



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

KELLY ANDRESSA PERES DE LIMA

ANÁLISE DE IMAGENS DE SEMENTES E PLÂNTULAS DE CARNAÚBA PARA
AVALIAÇÃO DE VIGOR

FORTALEZA

2019

KELLY ANDRESSA PERES DE LIMA

ANÁLISE DE IMAGENS DE SEMENTES E PLÂNTULAS DE CARNAÚBA PARA
AVALIAÇÃO DE VIGOR

Monografia submetida ao curso de Graduação em Agronomia, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira Agrônoma. Área de concentração: Tecnologia de Sementes.

Orientadora: D.Sc. Prof^a. Haynna Fernandes Abud.

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- L698a Lima, Kelly Andressa Peres de.
Análise de imagens de sementes e plântulas de carnaúba para avaliação de vigor / Kelly Andressa Peres de Lima. – 2019.
32 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Agronomia, Fortaleza, 2019.
Orientação: Profa. Dra. Haynna Fernandes Abud.
1. Copernicia prunifera. 2. Teste de raios X. 3. Morfologia. 4. Biometria. I. Título.
- CDD 630
-

KELLY ANDRESSA PERES DE LIMA

ANÁLISE DE IMAGENS DE SEMENTES E PLÂNTULAS DE CARNAÚBA PARA
AVALIAÇÃO DE VIGOR

Monografia submetida ao curso de Graduação em Agronomia, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira Agrônoma. Área de concentração: Tecnologia de Sementes

Aprovada em: 21/06/2019.

BANCA EXAMINADORA

D.Sc. Prof^a. Haynna Fernandes Abud(**Orientadora**)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

D.Sc. Prof. Antonio Marcos Esmeraldo Bezerra
Universidade Federal do Ceará (UFC)

M. Sc. Charles Lobo Pinheiro (Avaliador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter sido meu companheiro em todos os momentos me dando sabedoria, força e determinação para superar todos os obstáculos e ir até o fim. Sem dúvidas minha fé é a minha melhor ferramenta.

Aos meus pais Ronaldo e Rosana, meu irmão Ronald Felipe e minhas tias Rosane e Marlene que estiveram sempre apoiando e torcendo por mim, essa vitória é nossa. Dedico a vocês essa conquista.

Ao meu namorado Diego, que esteve comigo nesta reta final da minha graduação e fez tudo que estava ao seu alcance para me ajudar. Meu amor, que sorte a minha de ter você, obrigada por tudo, meu parceiro pra vida, conte comigo sempre!

Aos meus amigos Lorena, Felipe, Hiago, Lucas e Larissa pela amizade e pelos bons momentos, vocês se tornaram muito especiais pra mim, da Agronomia pra vida. A todos os colegas de graduação que contribuíram com minha formação e proporcionaram muitos aprendizados.

Ao Laboratório de Entomologia Agrícola (LEA-UFC) e ao professor Patrik Pastori por terem sido minha primeira casa na UFC e por todo o aprendizado e experiências compartilhados, vocês foram muito importantes para o meu direcionamento acadêmico.

Aos meus companheiros do Laboratório de Análises de Sementes da UFC que me acompanharam nos dois últimos anos de graduação, obrigada por cada aprendizado, cada café, cada bolo e todas as conversas. Tenho muito carinho por vocês Charles, Selma, Wendson, Ana Kelly, Timóteo, Kaiane, Luci e tantos outros que já passaram pelo LAS.

A minha orientadora Haynna Abud, pela dedicação e pela amizade. Por todo o aprendizado e experiências proporcionadas! Desejo a você o melhor, muito sucesso, que Deus a abençoe.

Ao professor Alek Dutra, por ter me proporcionado a oportunidade de ingressar no LAS como bolsista de Iniciação Científica.

A UFC ter sido minha casa nos últimos 7 anos, sem dúvidas foi nesse lugar que vivi algumas das experiências mais importantes da minha vida. Agradeço o suporte financeiro por meio de bolsas que me proporcionaram condições de vivenciar a minha graduação com mais tranquilidade.

