



Análise de imagens na avaliação da qualidade fisiológica de sementes

Image analysis to evaluate the physiological quality of seed

Renan Thiago Carneiro Nunes^{1*}, Ubiratan Oliveira Souza¹, Otoniel Magalhães. Moraes¹ e Caíque Moreira Silveira Lourenço¹

Resumo: O objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência da utilização da técnica de análise de imagens na identificação da morfologia interna das sementes e sua relação com os danos mecânicos, danos por umidade, danos por secagem e danos causados por insetos e sua relação com a qualidade fisiológica. A análise de imagens de raios X, para avaliar a qualidade de sementes, é um método de precisão, possibilitando examinar, com detalhes, a região danificada ou alterada, sua localização e extensão. Por ser um método não destrutivo, as sementes em análise podem ser submetidas a testes fisiológicos e, desta forma, é possível estabelecer as relações de causa e efeito. Na avaliação do potencial fisiológico de sementes de diversas espécies, além dos métodos rotineiramente utilizados para análise de vigor, a análise computadorizada de plântulas e sementes também possui grande potencial, pois esse sistema inclui a minimização do erro humano, aumentando a confiabilidade dos dados para fins de comparação, além de possibilidade de arquivamento das imagens para análise posterior. Assim, o desenvolvimento de sistemas digitais para a avaliação do potencial fisiológico de diferentes espécies pode constituir alternativa promissora na busca por métodos precisos e relativamente rápidos para avaliar o potencial fisiológico de sementes.

Palavras-chaves: germinação, morfologia interna, raios X e vigor.

Abstract: The objective of this work was to evaluate the efficiency of the use of image analysis technique to identify the internal morphology of seeds and its relationship to mechanical damage, moisture damage by drying damage and insect damage and its relationship with the physiological quality. The analysis of X-ray images, to assess the quality of seeds, is a method of precision, enabling examine in detail, the damaged areas, their location and extent. Being a non-destructive method, analyzed seeds can be submitted to physiological tests and thus it is possible to establish the relationship between cause and effect. In the evaluation of the physiological potential of several species of seeds, and the methods routinely used to force analysis, computer analysis of seedlings and also has great potential, because this system includes minimizing human error, improving reliability of data for comparison, and the possibility of storing the images for subsequent analysis. Thus, the development of digital systems for the evaluation of the physiological potential of different species can be promising alternative in the search for accurate methods and relatively quick to evaluate the physiological potential of seeds.

Key words: germination, internal morphology, X-ray and vigor.

*Autor para correspondência

Recebido em 08/10/2014 e aceito em 14/12/2014

¹Departamento de Fitotecnia e Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), CEP: 45083-900 Vitória da Conquista, Brasil. E-mail: renanthiago_tn@hotmail.com

INTRODUÇÃO

A tecnologia de sementes tem evoluído constantemente nos últimos anos, com isso, o potencial fisiológico segue o mesmo ritmo impulsionado pelos avanços tecnológicos influenciados pela pesquisa. Constatou-se porém que no processo de formação da sementes, colheita, transporte e beneficiamento, várias injúrias são ocasionadas à semente. Para identificar quais as partes da semente são mais afetadas, novos testes e técnicas surgem constantemente, proporcionando cada vez mais, uma maior exatidão nas análises realizadas (LIMA et al., 2013).

A análise de sementes é o exame de uma amostra com a finalidade de estabelecer a qualidade das sementes de um determinado lote, sendo definidas por parâmetros genéticos, físico, fisiológico e sanitário (LOPES E NASCIMENTO, 2009).

A avaliação do componente fisiológico normalmente é realizada por meio do teste de germinação, que apresenta limitações por ser realizado sob condições controladas, podendo fornecer resultados que superestimam o potencial das sementes à medida que as condições ambientais desviam das mais adequadas para o estabelecimento das plântulas ou para o armazenamento das sementes. Em razão do que foi exposto surgiram os testes de vigor (SCHUCH et al., 2013).

