmos autores observaram que danos mecânicos catalogados como severos no eixo embrionário e nos cotilédones apresentaram relação estreita com a geração de plântulas anormais. Constatações similares foram reportadas por Melo (2010) em sementes de feijão-caupi, relacionadas com danos ocasionados por caruncho.

Como foi tratado anteriormente, e segundo vários autores, a qualidade da semente depende da interação com os fatores do ambiente em que são produzidas, além das condições de pós-colheita a que são submetidas. Assim, referente aos danos por deterioração, o sistema de beneficiamento da semente é um aspecto que deve ser considerado na avaliação do potencial fisiológico de sementes de café, já que sementes que são submetidas a beneficiamento mecânico são mais suscetíveis à deterioração, que podem afetar não só a germinação, mas também a qualidade das plântulas que possam ser geradas a partir delas (GIOMO et al., 2008).

Em pesquisa conduzida por Marchi (2010) foram detectados danos ocasionados por deterioração de tecidos em sementes de amendoim por meio de imagens radiográficas, onde foi possível identificar manchas escuras na imagem das sementes, provavelmente ocasionadas por fungos. Estas quando ocorridas em algumas regiões dos cotilédones afetaram a germinação, sendo que geraram frequentemente plântulas anormais, porém, quando a presença de tecidos deteriorados nos cotilédones foi severa resultaram em sementes mortas. Por sua parte Pinto et al. (2009), utilizando o teste de raios X, identificaram danos nas estruturas internas em sementes de pinhão manso, relacionando a ocorrência destes danos com o potencial fisiológico, onde encontraram elevada relação entre sementes com danos considerados severos e as porcentagens de plântulas anormais e de sementes mortas.

Há de se considerar, portanto, a eficiência da análise radiográfica na identificação de sementes malformadas, com tecidos deteriorados e atacadas pela broca-do-café, para ambos os cultivares. Apesar das variações quanto à ocorrência dessas injúrias entre os cultivares (possivelmente devido a diferenças nas condições ambientais e de manejo), a análise radiográfica possibilitou identificar com precisão a localização de cada tipo de injúria, o que permitiu estabelecer associação com a emergência das plântulas

4.2. Comparação da análise computadorizada de imagens de plântulas com testes convencionalmente utilizados para determinação do vigor das sementes

Cultivar Bourbon

A análise estatística dos dados obtidos revelou diferenças no potencial fisiológico entre os lotes de sementes do cultivar Bourbon, nas duas épocas de avaliação. Na primeira época, as sementes apresentaram grau de umidade de 32,7 a 40,7% e, na segunda época, houve redução para todos os lotes, porém em intensidades variáveis. As sementes do lote 6, por exemplo, apresentaram diminuição de 23 pontos percentuais no grau de umidade e, as do lote 4, de apenas 6,7 pontos percentuais (Tabela 2).

Embora a uniformização do teor de água das sementes seja considerada importante para a obtenção de resultados consistentes nas avaliações do potencial fisiológico (MARCOS FILHO et al., 1987), não foram identificadas alterações no comportamento das sementes mesmo apresentando amplas variações no grau de umidade entre as épocas de avaliação.

Com relação à germinação, os lotes 1, 4 e 6 apresentaram as maiores porcentagens, diferindo estatisticamente em relação aos lotes 3 e 5 que apresentaram os mais baixos percentuais, na primeira época de avaliação (Tabela 2). Na determinação do grau de umidade de sementes de café e sua influência sobre o potencial fisiológico, resultados similares foram obtidos por Araujo et al. (2008) onde sementes com umidade inicial entre 31,5 a 48,5%, apresentaram germinação de até 94%.

Os resultados obtidos na segunda época de avaliação também evidenciaram os lotes 1, 4 e 6 como os de melhor desempenho e diferindo estatisticamente em relação ao lote 5 (Tabela 2). Esses resultados confirmam que as variações observadas no grau de umidade não afetaram o desempenho das sementes, pois não houve alteração na classificação dos lotes de mais alto e de mais baixo vigor, dentro de cada época de avaliação.

Tabela 2. Valores médios do grau de umidade inicial (GU), porcentagem de germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), envelhecimento acelerado (EA), grau de umidade após o envelhecimento acelerado (GU EA), condutividade elétrica (CE) e velocidade de emissão da raiz primária (VERP) de seis lotes de sementes de café do cultivar Bourbon, em duas épocas de avaliação.

Lote	GU	G	PCG	EA	GU EA	CE	VERP
	(%)					($\mu\text{s.cm.g}^{-1}$)	(índice)
Primeira época							
1	32,7	91 ab*	46 ab	80 a	40,8	8,90 a	-
2	36,4	85 bc	42 abc	85 a	39,9	9,15 ab	-
3	36,4	82 c	37 bc	80 a	40,5	8,47 a	-
4	40,7	93 a	37 bc	91 a	44,9	7,91 a	-
5	35,9	71 c	32 c	58 b	41,3	14,67 c	-
6	37,2	95 a	51 a	84 a	40,1	11,48 b	-
CV (%)	-	4,04	10,48	6,45	-	10,34	-
Segunda época							
1	19,9	91 a	45 a	89 a	42,0	8,83 a	1,01 a
2	18,5	84 ab	38 ab	84 ab	40,8	8,66 a	0,97 ab
3	23,1	81 ab	35 ab	81 ab	40,8	9,15 a	0,84 c
4	34	91 a	45 a	91 a	44,1	8,12 a	1,02 a
5	15,3	72 b	22 b	68 b	40,4	12 b	0,63 d
6	14,3	88 a	40 a	86 a	39,3	8,53 a	0,87 bc
CV (%)	-	7,02	18,79	8,85	-	8,73	5,97

* Médias seguidas de mesma letra em cada coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados semelhantes aos da primeira época foram observados na segunda época de avaliação, sendo o lote 5 classificado como o de pior desempenho em relação aos lotes 1, 4 e 6 na primeira contagem de germinação e envelhecimento acelerado, e em relação ao demais lotes na avaliação de condutividade elétrica.

As sementes submetidas ao envelhecimento acelerado apresentaram aumento no grau de umidade em relação ao início do teste (Tabela 2), sendo que, no final do teste não ocorreram variações amplas entre os lotes (máximo de 5 pontos percentuais), nas duas épocas de avaliação. Essa uniformização do grau de

umidade das sementes é um indicador importante da uniformidade das condições do teste para assegurar confiabilidade dos resultados (MARCOS FILHO, 1999).