“Nada floresce sem sementes. Nada acontece sem fé.”

Autor desconhecido

RESUMO

A carnaúba [*Copernicia prunifera* (Miller) H. E. Moore] é uma espécie rústica, endêmica do bioma Caatinga e suas sementes podem apresentar características morfológicas e fisiológicas diversas. As técnicas de análise de sementes por imagens destacam-se por minimizar a subjetividade do analista proporcionando um resultado rápido e confiável. Dentre estas técnicas, destaca-se o teste de raios X, pois permite a avaliação da morfologia interna e identificar características relacionadas ao potencial fisiológico de sementes. Diante disto, objetivou-se avaliar características morfológicas das sementes de *Copernicia prunifera* e relacionar com o desempenho das plântulas por meio de técnicas de análise de imagens. Para isto frutos de carnaúba foram coletados e as sementes extraídas e identificadas para a realização do teste de raios X, e posteriormente analisadas no software *ImageJ*[®] (*Image Processing and Analysis in Java*) e foram obtidas as variáveis: densidade ótica; circularidade; aspecto elíptico; área (mm²); comprimento e largura de sementes (mm). As sementes foram separadas em classes de acordo com a densidade ótica. Logo após, foi realizado o teste de emergência e posteriormente teste de análise de imagens de plântulas aos 30 e aos 60 dias após a semeadura. As imagens de plântulas foram processadas no software *ImageJ*[®] e foram coletadas as variáveis: Protusão do pecíolo cotiledonar (PPC 60); Emergência aos 60 dias (%); Comprimento do pecíolo cotiledonar aos 30 dias (cm); Comprimento de sistema radicular aos 60 dias (cm); Comprimento de parte aérea aos 60 dias (cm) e Comprimento total de plântulas (cm). As características morfológicas de sementes de carnaúba podem ser analisadas por meio de análise de imagens de forma eficiente. Assim como, características de forma e dimensões das sementes são relacionadas a sua densidade. O desempenho de plântulas não está relacionado as características morfológicas das sementes.

Palavras-chave: *Copernicia prunifera*. Teste de raios X. Morfologia. Biometria.

ABSTRACT

The carnauba [*Copernicia prunifera* (Miller) H. E. Moore] is a rustic species, endemic to the Caatinga biome and its seeds may present diverse morphological and physiological characteristics. The techniques of seed analysis by images stand out by minimizing the subjectivity of the analyst providing a fast and reliable result. Among these techniques, the X-ray test stands out, as it allows the evaluation of the internal morphology and to identify characteristics related to the physiological potential of seeds. The objective of this study was to evaluate the morphological characteristics of the seeds of *Copernicia prunifera* and to relate them to the performance of the seedlings by means of image analysis techniques. For this, carnauba fruits were collected and seeds were extracted and identified for the X-ray test, and later analyzed in ImageJ® software (Image Processing and Analysis in Java) and the following variables were obtained: Optical density; Circularity; Aspect Elliptic; Area (mm²); Length and Width of seeds (mm). The seeds were separated into classes according to optical density. Soon after, the emergency test was carried out and later test of seedling image analysis at 30 days after sowing and test of seedling image analysis at 60 days after sowing. The seedlings images were processed in the ImageJ® software and the following variables were collected: Protrusion of the cotyledonary petiole (PPC 60); Emergency at 60 days (%); Length of cotyledonary petiole at 30 days (cm); Length of root system at 60 days (cm); Length of shoot at 60 days (cm) and Total length of seedlings (cm). The morphological characteristics of carnauba seeds can be analyzed by means of efficient image analysis. Seed shape and size characteristics are related to their density. Seedling performance is not related to the morphological characteristics of the seeds.