O vigor de sementes reflete um conjunto de propriedades que determinam o potencial dos lotes, com germinação aceitável, para a emergência rápida e uniforme de plântulas, sob ampla variação de condições de ambiente (TEKRONY, 2003).

Atualmente, a análise de imagens de sementes e plântulas tem-se mostrado eficiente para a avaliação dos componentes fisiológicos e físicos de sementes, que influenciam na qualidade dos lotes (SILVA et al., 2013).

A análise de sementes é considerada uma atividade dinâmica constantemente evoluída, caracterizada pelas melhorias contínuas do desenvolvimento de processos e padronização. Para GUEDES et al., (2011), a padronização desses métodos deve ser constantemente reavaliada mediante aplicação de testes de referência, de testes alternativos e da determinação de novas metodologias.

Sendo assim, a análise de sementes através das imagens radiográficas é uma alternativa relativamente recente para classificar os diversos aspectos das sementes, como a sua morfologia interna, danos mecânicos, danos por insetos, entre outros. Neste sentido, a captura e processamento da imagem radiografada, tem permitido o estabelecimento de relações entre integridade, morfologia e determinação do potencial fisiológico das sementes (MARCOS FILHO et al., 2010).

Com isso, um dos requisitos básicos para identificação de problemas associados com o potencial fisiológico de sementes é a averiguação da sua morfologia interna. Estudos dirigidos para avaliação da morfologia interna de sementes têm sido executados pela técnica de análise de imagens. Dentro os métodos utilizados para esta finalidade, destaca-se o teste de raios X (GOMES JUNIOR et al., 2012).

O pioneirismo da utilização da análise de raios X para a avaliação da morfologia interna de sementes é atribuído a SIMAK E GUSTAFSSON, (1953), com a identificação de anormalidades no embrião de sementes de *Pinus sylvestris* L, permitindo que as mesmas sejam semeadas para comparação

com o teste de germinação, possibilitando o estudo da germinação em relação à imagem radiográfica.

A utilização da radiografia por meio de raios X de baixa energia para avaliação da qualidade física das sementes é indicado pela ISTA (2004), que o considera um método rápido e não destrutivo, prescrevendo-o com a finalidade básica de detectar e analisar as estruturas internas das sementes, permitindo assim, a visualização de sementes cheias, vazias, mal formadas, com danos mecânicos ou ataque de insetos e fungos, e em alguns casos, possibilitando a detecção de anormalidades no embrião, além do seu estágio de desenvolvimento (SIMAK E GUSTAFSSON, 1953). Nessa circunstância, sementes da amostra destinada ao teste de germinação são previamente radiografadas e classificadas, de acordo com o perfil morfológico visualizado.

O teste de raio X consiste na estrutura interna das sementes, por meio da sua exposição a uma fonte de baixa energia de raios X e a um filme fotossensível. Ao atravessarem as sementes e atingirem o filme, os raios permitem a formação de uma imagem latente, caracterizada por diferentes graus de sombras e luz. O princípio da técnica é definido pela absorção de raios X em diferentes quantidades pelos tecidos das sementes, em função de sua estrutura, composição e densidade, além do tempo de exposição à radiação (ISTA, 2004). Apesar do teste de raio X ser potencialmente nocivo às sementes, a baixa dose absorvida durante a análise não causa nenhum tipo de mutações genéticas e não afeta a germinação de sementes (SIMAK E GUSTAFSSON, 1953). CARVALHO et al., (2009), observaram que a exposição de sementes de abóbora à radiação não afetou a qualidade fisiológica mesmo após seu armazenamento durante um ano, sob condições controladas.

Desta forma, após a disposição das sementes sobre o filme e subsequentemente a radiação, formam-se imagens claras nas regiões mais densas, as quais os raios X não atravessaram, e imagens escuras nas regiões menos densas (ISTA, 2004). Cada equipamento de raios X requer diferentes regulagens de tempo de exposição e voltagens para gerar melhor imagem (BRASIL, 2009).