Com relação ao vigor das sementes avaliado pelo teste de condutividade elétrica, a identificação do lote 5 como o de mais baixo vigor em concordância com os resultados da primeira contagem de germinação e envelhecimento acelerado, corroboram o desempenho inferior deste lote nas duas épocas.

Embora no cultivar Bourbon os dados de condutividade elétrica tenham sido coerentes com os outros testes de potencial fisiológico, sua utilização em sementes de café tem apresentado resultados divergentes entre diferentes autores (MALTA et al., 2005; COSTA e CARVALHO, 2006; HILST et al., 2012). Costa e Carvalho (2006), por exemplo, encontraram alta variabilidade nos resultados, principalmente na alta taxa de sementes mortas. Estas, apesar de mortas, apresentaram condutividade elétrica muito baixa no teste individual. Resultados de condutividade elétrica variáveis entre os métodos (individual ou em massa) obedecem a que em muitos casos sementes fisicamente intactas que exibem valores de condutividade elétrica baixo podem estar fisiologicamente afetadas. Segundo Mantovaneli (2001), quando a deterioração dos tecidos da semente é vista externamente, significa que o processo já está num estado avançado.

Por outro lado, segundo Costa e Carvalho (2006), sementes que apresentaram alta condutividade no teste de condutividade de massa, originaram alta porcentagem de plântulas normais. Estes resultados discrepantes entre os autores podem ser atribuídos a danos em sementes individuais, que não são perceptíveis fisicamente, mas que afetaram a lixiviação de eletrólitos na amostra. Ainda, pela ocorrência de danos na semente que não atingem as regiões vitais e originam plântulas normais.

O índice de velocidade de emissão da raiz primária, determinado na segunda época de avaliação, também identificou o lote 5 como o de pior desempenho, diferindo estatisticamente em relação aos demais lotes. O índice de velocidade de emissão de raiz primária foi considerado um procedimento interessante para avaliação do vigor de sementes, pois associa a quantidade de sementes que emitem a raiz primária com a velocidade do processo de germinação (TOLEDO et al., 1999). A consistência das informações em comparação com os resultados de primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica, evidenciam este teste como promissor para avaliação do

vigor de sementes de café. Para outras espécies como o milho (TOLEDO et al., 1999; MATTHEWS e KHAJEH-HOSSEINI, 2006), o milheto (MACHADO et al., 2012) e a moringa (ROCHA et al., 2016) o teste de emissão da raiz primária também proporcionou resultados consistentes para avaliação do vigor de sementes. O teste de velocidade de emissão de raiz primária permitiu obter dados do desempenho fisiológico de sementes de café do cultivar Bourbon a partir do décimo dia, ou seja, em menor tempo quando comparado a outros testes de vigor, como a primeira contagem de germinação e envelhecimento acelerado. Sendo esta redução no período de avaliação um aspecto favorável na análise do potencial fisiológico de sementes dessa espécie.

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados dos índices de vigor e de uniformidade e do comprimento de plântulas obtidos pelo software SVIS® para os seis lotes de sementes do cultivar Bourbon, nas duas épocas de avaliação.

Tabela 3. Valores médios do índice de vigor (Vigor), do índice de uniformidade (Unif.) e do comprimento de plântulas (CP) determinados pela análise computadorizada de imagens de plântulas – SVIS® de seis lotes de sementes de café do cultivar Bourbon, em duas épocas.

Lote	Vigor	Unif.	CP
	(índice)		(cm)
Primeira época			
1	752 a*	778 a	3,14 a
2	697 a	801 a	2,72 a
3	633 a	756 ab	2,5 a
4	740 a	825 a	2,75 a
5	317 b	669 b	1,14 b
6	696 a	792 a	2,76 a
CV (%)	12,77	6,44	17,26
Segunda época			
1	629 a	826 a	2,11 bcd
2	599 a	825 a	1,99 cd
3	649 a	803 a	2,35 abc
4	686 a	788 a	2,68 ab
5	382 b	676 b	1,46 d
6	691 a	754 ab	2,88 a
CV (%)	11,2	6,14	15,14

*Medias seguidas de mesma letra em cada coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Diferenças estatísticas foram identificadas entre os lotes de sementes para todos os parâmetros SVIS®, nas duas épocas avaliadas. Na primeira época, pelo índice de vigor e comprimento de plântulas foram identificadas diferenças entre o lote 5, com o pior desempenho, e os demais lotes que apresentaram mesmo desempenho. O índice de uniformidade de desenvolvimento das plântulas também classificou o lote 5 como o de mais baixo vigor, porém sem diferir ao lote 3 (Tabela 3).

Os resultados da análise SVIS® obtidos na segunda época de avaliação foram semelhantes aos da primeira época, sendo o lote 5 classificado como o de pior desempenho em relação aos demais lotes pelo índice de vigor e, em relação aos lotes 1, 2, 3 e 4, pelo índice de uniformidade. Lotes de sementes com baixa uniformidade de desenvolvimento das plântulas resultaram em menor índice de vigor

pelo SVIS®, em todos os casos. O índice de uniformidade é um importante indicador do vigor de sementes, pois avalia a capacidade das plântulas de se desenvolverem de maneira homogênea (MARCOS FILHO et al., 2009), sendo, portanto, um dos principais aspectos para a padronização na produção de mudas de café.

Para o comprimento de plântulas também foi observada eficiência na classificação do vigor dos lotes de sementes, sendo o lote 5 com o pior desempenho nesta época, deferindo dos lotes 3, 4 e 6. O maior comprimento de plântulas foi observado para o lote 6 com valores 2,88 cm. Conforme Guedes et al. (2009), o comprimento de plântulas é mais sensível na classificação de lotes com estreitas diferenças de vigor, em comparação com a forma tradicional de expressar pelo número de plântulas normais na primeira contagem do teste de germinação. Portanto, essa observação foi confirmada na análise automatizada com SVIS®, pois o comprimento de plântulas, principalmente na segunda época de avaliação, foi um parâmetro sensível na constatação das diferenças do vigor entre os lotes.

Analisando-se comparativamente os resultados das avaliações de primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado, condutividade elétrica e índice de velocidade de emissão da raiz primária (Tabela 2) com os obtidos na análise de imagens de plântulas (Tabela 3), pode-se constatar equivalência quanto à classificação de lotes de sementes em diferentes níveis de potencial fisiológico, nas duas épocas de avaliação.

Um dos aspectos importantes na utilização de técnicas de análise de imagens em plântulas de café é a redução no tempo da execução do teste e a diminuição da subjetividade na análise e interpretação dos dados; essas vantagens foram comprovadas nesta pesquisa quando comparadas com métodos de análise convencionais para avaliação do vigor. Consequentemente, a automatização da determinação do vigor, via recursos computacionais, pode contribuir significativamente para aprimorar a precisão de resultados, além da obtenção mais rápida da informação (MARCOS FILHO et al., 2009).