Keywords: *Copernicia prunifera*. X ray test. Morphology. Biometry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Estágios de desenvolvimento e morfologia de plântulas de <i>C. prunifera</i> . A- semente com protusão inicial do pecíolo cotiledonar. B- desenvolvimento inicial do pecíolo cotiledonar. C e B- alongamento do pecíolo cotiledonar. (bg = botão germinativo, pc = pecíolo cotiledonar).	1
Figura 2	– Morfologia das plântulas de <i>C. prunifera</i> aos 60 dias. Onde: A (rp = raiz primária; rs = raiz secundária; pb= primeira bainha) e B (pe = primeiro eófilo)	2
Figura 3	– Equipamento de raios X Faxitron MX-20 DC-12. A: Parte externa do equipamento. B: parte interna do equipamento.	8
Figura 4	– Imagens radiográficas de sementes de <i>Copernicia prunifera</i> classificadas com base na densidade ótica apresentada nas imagens de raios X.	8
Figura 5	– Box plot referente a densidade das sementes de carnaúba obtidas a partir de imagens radiográficas, utilizando o software ImageJ [®] .	10
Figura 6	– Imagem radiográfica de sementes de carnaúba evidenciando as regiões de maior densidade por meio de coloração artificial utilizando ferramenta do software ImageJ [®] , em que as regiões de menor densidade são mais escuras e as regiões de maior densidade são claras. A – semente classe I; B – semente classe II; C – semente classe III. (eb= embrião da semente; ct = cotilédone)	11
Figura 7	– Imagens radiográficas de sementes de carnaúba em função das classes de densidade e suas respectivas plântulas aos 30 e 60 dias após a semeadura	14
Figura 8	– Danos observados em sementes de carnaúba da classe I	15
Figura 9	– Danos observados em sementes de carnaúba da classe II.	15
Figura 10	– Danos observados em sementes de carnaúba da classe III.	16

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Médias obtidas para variáveis morfológicas e biométricas de sementes de carnaúba de acordo com as classes de densidade. 12
- Tabela 2 – Resultados da medição de plântulas por imagens de plântulas de carnaúba aos 30 e aos 60 dias. 13

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
cm	Centímetro
mm	Milímetro

LISTA DE SÍMBOLOS

- % Porcentagem
- ® Marca Registrada

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	Aspectos gerais da espécie	3
2.1.1	<i>Qualidade da semente</i>	5
2.1.2	<i>Avaliação do Vigor de Sementes e Plântulas por Análise de Imagens</i>	5
3	METODOLOGIA	7
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
5	CONCLUSÃO	16
	REFERÊNCIAS	17