A técnica de raios-X tem permitido relacionar a morfologia de sementes com a germinação ou morfologia das plântulas de diversas espécies agrícolas e florestais (CARVALHO et al., 2010; GAGLIARDI & MARCOS FILHO, 2011), identificar injúrias por umidade em sementes de soja e por percevejo em sementes de soja (Pinto et al., 2009) e de utilização de técnicas na avaliação de sementes por imagem de feijão (Forti et al., 2008), além de injúrias mecânicas em sementes de milho (CICERO & BANZATTO JUNIOR, 2003).

Sendo assim, a possibilidade de utilização da técnica de análise de imagens, para avaliar a qualidade de sementes é promissora, sendo um método precioso, em que a semente pode ser examinada individualmente em imagens ampliadas e capaz de indicar, com detalhes, a área danificada sua localização e a extensão dos danos (FORTI et al., 2008).

Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência da utilização da técnica de análise de imagens na identificação da morfologia interna das sementes e sua relação com os danos mecânicos, danos por umidade, danos por secagem e danos causados por insetos em sua relação com a qualidade fisiológica.

MORFOLOGIA INTERNA

A grande maioria das pesquisas realizadas com raios X em sementes no Brasil envolvem estudos de morfologia interna e sua relação com o potencial fisiológico de sementes de diversas espécies (CICERO, 2010).

Um dos métodos iniciais propostos para a avaliação automatizada da morfologia interna de sementes foi baseado na mensuração computadorizada das áreas correspondentes às partes internas de sementes de tomate (LIU et al., 1993). Assim, o procedimento para a identificação de variações morfológicas entre sementes durante a embebição e o condicionamento fisiológico foi a determinação do espaço livre, que, segundo LIU et al., (1993), corresponde à área vazia entre o embrião e o endosperma.

Sementes morfologicamente perfeitas, identificadas pelo teste de raios X, podem originar plântulas normais ou anormais e as sementes podem estar dormentes ou mortas. A variação das estruturas originadas é decorrência de condições ambientais desfavoráveis à germinação, da presença de causas naturais e em estádios avançados de deterioração ou submetidas ao armazenamento inadequado (BURG et al., 1994).

A presença de tecidos deteriorados ou malformações do embrião representam fatores limitantes para a viabilidade e, dependendo do local afetado, pode reduzir o vigor, originando plântulas fracas e, conseqüentemente, mais susceptíveis às condições adversas (CARVALHO & NAKAGAWA, 2012).

SILVA et al., (2012), observaram por meio de análise de imagens de raios X em sementes de berinjela estreita relação entre a presença de manchas escurecidas, causadas pela deterioração de tecidos e a redução da germinação.

Em sementes de abóbora, CARVALHO et al., (2009), utilizaram o teste de raios X na avaliação da morfologia interna das sementes, as quais foram classificadas em sementes cheias, sementes danificadas e sementes translúcidas; destacaram que o referido teste é eficiente para identificar danos internos que afetam negativamente a sua qualidade fisiológica.

Trabalhando com sementes florestais de Lauraceae, CARVALHO et al., (2009), identificaram, com auxílio de imagens radiográficas, sementes infestadas por insetos ou com malformação do tecido cotiledonar próximas ao eixo embrionário e constataram que esses danos afetam a germinação das sementes das espécies estudadas, por outro lado, infestação ou malformação do tecido cotiledonar de menores dimensões e distantes do eixo embrionário não causam problemas na germinação das sementes.

Em pinhão-mansão, PINTO et al., (2009), constataram, em imagens radiográficas, que as sementes que apresentam manchas escuras (tecidos deteriorados) em mais de 50% do endosperma e/ou no embrião, não germinam ou originam plântulas anormais.

Além de todas estas possibilidades de uso, o teste de raios X tem sido realizado com sucesso para relacionar a morfologia interna da semente com a germinação ou a morfologia de plântulas de tomate (BURG et al., 1994), pimentão (GAGLIARDI & MARCOS FILHO, 2011). Ao estudar a morfologia interna da semente, um parâmetro que pode ser avaliada é o tamanho do embrião, o qual pode ser definido pelo grau de desenvolvimento e o espaço livre no interior da cavidade interna da semente (MARCOS FILHO et

al., 2010). Este espaço livre é uma expressão para definir a ocorrência de espaços vazios entre o embrião e o endosperma ou entre o conteúdo de sementes e o tegumento, podendo ocorrer em diferentes partes da semente (LIU et al., 1993).