O SVIS® fornece informações concretas como o índice de vigor e de uniformidade e comprimento de plântulas, sendo que estes últimos são parâmetros importantes na determinação do vigor de sementes (MARCOS FILHO et al., 2009), o que permite ter uma maior aproximação sobre o verdadeiro estado fisiológico dos lotes em estudo, parâmetros que são de grande variação em espécies como o café.

A sensibilidade na diferenciação do potencial fisiológico mediante o SVIS® também tem sido constatada por outros pesquisadores e em diversas espécies. Alvarenga et al. (2012), por exemplo, conseguiram identificar diferenças do vigor entre lotes de sementes de milho doce analisando plântulas com três dias de idade, assim como Silva et al. (2012) em sementes de trigo. Analisando plântulas de milho com dois dias idade, Mondo et al. (2011) observaram que a análise SVIS® proporcionou resultados similares aos dos testes de frio e de envelhecimento acelerado na classificação do vigor dos lotes de sementes. Resultados semelhantes também foram obtidos com plântulas de soja (MARCOS FILHO et al., 2009), feijão (GOMES JUNIOR et al., 2014), mamona (KOBORI et al., 2010), amendoim (MARCHI et al., 2011), milho doce (GOMES JUNIOR et al., 2009), *Crotalaria juncea* L. (SILVA et al., 2012), trigo (SILVA et al., 2012b), quiabo (KIKUTI e MARCOS FILHO, 2013), berinjela (SILVA e CICERO, 2014a), tomate (SILVA e CICERO 2014b), pimentão (DIAS et al., 2014), girassol (ROCHA et al., 2015) e algodão (ALVARENGA e MARCOS FILHO, 2014; DUARTE, 2017).

Embora tenha sido constatada sensibilidade do SVIS® na diferenciação do potencial fisiológico de sementes de café, é importante estabelecer uma escala de categorização, conforme os valores dos índices gerados pelo sistema. Em soja, por exemplo, utilizando plântulas com três dias de idade, a *Ohio Seed Improvement Association* (entidade certificadora de sementes do Estado de Ohio/EUA) utiliza uma escala em que sementes de alto vigor correspondem aos índices de 800 a 1000 e, as de baixo vigor, com índices inferiores a 300 (MARCOS FILHO et al., 2009). Este tipo de padrões representaria grande utilidade na inclusão da análise de imagens digitalizadas de plântulas em programas de controle de qualidade em sementes de café.

Cultivar Catucaí 20/15

A análise estatística dos dados obtidos revelou diferenças significativas de potencial fisiológico entre os lotes de sementes do cultivar Catucaí 20/15 para a maioria dos parâmetros avaliados, nas duas épocas de avaliação (Tabela 4). Na primeira época, as sementes apresentaram grau de umidade entre 29,8 a 33,4%. Na segunda época houve redução do grau de umidade para todos os lotes, com variações mais ou menos acentuadas dependendo do lote. Para os lotes 10 e 11 a

redução foi de 4,1 pontos percentuais e a maior variação ocorreu no lote 7, com 8,9 pontos percentuais.

A influência do grau de umidade sobre a germinação de sementes de café é um fator frequentemente pesquisado. Entretanto, as informações da literatura têm sido contraditórias. Silva e Dias (1985) observaram que sementes com grau de umidade entre 36 e 40% manifestaram melhor germinação. Resultados semelhantes foram obtidos por Vossen (1979), Barboza e Herrera (1990), Vasconcelos et al. (1992) e Araujo et al. (2008), os quais observaram que as sementes de café germinaram melhor com graus de umidade de 41, 40, 35 e 30%, respectivamente. Por outro lado, Miglioranza (1982), observou melhor germinação de sementes de café com grau de umidade entre 8 e 10%. Portanto, as variações no grau de umidade das sementes observadas na presente pesquisa não poderia ser a causa das diferenças no potencial fisiológico.

Com relação à germinação na primeira época de avaliação, os lotes 9, 10, 11 e 12 apresentaram as maiores porcentagens, diferindo estatisticamente dos lotes 7 e 8 que apresentaram percentuais de 58 e 54%, respectivamente. Na segunda época ocorreu diminuição acentuada na germinação em todos os lotes de sementes. A máxima porcentagem de germinação foi de 51% no lote 12 que diferiu estatisticamente em relação aos demais lotes (Tabela 4). A explicação para a redução expressiva da germinação na segunda época pode ser atribuída à ocorrência de patógenos nas sementes. Durante as avaliações do teste de germinação foi constatada alta incidência de fungos dos gêneros *Penicilium* ssp, *Fusarium* ssp, *Aspergillus* ssp, *Cladosporium* ssp e *Alternaria* ssp em sementes não germinadas e em plântulas anormais.

Tabela 4. Valores médios do grau de umidade inicial (GU), porcentagem de germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), envelhecimento acelerado (EA), grau de umidade após o envelhecimento acelerado (GU EA), condutividade elétrica (CE) e velocidade de emissão da raiz primária (VERP) de seis lotes de sementes de café do cultivar Catucaí 20/15, em duas épocas de avaliação.

Lote	GU	G	PCG	EA	GU EA	CE	VERP
	(%)					($\mu\text{s.cm.g}^{-1}$)	(índice)
Primeira época							
7	30,7	58 b	14 b	35 b	48,9	15,21 a	-
8	29,8	54 b	8 b	39 ab	50,2	16,65 a	-
9	31,8	89 a	66 a	40 ab	49,3	14,08 a	-
10	30,8	84 a	64 a	52 a	51,4	12,81 a	-
11	33,4	80 a	60 a	29 b	48,9	15,73 a	-
12	30,2	81 a	59 a	36 ab	48,9	16,15 a	-
CV (%)	-	7,29	13,9	18,04	-	21,92	-
Segunda época							
7	21,8	37 b	8 b	23 b	38,7	23,34 b	0,45 b
8	22,7	34 b	8 b	25 b	39,3	17,34 a	0,56 ab
9	23,1	32 b	4 b	24 b	40,8	15,55 a	0,66 a
10	26,7	37 b	16 a	31 b	34,3	29,32 cd	0,57 ab
11	26,7	32 b	18 a	26 b	41,8	25,56 bc	0,63 ab
12	21,9	51 a	18 a	58 a	38,0	33,49 d	0,53 ab
CV (%)	-	9,59	25,74	21,11	-	8,01	16,13

*Medias seguidas de mesma letra em cada coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Com relação às avaliações da primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica foram identificadas diferenças entre os lotes de sementes, nas duas épocas de avaliação, com exceção do teste de condutividade elétrica na primeira época (Tabela 4). Na primeira época, a análise estatística dos dados da primeira contagem de germinação classificou os lotes como no teste de germinação. Os lotes 9, 10, 11 e 12 não apresentaram diferenças entre si, sendo mais vigorosos em comparação aos lotes 7 e 8. Na segunda época, os lotes 7, 8 e 9 apresentaram vigor mais baixo em relação aos lotes 10, 11 e 12. Segundo Willyder (2010), o teste da primeira contagem de germinação é um teste

rápido e prático onde são consideradas a velocidade e uniformidade de emergência, componentes mais importantes do conceito atual do vigor de sementes.

Para o teste de envelhecimento acelerado, na primeira época de avaliação, os lotes 7 e 11 foram classificados como os de mais baixo vigor em relação ao lote 10, porém sem apresentar diferenças estatísticas em relação aos lotes 8, 9 e 12. Na segunda época, o lote 12 foi classificado como o mais vigoroso; a redução de vigor pelo teste de envelhecimento acelerado foi menos acentuada quando comparada com a redução entre épocas observada na primeira contagem de germinação, ocorrendo, inclusive, aumento da porcentagem de plântulas normais na segunda época após o envelhecimento das sementes do lote 12.

Por outro lado, na segunda época de avaliação, o teste de condutividade elétrica classificou o lote 12 como o menos vigoroso em relação aos lotes 7, 8, 9 e 11, diferenças estas que não foram constatadas na primeira época. Nas recomendações para a execução do teste de condutividade elétrica estão incluídos, dentre outros fatores, a remoção de sementes com injúrias mecânicas no tegumento ou injuriadas por insetos e, ou patógenos (VIEIRA e KRZYZANOWSKI, 1999). Assim, possivelmente, os resultados contraditórios obtidos na segunda época para o lote 12 podem ser atribuídos à presença de semente (s) com danos físicos não perceptíveis na massa de sementes, aumentando consideravelmente a concentração de íons lixiviados na solução.

O índice de velocidade de emissão da raiz primária, determinado na segunda época de avaliação, identificou o lote 9 como o de melhor desempenho, diferindo estatisticamente em relação ao lote 7. Esse teste, assim como foi constatado para o cultivar Bourbon, apresentou resultados coerentes com os demais testes de vigor utilizados. Trata-se, portanto, de um método promissor para ser utilizado em programas de controle de qualidade de sementes de café, gerando resultados em curto espaço de tempo.

Os resultados dos índices de vigor e de uniformidade e do comprimento de plântulas obtidos pelo software SVIS® para os seis lotes de sementes do cultivar Catucaí 20/15, nas duas épocas de avaliação, estão apresentados na Tabela 5. Diferenças estatísticas foram identificadas entre os lotes para todos os parâmetros SVIS®, nas duas épocas de avaliação, com exceção do índice de uniformidade das plântulas da primeira época. Na primeira época, o máximo valor do índice de vigor (772) foi observado para o lote 10, que diferiu significativamente em relação aos

lotes 8, 11 e 12. Resultados semelhantes foram observados para o comprimento de plântulas, com os maiores valores para as plântulas dos lotes 7 e 10 e, os menores, para as plântulas dos lotes 11 e 12 (Tabela 5).

Na segunda época de avaliação houve divergência dos resultados da análise de imagens digitalizadas de plântulas em relação à primeira época quanto à classificação dos lotes. O lote 12, que na primeira época havia sido classificado como um dos menos vigorosos pelo índice de vigor e comprimento de plântulas, foi o de mais alto vigor pelo índice de vigor e de uniformidade e um dos mais vigorosos pela análise do comprimento de plântulas, na segunda época de avaliação.

Tabela 5. Valores médios do índice de vigor (Vigor), do índice de uniformidade (Unif.) e do comprimento de plântulas (CP) determinados pela análise computadorizada de imagens de plântulas – SVIS® de seis lotes de sementes de café do cultivar Catucaí 20/15, em duas épocas.

Lote	Vigor (índice)	Unif.	CP (cm)
Primeira época			
7	703 ab	718 a	3,32 a
8	468 d	604 b	2,74 abc
9	670 abc	719 a	3,09 ab
10	772 a	742 a	3,48 a
11	557 bcd	712 a	2,37 bc
12	527 cd	717 a	2,18 c
CV (%)	13,94	6,93	13,66
Segunda época			
7	214 c	504 b	1,64 b
8	230 bc	524 b	2,07 ab
9	258 bc	524 b	2,45 ab
10	334 b	536 b	1,89 b
11	181 c	492 b	1,48 b
12	576 a	644 a	3,2 a
CV (%)	19,17	5,86	26,9

*Medias seguidas de mesma letra em cada coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Analisando os resultados observados nas duas épocas de avaliação, pôde-se constatar coerência entre os resultados da análise de imagens de plântulas com os resultados dos outros testes convencionalmente utilizados para determinação do vigor de sementes de café. Na primeira época, o lote 10 que foi classificado dentre os lotes mais vigorosos pela primeira contagem de germinação, também foi o mais vigoroso pelo teste de envelhecimento acelerado e pelo índice de vigor e comprimento de plântulas da análise SVIS®.

Embora o potencial fisiológico das sementes tenha sido reduzido drasticamente na segunda época de avaliação, os resultados da análise de imagens digitalizadas de plântulas foram consistentes. A análise SVIS® identificou o lote 12 como o mais vigoroso em relação aos demais lotes, sendo essa classificação semelhante à das avaliações de primeira contagem de germinação e envelhecimento acelerado. De maneira similar, os lotes 7, 8 e 9 foram classificados dentre os menos vigorosos tanto na avaliação computadorizada quando na análise convencional de primeira contagem de germinação e envelhecimento acelerado. Silva e Cicero (2014), utilizando a análise computadorizada de imagens na avaliação do potencial fisiológico de sementes de berinjela, verificaram que a classificação dos lotes em níveis de vigor pelos índices do SVIS® foi semelhante à obtida nas avaliações com os testes comumente utilizados para determinação do vigor (primeira contagem de germinação, envelhecimento acelerado e condutividade elétrica).