Quando a cavidade interna não é completamente preenchida pelo embrião e pelos tecidos do endosperma ou contém tecidos menos densos, a análise de raios X produz imagens com manchas escuras, pois a resistência não é suficiente para impedir a passagem dos raios X (GAGLIARDI & MARCOS FILHO, 2011).

O espaço vazio pode ser quantificado visualmente, como foi descrito para sementes de mamona (CARVALHO et al., 2010), porém, esses resultados podem ser subjetivos. A utilização de sistemas automatizados para essa avaliação pode tornar o procedimento mais eficiente.

Para quantificar este espaço vazio dois softwares são destacados na literatura: Tomato analyzer e Image Pro Plus (SCHUCH et al., 2013)

DANOS MECÂNICOS

A crescente modernização da agricultura brasileira tem exigido dos diferentes segmentos mudanças profundas no sentido de racionalização do processo produtivo. Dentre os insumos do setor agrícola, a semente de alta qualidade ocupa papel fundamental em todo sistema de produção que vise à otimização de padrões quantitativos e qualitativos (COSTA et al., 2011).

Nesse contexto, CARVALHO & NAKAGAWA (2000), apontam que a injúria mecânica é um dos mais sérios problemas enfrentados pelos tecnólogos de sementes na produção de sementes, sendo na sua maior parte, conseqüência da mecanização das atividades agrícolas e constitui um problema praticamente inevitável, mesmo com perfeita regulação das máquinas, causando danos em menor ou maior intensidade.

A avaliação precisa dos referidos danos assume, dessa maneira, grande importância na tomada de decisão quanto ao destino do lote em avaliação: utilização de semente ou como grãos (FORTI et al., 2008).

Sendo assim, o teste de raio X pode ser uma alternativa para a identificação de danos mecânicos internos, como já foi verificado para sementes de milho (CICERO & BANZATTO JUNIOR, 2003), soja (PINTO et al., 2009) e milho doce (GOMES JUNIOR & CICERO, 2012).

Em sementes de feijão foi possível, com utilização de raios X, a identificação de danos mecânicos e relacioná-los com os prejuízos ocasionados à germinação (FORTI et al., 2008). Em sementes de soja, FLOR et al., (2004), concluiu que a utilização de raios X para a avaliação de danos mecânicos mostrou-se como uma eficiente alternativa em relação a outros métodos utilizados para o mesmo fim, com a vantagem de se poder comprovar os efeitos dos danos por meio de testes fisiológicos, por se tratar de método não destrutivo.

GOMES JUNIOR & CICERO, (2012), verificaram que danos mecânicos no eixo embrionário de sementes de milho doce, provocam redução da germinação, não havendo desenvolvimento da plúmula, da raiz, ou de ambos, dependendo da localização do dano.

DANOS POR UMIDADE

O atraso da colheita pode causar danos às sementes devido a exposição a ciclos alternados de condições ambientais úmidas e secas na fase de pós-maturidade, os quais apresentam maior magnitude caso ocorram em ambientes quentes, típicos de regiões tropicais e subtropicais (FORTI et al., 2010).

Esse problema é verificado com frequência em sementes de soja, devido à ausência da camada tegumentar composta por células em forma de “ampulheta” da hipoderme, na região oposta ao hilo, de modo que as expansões e contrações não são atenuadas (MARCOS FILHO, 2005), os quais podem ser identificados por meio do teste de raios X.

PINTO et al., (2007), observaram, por meio do teste de raios X, em sementes de soja, danos por umidade nas sementes que afetam o potencial fisiológico, os quais se correlacionaram com a ocorrência de plântulas anormais e também com os resultados de sementes inviáveis obtidos pelo teste de tetrazólio. Resultados semelhantes ocorrem para sementes de feijão (FORTI et al., 2008).