Outras pesquisas mostrando a eficiência da análise de imagens digitalizadas de plântulas com SVIS® quando comparada com os métodos tradicionais para determinação do vigor foram constatadas em melão (MARCOS FILHO et al., 2006), soja (MARCOS FILHO et al., 2009), milho doce (ALVARENGA et al., 2012), Crotalária (SILVA et al., 2012), trigo (SILVA et al., 2012), pepino (CHIQUITO et al., 2012), pimentão (DIAS et al., 2014) e tomate (SILVA e CICERO, 2014).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise radiográfica tem sido eficiente na constatação das principais alterações na morfologia interna de sementes, causadas por diversos fatores em várias espécies. Esta técnica tem sido destacada como alternativa na seleção de sementes, visando reduzir ao máximo a ocorrência das anomalias e seus possíveis efeitos sobre a germinação e desempenho de plântulas.

A utilização de imagens radiográficas proporcionou avaliação eficiente da morfologia interna de sementes de café. Para os dois cultivares avaliados nesta pesquisa, a análise radiográfica permitiu identificar, com rapidez e precisão, sementes malformadas, com alterações associadas à deterioração de tecidos e com injúrias provocadas pela broca-do-café, tendo sido observada associação entre a ocorrência dessas alterações e a emergência de plântulas. Entretanto, é importante considerar que o conhecimento do princípio do teste de raios X é essencial para a interpretação correta das imagens, assim como o conhecimento da morfologia interna das sementes.

Nesta pesquisa também foi constatado que sementes fisicamente íntegras pela análise radiográfica não germinaram, e isto foi variável entre cultivares e entre lotes de um mesmo cultivar. Esses resultados são perfeitamente aceitáveis, pois a análise radiográfica não avalia o estado fisiológico de sementes, o que não invalida seu grande potencial para inspeção da qualidade física de sementes de café em substituição ao que vem sendo realizado atualmente por meio de análise visual de sementes individuais. Assim, a análise do potencial fisiológico de sementes seria baseada em amostras fisicamente íntegras, após a separação das sementes injuriadas identificadas pela análise radiográfica.

Quanto à avaliação do potencial fisiológico das sementes, os resultados obtidos para os dois cultivares foram coerentes nas duas épocas de avaliação, ou seja, a maioria dos testes convencionalmente utilizados para avaliação do vigor identificaram os mesmos lotes como o de mais alto e mais baixo vigor. Ressalta-se, entretanto, a importância da utilização de mais de um teste de vigor para auxiliar na identificação precisa de lotes com diferenças no desempenho. Ainda, a utilização de procedimentos que avaliam o vigor de lotes de sementes em pouco tempo são altamente desejáveis e os resultados obtidos pelo índice de emissão da raiz primária foram promissores para ambos os cultivares.

A análise de imagens digitalizadas de plântulas com 20 dias de idade pelo SVIS® proporcionou resultados consistentes referentes à determinação do potencial fisiológico de sementes de café. Para ambos os cultivares, nas duas épocas de avaliação, o sistema SVIS® permitiu identificar diferenças de vigor entre lotes de maneira semelhante aos resultados obtidos nos testes convencionalmente utilizados para este fim. Portanto, este é um procedimento promissor para auxiliar nos programas de controle de qualidade de sementes e de produção de mudas de café.

6. CONCLUSÕES

A análise radiográfica é eficiente na avaliação da morfologia interna de sementes de café, com identificação de sementes malformadas, com danos por deterioração de tecidos e danos ocasionados pela broca-do-café, possibilitando estabelecer relação entre a ocorrência e localização no interior da semente e os efeitos sobre o desempenho germinativo.

A análise de imagens digitalizadas de plântulas aos 20 dias de idade pelo SVIS® é eficiente na avaliação do vigor de lotes de sementes de café.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, K.S.; GUIMARÃES, R.M. Avaliação da qualidade de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.) pelo teste de raios X. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 6, p. 1713-1718, 2008.
- ALMEIDA, F.A.C.; ALVES, N.M.C.; GOMES, J.P.; SILVA, D.R.S. Determinação do teor de umidade limite de semente de endro (*Anethum graveolens*) para crioconservação. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 07, n. 2, p. 153-159, 2007.
- 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.
- ALVARENGA, R.O.; MARCOS-FILHO, J. Vigor evaluation of stored cotton seeds, including the Seed Vigor Imaging System (SVIS®). **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 36, n. 2, p. 222-230, 2014.
- AMARAL, J.B.; MARTINS, L.; FORTI, V.A.; CÍCERO, S.M.; MARCOS FILHO, J. Teste de raios X para avaliação do potencial fisiológico de sementes de ipê-roxo. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 601-607, 2011.
- ARAUJO, R.F.; ARAUJO, F.E.; CECON, P.R.; VALDINEI, S. Conservação de sementes de café (*Coffea arabica* L.) despulpado e não despulpado. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 071-078, 2008.
- ARCILA P., J. **Sistemas de producción de café en Colombia**. Chinchiná, Cenicafé, 2007. p. 309.
- ARRUDA, N.; CÍCERO, S.M.; GOMES-JUNIOR, F.G. Radiographic analysis to assess the seed structure of *Crotalaria juncea* L. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 38, n. 2, p. 161-168, 2016.

ASCANIO, E.C.E. **Biologia del café**. Caracas: Universidad Central de Venezuela, 1994. 308p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS. (AOSA) Seed vigor teste committee. *Seed vigor testing handbook*. Lincoln, Contribution, 32. 1983. 88p.

BAALBAKI, R.Z.; ELIAS, S.; MARCOS FILHO, J.; McDONALD, M.B. **Seed vigor testing handbook**. Ithaca: AOSA, 2009.

BARBOZA, R.; HERRERA, J. El vigor em la semilla de cafe y su relacion com la temperatura de secado, el contenido de humedad y las condiciones de almacenamiento. ***Agronomia Costarricense***, San José, v. 14, n. 1, p.1-8, 1990.

BINO, R.J.; AARTSE, J.W.; van der BURG, W.J. Non-destructive X-ray analysis of Arabidopsis embryo mutants. ***Seed Science Research***, v. 3, n. 3, p. 167-170, 1993.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análises de Sementes. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de defesa agropecuária. Brasília, DF: Mapa-ACS, 2009. 190p.

BURG, W.J.V.D.; AARTSE, J.W.; van ZWOL, R.A.; JALINK, H.; BINO, R.J. Predicting tomato seedling morphology by X-ray analysis of seeds. ***Journal of the American Society of Horticultural Sciences***, v. 119, p. 258–263, 1994.

CAIXETA, I.F. **Produção e qualidade de sementes do cafeeiro quanto a localização dos frutos na planta**. 2013. 71p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, 2013.

CARVALHO, C.A.M.; GUIMARÃES, R.M.; SILVA, T.T.A. Condicionamento fisiológico em matriz sólida de sementes de café (*Coffea arabica* L.) com e sem pergaminho. ***Revista Brasileira de Sementes***, Londrina, v. 34, n. 1, p. 94-98, 2012.