Além desses resultados, a análise das imagens de raios X permitiu constatar, com sucesso, a evolução desses danos por umidade durante as etapas de armazenamento de sementes de soja (FORTI et al., 2010), revelando assim, a relação entre o efeito latente desse tipo de dano e a perda da capacidade germinativa ao longo do tempo.

DANOS POR INSETO

Durante a formação das sementes, o ataque de insetos provoca danos, podendo afetar negativamente a qualidade das sementes produzidas em várias espécies, causando assim, aborto da semente ou da vagem, retenção das folhas verdes por ocasião da colheita e redução na produtividade, além da transmissão de patógenos para as sementes, reduzindo assim, sua qualidade fisiológica e sanitária (GAZZONI, 1998).

Resultados obtidos em trabalho com sementes de soja (FLOR et al., 2004) e de feijão (FORTI et al., 2008), indicaram que a análise de imagens de raio X permite identificar, com exatidão, danos causados por percevejos, existindo assim correlação com os resultados obtidos no teste de tetrazólio (PINTO et al., 2009).

MASSETO et al., (2007), trabalhando com sementes de *Eugenia pleurantha*, observaram que o teste de raios X foi eficiente na detecção de sementes infestadas, e que as larvas presentes nas sementes causaram danos, os quais resultaram em sementes mortas quando comparadas com o teste de germinação, pois as larvas consumiram as reservas das sementes, além de causarem danos severos no eixo embrionário. Cabe salientar ainda, que a detecção das larvas não é possível pela visualização externa das sementes, o que fica evidenciado a importância do teste de raios X para diagnosticar a infestação.

DANOS POR SECAGEM

O Processo de secagem de sementes causa a evaporação da água periférica e a consequente contração irregular das camadas superficiais pela compressão causada pela pressão atmosférica. Em altas temperaturas é causado um estresse,

que pode ocasionar fissuras nas sementes (CHEN & KUNZE, 1983).

As fissuras provocadas pela secagem podem prejudicar o potencial fisiológico das sementes, diminuir a capacidade de regular as trocas de água e gases, como aumentar a sensibilidade ao efeito fitotóxico de fungicidas ou inseticidas (CARVALHO & NAKAGAWA, 2012), facilitando assim, a entrada de patógenos, os quais reduzem a qualidade sanitária delas.

A identificação das injurias provocadas pela secagem pode ser realizada por meio da análise de imagens radiográficas. Para semente de milho, a identificação das fissuras causadas por secagem foi realizada com sucesso por meio do teste de raios X e o estudo possibilitou verificar que, quando os danos internos ocorrem nos sentidos vertical e horizontal, diminuem o vigor das sementes armazenadas (CARVALHO & FLOR, 2002).

Analisando o efeito da secagem em sementes de arroz, MENEZES et al., (2012), verificaram que o aumento da temperatura de secagem artificial (acima de 38 ° C) proporcionou aumento da porcentagem de sementes com fissuras, detectadas pelo teste de raios X, sendo que aquelas consideradas como severas afetaram negativamente a germinação.

ANÁLISE AUTOMATIZADA DE IMAGENS DE PLÂNTULAS PARA AVALIAÇÃO DO VIGOR DAS SEMENTES

Existem vários testes de vigor descritos na literatura, dentre eles alguns se baseiam no crescimento e desenvolvimento de plântulas ou em partes das mesmas e, normalmente, são executadas manualmente. Sendo assim, apresentam limitações, pois os resultados obtidos podem variar entre laboratórios por causa de erros e dificuldades nas mensurações das plântulas e levam tempo excessivo para aquisição dos resultados, além da subjetividade dos analistas. A automatização dessas análises, pelo uso de processamento computadorizado de imagens pode eliminar as dificuldades descritas anteriormente (HOFFMASTER, 2003).