CARVALHO, L.R.; CARVALHO, M.L.M.; DAVIDE, A.C. Utilização do teste de raios X na avaliação da qualidade de sementes de espécies florestais de Lauraceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 57-66, 2009.

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

CASTAN, D.O.C.; GOMES JUNIOR, F.G; MARCOS FILHO, J. Vigor-S, a new system for evaluating the physiological potential of maize seeds. **scientia agricola**, v. 75, p. 167-172, 2018.

CHIQUITO, A.A.; GOMES JUNIOR, F.G.; MARCOS FILHO, J. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de pepino utilizando sistema computadorizado de análise de imagens de plântulas (SVIS®). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 34, n. 2, p. 255-263, 2012.

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

CICERO, S.M.; HEIJDEN, G.W.A.M.V.D.; BURG, W.J.V.D.; BINO, R.J. Evaluation Of Mechanical Damage In Seeds Of Maize (*Zea Mays* L.) By X-Ray And Digital Imaging. **Seed Science and Technology**, Wageningen, v. 26, n. 3, p. 603-612, 1998.

CLAY, J. **Coffee**. In World Agriculture and the Environment. Washington, DC: Island Press. p. 69-91, 2004.

CONSÓRCIO PESQUISA CAFÉ. Cultivares de café. Brasil, 2011. Disponível em: <http://www.consorciopesquisacafe.com.br/index.php/tecnologias/cultivares>. Acesso em: 29 mar. 2018.

CORTEZ, J.G. **Efeito de espécies e cultivares e do processamento agrícola e industrial nas características da bebida do café**. 2001. 71p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2001.

COSTA, V.M. **Desenvolvimento de mudas de cafeeiro produzidas em tubetes, sob malhas termo-refletores e malha negra**. 2004. 64p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2004.

COSTA, P.S.C.; CARVALHO, M.L.M. Teste de condutividade elétrica individual na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de café (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 1, p. 92-96, 2006.

DAMON, A.A.A. Review of the biology and control of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Scolytidae). **Bulletin of Entomological Research**, Farnham Royal, v. 90, n. 6, p. 453-465, 2000.

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

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

DELOUCHE, J.C.; POTTS, H.C. Controle de qualidade e avaliação. In: _____. (Eds.). **Programa de sementes: planejamento e implantação**. 2.ed. Brasília: Ministério da Agricultura/ AGIPLAN, 1974. cap. 5, p. 74-83.

DIAS, M.A.N.; MONDO, V.H.V.; CICERO, S.M. Recent approaches for bell pepper seed vigor testing. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 36, n. 4, p. 483-487, 2014.

DI RIENZO J.A., CASANOVES F., BALZARINI M.G., GONZALEZ L., TABLADA M., ROBLEDO C.W. 2008. InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

DUARTE, C.P. **Avaliação da morfologia interna e do vigor de sementes de algodão utilizando técnicas de análise de imagens**. 2017. 27p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade de São Paulo, Escolas Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2017.

EIRA, M.T.S.; SILVA, E.A.A.; DE CASTRO, R.D.; DUSSERT, S.; WALTERS, C.; BEWLEY, J. D.; HILHORST, M.; HENK, W. Coffee seed physiology. ***Brazilian Journal of Plant Physiology***, v. 18, n. 1, p. 149-163, 2006.

FAVARIN, J.L.; COSTA, J.D.; NOVENBRE, A.D.C.; FAZUOLI, L.C.; FAVARIN, M. da G.G.V. Características da semente em relação ao seu potencial fisiológico e a qualidade de mudas de café (*Coffea arabica* L.). ***Revista Brasileira de Sementes***, Brasília, v. 25, n. 2, p. 13-19, 2003.

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

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

FORTI, V.A.; CICERO, S.M.; PINTO, T.L.F. 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***, Londrina, v. 32, n. 3, p. 123-133, 2010.

GIOMO, G.S. **Beneficiamento de sementes de café (*Coffea arabica* L.) e efeitos na qualidade**. 2003. 95p Tese de (Doutorado em Agronomia) – Universidade estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2003.

GIOMO, G.S.; NAKAGAWA, J.E; GALLO, P.B. Beneficiamento de sementes de café e efeitos na qualidade física. **Bragantia**, v. 67, p. 997–1010, 2008.

GIOMO, G.S.; RAZERA, L.F.; GALLO, P.B. Beneficiamento e qualidade de sementes de café arábica. **Bragantia**, Campinas, v. 63, n. 2, p. 291-297, 2004.

GOMES JUNIOR, F.G. Aplicação da análise de imagens para avaliação da morfologia interna de sementes. **Informativo Abrates**, v. 20. p. 33-39, 2010.

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

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

GOMES JUNIOR, F.G.; MONDO, V.H.V.; CICERO, S.M.; McDONALD, M.B.; BENNETT, M.A. Evaluation of priming effects on sweet corn seeds by SVIS. **Seed Technology**, v. 31, n. 1, p. 95-100, 2009.

GOMES JUNIOR, F.G.; van DUIJN, B. Three-dimensional (3-D) X-ray Imaging for Seed Analysis. **Seed Testing International**, v. out 2017, p. 48-52, 2017.

GOULART, P.F.P. Aspectos histoquímicos e morfológicos de grãos de café de diferentes qualidades. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 3, p. 662-666, 2007.

GUEDES, S.R.; ALVES, E.U.; GONÇALVES, E.P.; SANTOS, S.R.N.; LIMA, CR. Testes de vigor na avaliação da qualidade fisiológica de sementes *Erythrina velutina* Willd. (Fabaceae-Papilionoideae). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, p. 1360–1365, 2009.

HILST, P.C.; DIAS, D.C.F.S.; ALVARENGA, E.M.; SOUZA, B.L. Test of exudates color hues for evaluating the physiological potential of coffee (*Coffea arabica* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 2, p. 212-217, 2012.

HOFFMASTER, A.L.; FUJIMURA, K.; MCDONALD, M.B.; BENNETT, M.A. Na automated system for vigor testing three-day old soybean seedlings. **Seed Science and Technology**, v. 31, n. 3, 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**, v. 27, n. 1, p. 7-24, 2005.

ILLY, A.; VIANI, R. 1995. **Espresso Coffee: The Chemistry of Quality**. Academic Press, London, p. 253.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION - ISTA. International rules for testing seed. **Seed Science and Technology**, v. 13, n. 2, p. 300-500, 1995.