Uma das primeiras tentativas para a utilização da análise computadorizada de imagens de plântulas, visando à determinação do vigor de sementes foi efetuada por McCORMAC et al., (1990), avaliando o comprimento da raiz primária de plântulas normais de cenoura e de alface. Posteriormente, SAKO et al., (2001), desenvolveram, na Ohio State University/EUA, um sistema automatizado para avaliação do vigor de sementes de alface, denominado Seed Vigor Imaging System (SVIS®), com o objetivo de obter informações sobre o vigor, considerando também a velocidade e a uniformidade de desenvolvimento, para tanto, trabalharam com plântulas “escaneadas”, cujas partes eram identificadas e marcadas por software específico. Esse sistema após algumas adaptações foi utilizado com sucesso para outras espécies, como soja (HOFFMASTER et al., 2003; MARCOS FILHO et al., 2009), permitindo o cálculo de índice de vigor, grau de uniformidade de desenvolvimento e comprimento de plântulas ou de suas partes.

Esse método consiste na captação de imagens digitais múltiplas em escâner, de plântulas com três a quatro dias de idade, seguidas pelo processamento das imagens com o uso de um programa de computação desenvolvido para esse fim, o

processamento das imagens gera valores numéricos que, coletivamente, representam o potencial fisiológico das sementes, com base nos parâmetros preestabelecidos (MARCOS FILHO, 2005).

O procedimento para a condução e interpretação dos resultados do SVIS®, como é baseado no desenvolvimento de plântulas, deve seguir os cuidados ressaltados por Tekrony, (2003), pois a obtenção de resultados consistentes exige atenção para evitar desvios acentuados devido a diferenças no tamanho das sementes e das condições adequadas para a germinação, principalmente quanto à temperatura e disponibilidade de água (MARCOS FILHO, 2010).

Segundo SAKO et al., (2001), como base no crescimento das plântulas, o software, calcula índices de crescimento e uniformidade, ambos variando de 0 a 1000, esses valores são diretamente proporcionais ao vigor. A uniformidade de desenvolvimento é um parâmetro avaliado pelo software, como base na comparação do crescimento das plântulas com o máximo crescimento esperado para cada espécie durante o período de duração do teste.

Portanto, o procedimento para avaliação do vigor de sementes por meio do SVIS® é simples e os resultados para uma amostra podem ser obtidos dentro de dois a três minutos (GOMES JUNIOR, 2009). Outro aspecto importante desse sistema, é a eliminação do erro humano, aumentando a confiabilidade dos dados para fins de comparação, a possibilidade de arquivamento das imagens para análise posterior e o baixo custo que segundo GOMES JUNIOR, (2009), é equivalente ao custo de para condução do teste de germinação.

CONCLUSÕES

A análise de imagens de sementes e plântulas no Brasil ainda se encontram restritas aos trabalhos de pesquisa, os quais têm demonstrando grande potencial de utilização para diversas finalidades.

Com isso, técnicas simples e rápidas que forneçam com precisão, informações a respeito de sementes podem contribuir para a seleção de lotes em programas de controle de qualidade e, conseqüentemente, aumentar a eficiência do sistema de produção. Neste contexto, o uso do teste de raios X, técnica recomendada pela ISTA (2004), é de grande valia para um grande número de espécies, por ser um teste não destrutivo, rápido e com aplicação direta na identificação de danos internos de sementes e na seleção de lotes de melhor qualidade.

Por fim, podemos concluir que, a continuidade da pesquisa certamente permitirá o desenvolvimento de procedimentos confiáveis para outras espécies, além de permitir a identificação de alternativas mais amplas para a utilização desse software para a ampliação do conhecimento nas áreas de fisiologia e de avaliação do potencial fisiológico de sementes.