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

KEEFE, P.D.; DRAPER, S.R. An automated machine vision system for the morphometry of new cultivars and plant genebank accessions. **Plant Variety and Seeds**, v. 1, p. 1-11, 1988.

KEEFE, P.D. Observations concerning shape variation in wheat grains. **Seed Science and Technology**, v. 18, p. 629-640, 1990.

KIKUTI, A.L.P.; MARCOS-FILHO, J. Análise de imagens de plântulas e testes tradicionais para avaliação do vigor de sementes de quiabo. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 4, p. 443-448, 2013.

KOBORI, N.N.; MASTRANGELO, T.; CICERO, S.M.; CASSIERI, P.; MORAES, M.H.D.; WALDER, J.M.M. Effects of gamma radiation on physiological and phytosanitary qualities of Brazilian Castor Bean seeds, *Ricinus communis* (cv. IAC Guarani). **Research Journal of Seed Science**, v. 3, n. 2, p. 70-81, 2010.

LIMA, W.A.A.; DIAS, D.C.F.S.; CECON, P.R. Hydration control for priming in coffee seeds. **Seed Science and Technology**, v. 31, n. 1, p. 27-31, 2002.

MACEDO, C.M.P.; LOPES, J.C.; AMARAL, J.A.T.; FONSECA, A.F.A. Germinação e Vigor de Sementes de café Submetidas ao estresse com Alumínio. Nota Científica, **Scientia Agraria**, Curitiba, v. 9, n. 2, p. 235-239, 2008.

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

MACHADO, C.G.; MARQUES R.P.; MARTINS, C.C.; CRUZ, S.C. Precocidade na emissão da raiz primária para avaliação do vigor de sementes de milho. **Semina Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 499-506, 2012.

MAESTRI, M.; VIEIRA, C. Nota sobre a redução da porcentagem de germinação de sementes de café por efeito do ácido giberélico. **Revista Ceres** v. 11, p. 247-249, 1961.

MAGUIRRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

MALTA, M.R.; PEREIRA, R.G.F.A.; CHAGAS, S.J.R. Condutividade elétrica e lixiviação de potássio do exsudato de grãos de café: alguns fatores que podem influenciar essas avaliações. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, n. 5, 1015-1020. 2005.

MANTOVANELI, M.C.H. **Interferência de alguns fungos no teste de tetrazólio e de danos mecânicos, tratamento fungicida e do armazenamento na qualidade de sementes de milho (*Zea mays* L.)**. 2001. 173p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, 2001.

MARCHI, J.L.D. **Avaliação da qualidade de sementes de amendoim tratadas com fungicida e inseticida, incluindo a análise de imagens**. 2010. 88p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2010.

MARCHI, J.L.D.; CICERO, S.M.; GOMES JUNIOR, F.G. Utilização da análise computadorizada de plântulas na avaliação do potencial fisiológico de sementes de amendoim tratadas com fungicida e inseticida. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, p. 652-662, 2011.

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

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

MARCOS FILHO, J.; GOMES JUNIOR, F.G.; BENNETT, M.A.; WELLS, A.A.; STIEVE, S. Using Tomato Analyzer software to determine embryo size in X-rayed seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 2, p. 146-153, 2010a.

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

MARCOS FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**, v. 72, p. 363-374, 2015.

MARCOS FILHO, J. Sistema computadorizado de análise de imagens de plântulas SVIS® para avaliação de vigor de sementes. **Informativo Abrates**, v. 2, p. 40-44, 2010b.

MARCOS FILHO, J. Testes de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B. (Eds.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. cap.1, p.1-21.

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

MASETTO, T.E.; DAVIDE, A.C.; SILVA, E.A.A.; FARIA, J.M.R. Avaliação da qualidade de sementes de *Eugenia pleurantha* (Myrtaceae) pelo teste de raios X. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 3, p. 170-174, 2007.

MASETTO, T.E.; FARIA, J.M.R.; QUEIROZ, S.E.E. Avaliação da qualidade de sementes de cedro (*Cedrela fissilis*-Meliaceae) pelo teste de raios X. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, p. 1708-1712, 2008.

MATIELLO, J.B. **Sistema de produção na cafeicultura moderna: Tecnologias de plantio adensado, renque mecanizado, arborização e recuperação de cafezais**. Rio de Janeiro, MAARA/PROCAFÉ, 1995. p. 102.

MATIELLO, J.B.; SANTINATO, R.; GARCIA, A.W.R.; ALMEIDA, S.R.; FERNANDES, D.R. **Cultura de café no Brasil: manual de recomendações**. Rio de Janeiro: MAPA/ PROCAFÉ; Varginha, 2010. p. 546.

MATIELLO, J.B. **Sistema de produção na cafeicultura moderna: Tecnologias de plantio adensado, renque mecanizado, arborização e recuperação de cafezais**. Rio de Janeiro, MAARA/PROCAFÉ, 1995. p. 102.

MATTHEWS, S.; KHAJEH-HOSSEINI, M. Mean germination time indicator of emergence performance in soil of seed lots of maize (*Zea mays* L.). ***Seed Science and Technology***, v. 34, p. 339-347, 2006.

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

McCULLAGH, P. Regression Methods for Ordinal Data. ***Journal of The Royal Statistical Society***, London, v. 42, p. 109-142, 1980.

MELO, R.; FORTI, V.A.; CICERO, S.M.; NOVENBRE, A.D.L.C.; MELO, P.C.T. Utilização de raios X na avaliação de danos causados por caruncho em sementes de feijão-caupi. ***Horticultura Brasileira***, Brasília, v. 28, n. 4, p. 472-476, 2010.

MELO, P.R.B.; OLIVEIRA, J.A.; CARVALHO, M.L.M.; GUIMARÃES, R.M.; CARVALHO, B.O. Aplicação do teste de raios x no estudo da morfologia interna e da qualidade fisiológica de aquênios de arnica (*Lychnophora pinaster* Mart.). ***Revista Brasileira de Sementes***, Londrina, v. 31, n. 2, p. 146-154, 2009.

MENDES, A.J.T.; BACCHI, O. Os grãos mocas de café. ***Revista do Instituto do Café***, v. 27, n. 161, p. 996-99, 1940.

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

MIGLIORANZA, E. **Conservação de sementes de café (*C. arabica*, L. cv. Catuai) com diferentes teores de umidade, armazenadas em ambientes hermeticamente fechados**. 1982. 60p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1982.

MINISTERIO DA AGRICULTURA, PECUARIA E ABASTECIMENTO – MAPA. Café no Brasil. Brasil, 2017. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/cafe/cafeicultura-brasileira>. Acesso em: 29 mar. 2018.

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.