A pesquisa tem feito adequadamente o seu papel, ou seja, contribuído com informações técnicas e científicas sobre a viabilidade de utilização de imagens radiográficas em sementes; resta agora implementar a sua introdução em laboratórios de rotina, envolvidos em programas de controle de qualidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BURG, W.J. van der; AARTESE, J.W.; ZWOL, R.A. van; JALINK, H.; BINO, R.J. Predicting tomato seedling morphology by x-ray analysis of seeds. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.119, n.2, p.258-263, 1994.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. SDA: Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399p.
- CARVALHO, M. L. M.; ALVES, R. A.; OLIVEIRA, L.M. Radiographic analysis in castor bean seeds (*Ricinus communis* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.1, p.170-175, 2010.
- CARVALHO, N.M.; FLOR, E.P.O. Uso de los rayos-X para evaluación de daños internos producidos por secamiento y sus efectos em la calidad de semillas de maiz (*Zea mays* L.). **Revista Facultad Nacional de Agronomía**, v.55, n.2, p.1521-1537, 2002.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.
- CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciências, tecnologias e produção**. 5.ed., Jaboticabal; FUNEP, 2012. 590p.
- CARVALHO, M. D. M.; SILVA, C. D.; OLIVEIRA, L. D.; SILVA, D. G.; CALDEIRA, C.M. Teste de raios x na avaliação da qualidade de sementes de abóbora. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 31, nº 2, p.221-227, 2009.
- 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**, v.25, n.1, p.29-36, 2003.
- CICERO, S. M.; Aplicação de imagens radiográficas no controle de qualidade de sementes. **Revista Brasileira de Sementes**, v.20, n.3, p.48-51, 2010.
- COSTA, N.P.; FRANÇA-NETO, J.B.; PEREIRA, J.E.; MESQUITA, C.M.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, A. A. Efeito de sementes verdes na qualidade fisiológica de semente de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23, n.2, p.102-107, 2011.
- CHEN, Y.L.; KUNZE, O.R. Effect of environmental changes of rice yield and particles size of broken kernels. **Cereal Chemistry**, v.60, n.34, p.238-241, 1983.
- FORTI, V.A.; CICERO, S.M.; PINTO, T.L.F. Análise de imagens na avaliação de danos mecânicos e causados por percevejos em sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, 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-BR, durante o armazenamento, utilizando imagens de raios X e testes de potencial fisiológico. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.3, p.123-133, 2010.
- FLOR, E.P.O.; CICERO, S.M.; FRANÇA NETO, J.B.; KRZYŻANOWSKI, F.C. Avaliação de danos mecânicos em sementes de soja por meio da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, v.26, n.1, p.68-76, 2004.
- GAGLIARDI, B; MARCOS FILHO, J. Relationship between germination and bell pepper seed structure assessed by the X-ray test. **Scientia Agrícola**, v. 68, n.4, p. 411-416, 2011.
- GAZZONI, D.L. Efeito de populações de percevejo na produtividade, qualidade da semente e características agrônômicas da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.33, p.1229-1237, 1998.
- GOMES JUNIOR, F. G.; MONDO, V.H.V.; CICERO, S.M.; McDONALD, M.B.; BENNETT, M.A. Evaluation of priming effects on sweet corn by SVIS. **Seed Technology**, v.31, n.1, p.95-100, 2009.
- GOMES JUNIOR, F. G.; CICERO, S.M. X-Ray analysis to assess mechanical damage in sweet corn seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, v.34, n.1, p.78-85, 2012.
- GOMES JUNIOR, F. G.; YAGUSHI, J.T.; BELINI, U.L.; CICERO, S. M.; TOMAZELLO FILHO, M. X-ray densitometry to assess internal seed morphology and quality. **Seed Science and Technology**, v.40, n. 1, p. 102-107, 2012.
- GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; GONÇALVES, E. P.; FRANÇA, P. R. C.; MOURA, M. F.; SANTOS, S. S. Germination of *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. seeds. **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, Vol. 33, N. 4, p. 445, 2011.
- HOFFMASTER, A.L.; FUJIMURA, K.; McDONALD, M.B.; BENNETT, M.A. Na automated system for vigour testing three-day-old soybean seedlings. **Seed Science and Technology**, v.31, p.701-703, 2003.
- INTERNACIONAL SEED TESTING ASSOCIATION (ISTA). Regras internacionais para análise de sementes. **Seed Science and Technology**, Zurich, 174p. 2004.
- INTO, T.L.F.; CICERO, S.M.; FRANÇA NETO, J.B.; FORTI, V.A. An assessment of mechanical and stink bug damage in soybean seed using X-ray analysis test. **Seed Science and Technology**, v.37, p.110-120, 2009.
- LIMA, L.K.S.; DUTRA, A.S.; SANTOS, C.C.; BARROS, G.L. Utilização de Técnicas na Avaliação de Sementes por Imagem. **Revista Agropecuária Científica no Semiárido**, v.9, n.3, p 01-06, jul – set, 2013.
- LOPES, A. C. A.; NASCIMENTO, W. M. **Análise de sementes de hortaliças**. Circular Técnica (83). Embrapa Hortaliças. Brasília, 2009.
- LIU, Y.; VAN DER BURG, W.J.; AARTSE, J.W.; VAN ZWOL, R.A.; JALINK, H.; BINO, R.J. X-ray studies on changes in embryo and endosperm morphology during priming and imbibition of tomato seeds. **Seed Science Research**, v.3, n.3, p.171-178, 1993.
- LUCAS, K.S.L.; ALEK, S.D.; CAMILA, C.S.; GEOVÂNIO, L.B. Utilização de Técnicas na Avaliação de Sementes por Imagem. **Agropecuária científica no semiárido**. Campina Grande, v. 9, n. 3, p 01-06, jul – set. 2013.
- MARCOS FILHO, J.; CICERO, S.M.; SILVA, W.R. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba, FEALQ, 1987. 230 p.
- MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ.2005.495P.
- MARCOS-FILHO, J.; GOMES JUNIOR, F.G.; BENNETT, M.A.; WELLS, A.A.; STIEVE, S. Using tomato analyzersoftware to determine embryo size in x-rayed seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.2, p.146-153, 2010.
- MARCOS FILHO, J; KIKUTI, A.L.P.; LIMA, L.B. Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo análise computadorizada de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, v.31, n.1, p. 102-112, 2009.
- MASSETO, T.E.; DAVIDE, A.C.; SILVA, E.A.A.; FARIA, J.R.M. Avaliação da qualidade de sementes de *Eugenia pleurantha* pelo teste de raios X. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.3, p.151-155, 2007.
- MENEZES, N. L.; CÍCERO, S. M.; VILLELA, F. A. Identificação de fissuras em sementes de arroz após a secagem artificial, por meio de raios X. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, p. 1194-1196, 2012.
- McCORMAC, A.C.; KEFFE, 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.
- PINTO, T.L.F.; CICERO, S.M.; FORTI, V. Avaliação de danos por umidade em sementes de soja utilizando a técnica da análise de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.3, p.31-38, 2007.
- PINTO, T. L. F.; CICERO, S. M.; FRANÇANETO, J. B.; FORTI, V. A. An assessment of mechanical and stink bug damage in soybean seed using X-ray analysis test. **Seed Science and Technology**, v.37, n.1, p.110-120, 2009.
- SAKO, Y.; McDONALD, M.B.; FUJIMURA, K.; EVANS, A.F.; BENNETT, M.A. A system for automated seed vigour assessment. **Seed Science and Technology**, v. 29, n. 3, p. 625-636, 2001.
- SIMAK, M.; GUSTAFSSON, Å. **X-ray photography and sensitivity in Forest tree species**. *Hereditas*, v. 39, p. 458-468, 1953.

- SILVA, V.N. CICERO, S.M.; BENNETT, M. Relationship between eggplant seed morphology and germination. **Revista Brasileira de Sementes**, v.4, n.4, p.597-604, 2012.
- 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** - SP, v. 35, n. 4, p. 1158-1169, dez 2013.
- SCHUCH, L.O.B.; VIEIRA, J.F.; RUFINO, C.A.; JUNIOR, J.S.A. **Produção, qualidade e inovações tecnológicas**. Pelotas –RS. Ed. Gráfica Universitária, 2013. P.571.
- TeKRONY, D.M. Precision is an essential component in seed vigour testing. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.31, p.435-447, 2003.
- VANESSA, N. S.; MARCELO, S.; ANA, C. S.; CLARISSA, S. S.; SILVIO, M. C. Avaliação da morfologia interna de sementes de *Acca sellowiana* O. Berg por meio de análise de imagens. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal - SP, v. 35, n. 4, p. 1158-1169, dez 2013.