MONDO, V.H.V.; GOMES JUNIOR, F.G.; PUPIM, T.L.; CICERO, S.M. Avaliação de danos mecânicos em sementes de feijão por meio da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Viçosa, v. 31, n. 2, p. 27-35, 2009.

MONDO, V.H.V.; DIAS, M.A.N.; MCDONALD, M.B. Seed Vigor Imaging System for Two-Day-Old Corn Seedling Evaluation. **Seed Technology**, v. 33, p. 191-196, 2011.

PEREIRA, C.E.; VON PINHO, E.V.R.; OLIVEIRA, D.F.; SUZUKI, A.L.P. Determinação de inibidores da germinação no endosperma de sementes de café. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.24, n.1, p.306-311, 2002.

PINTO, T.L.F.; CICERO, S.M.; FORTI, V.A. Avaliação de danos por umidade, em sementes de soja, utilizando a técnica da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29, n. 3, p. 31-38, 2007.

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

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

REIS, L.S.D.; ARAÚJO, E.F.; DIAS, D.C.F.D.S.; SEDIYAMA, C.S.; MEIRELES, R.C. LERCAFÉ: novo teste para estimar o potencial germinativo de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 9-16, 2010.

RENA, A.B.; MAESTRI, M. **Fisiologia do cafeeiro**. Cultura do cafeeiro: fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: POTAFÓS, 1986. p. 13-85.

ROCHA, C.R.M.; SILVA, V.N.; CICERO, S.M. Avaliação do vigor de sementes de girassol por meio de análise de imagens de plântulas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 6, p. 970-976, 2015.

ROCHA, T.G.F.; MEDEIROS, A.D.; PEREIRA, M.D; FERRARI, C.D.S. Vigor de sementes de moringa pelo teste de emissão de raiz primária. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 10, n. 5, p. 63-68, 2016.

ROSA, S.D.V.F.; BRANDÃO JÚNIOR, D.S.; VON PINHO, E.V.R.; VEIGA, A.D.; SILVA, L.H.C. Effects of diferente drying rates on the physiological quality of *Coffea canephora* Pierre seeds. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 17, p. 199-205, 2005.

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

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

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

SGUAREZI, C.N.; BRACCINI, A.L.; SCAPIM, C.A.; BRACCINI, M.C.L.; DALPASQUALE, V.A. Avaliação de tratamentos pré-germinativos para melhorar o desempenho de sementes de café (*Coffea arabica* L.). II. Processo de umidificação. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 2, p. 162-170, 2001.

SILVA, C.B.; BARBOSA, R.M.; VIEIRA, R.D. Evaluating sunn hemp (*Crotalaria juncea*) seed viability using the tetrazolium test. **Seed Technology**, v. 34, p. 19-28, 2012.

SILVA, E.A.A.; TOOROP, P.E.; AELST, A.C.; HILHORST, H.W.M. Absciscic acid controls embryo growth potential and endosperm cap weakening during coffee (*Coffea arabica* L. cv. Rubi) seed germination. **Planta**, New York, v. 220, p. 251-261, 2004.

SILVA, G.G.; GOMES JUNIOR, F.G. Avaliação automatizada do vigor de sementes de soja utilizando o software Vigor-S. In: 22º Simpósio Internacional de Iniciação Científica e Tecnológica da USP, 2014, Piracicaba. Anais do 22º Simpósio Internacional de Iniciação Científica e Tecnológica da USP, 2014.

SILVA, M.C.; NICOLE, M; RIJO, L; GEIGER, J.P.; RODRIGUES JUNIOR, C.J. Cytochemical aspects of the plant-rust fungus interface during the compatible interaction *Coffea arabica* (cv. Caturra)-*Hemileia vastatrix* (race III). **International Journal of Plant Sciences**, v. 60, n. 1, p. 79-91, 1999.

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

SILVA, V.N.; CICERO, S.M.; BENNETT, M. Relationship between eggplant seed morphology and germination. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 597-604, 2012b.

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

SILVA, V.N.; GOMES JUNIOR, F.G.; CICERO, S.M. Análise computadorizada de imagens de plântulas para avaliação do potencial fisiológico de sementes de trigo. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 4, p. 589-596, 2012a.

SILVA, V.N.; SARMENTO, M.B.; SILVEIRA, A.C.; SILVA, C.S.; CICERO, S.M. Avaliação da morfologia interna de sementes de *Acca sellowiana* O. Berg por meio de análise de imagens. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 35, n. 4, p. 1158-1169, 2013.

SILVA, W.R.; DIAS, M.C.L.L. Interferência do teor de umidade das sementes de café na manutenção de sua qualidade fisiológica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 5, p. 551-560, 1985.

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.

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

TILLMANN, C.A.C. **Modelo de sistema integrado de gestão da qualidade para implantação nas unidades de beneficiamento de sementes**. Pelotas, 2006. 135p. Tese (Doutorado). Ciência e Tecnologia de Sementes. Faculdade de. Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2006.

TOLEDO, F.F.; NOVENBRE, A.D.L.C.; CHAMMA, H.M.C.P.; MASCHIETTO, R.W. Vigor de sementes de milho (*Zea mays* L.) avaliado pela precocidade de emissão da raiz primária. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 1, p. 191-196, 1999.

VÁLIO, I.F.M. Germination of coffee seeds. (*Coffea arábica* L.) cv. Mundo Novo. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 27, n. 100, p. 983-991, 1976.

van der VOSSEN, H.A.M. Methods of preserving the viability of coffee seed in storage. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 7, n. 1, p. 65-74, 1979.

VASCONCELOS, L.M.; GROTH, D.; RAZERA, L.F. Efeito de processos de secagem, diferentes graus de umidade e tipos de embalagens na conservação de sementes de café (*Coffea arábica* L. cv. Catuaí Vermelho). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 14, n. 2, p. 181-188, 1992.

VIEIRA, E.C.; GAZZINELLI, G.; MARES GUIA, M. **Bioquímica celular e biologia molecular**. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1991. 360p.

VIEIRA, R.D.; KRZYZANOWSKI, F.C. 1999. Teste de condutividade elétrica. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA NETO, J.B. (eds). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES. cap.4. p.1-26.

WATERS, L.; BLANCHETTE, B. Prediction of sweet corn field emergence by conductivity and cold tests. **Journal of American Society Horticultural Science**, v. 108, n. 5, p. 78-781, 1983.

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

ZONTA, J.B.; ARAUJO, E.F.; ARAUJO, R.F.; REIS, M.S. Uso do teste Lercafé para a caracterização de danos em sementes de cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 11, p. 1601-1607. 2008.