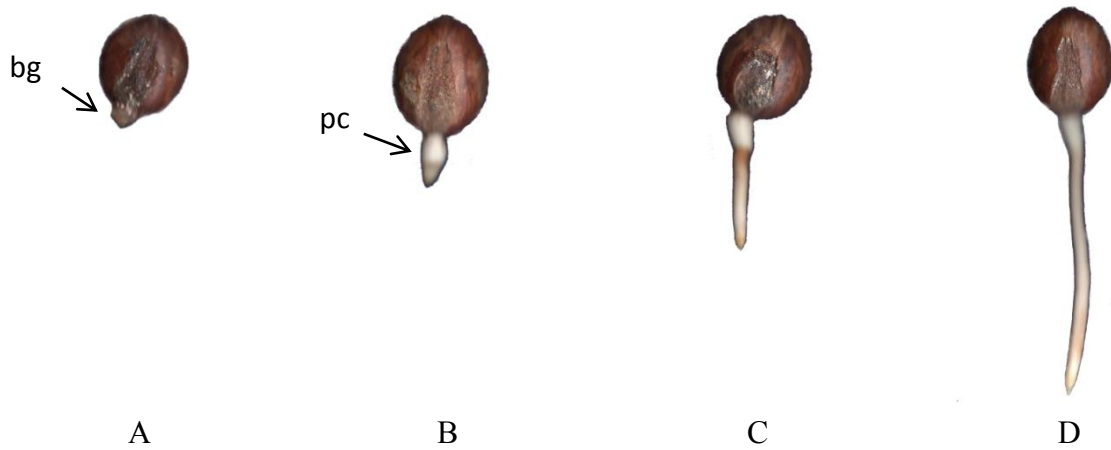
1 INTRODUÇÃO

A carnaúba [*Copernicia prunifera*(Miller) H. E. Moore, Arecaceae] é espécie endêmica do bioma Caatinga e possui relevância social e econômica elevada para a região Nordeste do Brasil (ARAÚJO *et al.*, 2013). Devido à exploração econômica foram constatadas quedas nas populações naturais da espécie (PEREIRA *et al.*, 2014). Nesse contexto, o plantio da carnaúba no reflorestamento da Caatinga representa uma ferramenta essencial para sua conservação e manutenção da população natural desta espécie no ecossistema. Os programas de conservação da biodiversidade vegetal necessitam de um fornecimento de mudas constante e em número considerável.

A germinação desuniforme de sementes de *C. prunifera* (BROSCHAT, 1994) limita a produção de mudas por isso, estudos têm sido feitos com sementes em busca de metodologias que aprimorem o processo inicial de desenvolvimento. O conhecimento das características das sementes fornece subsídio para o desenvolvimento de técnicas de seleção que elevem a qualidade das mudas produzidas. Esta seleção pode estar baseada em parâmetros biométricos como massa de matéria fresca de frutos e tamanho de sementes ou em outras características físicas passíveis de mensuração dependendo da técnica de análise utilizada. A seleção de sementes com maior vigor resulta na formação de plantas com características mais uniformes (MARCOS FILHO, 2015).

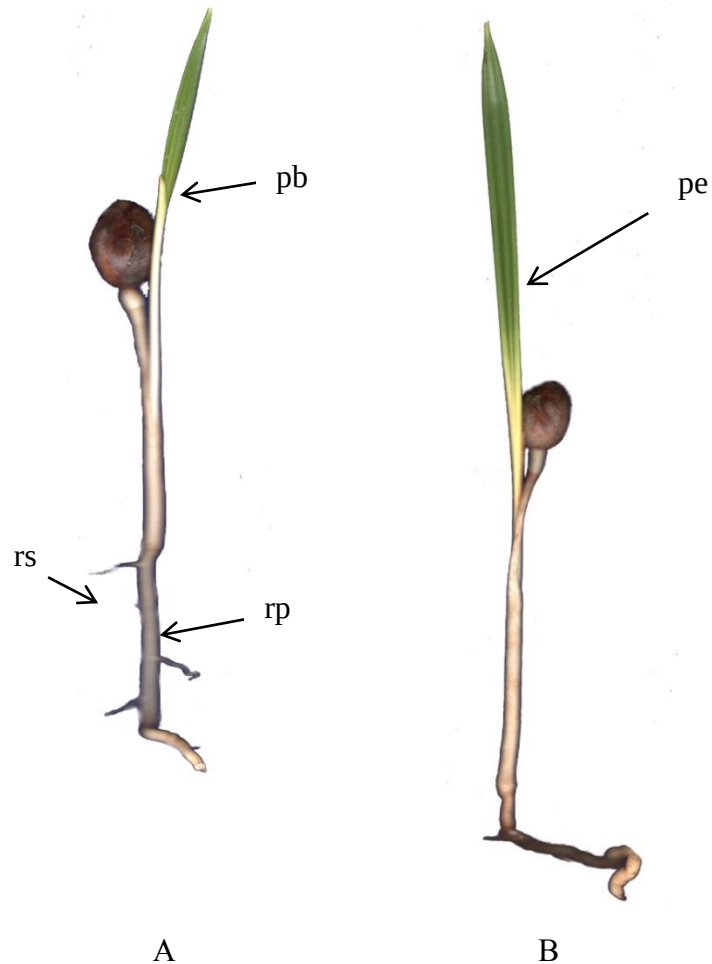
As características morfológicas de sementes e plântulas são importantes e necessárias tanto para identificação da espécie como para padronização de testes de germinação, que levam em conta o padrão das estruturas morfológicas para a avaliação da formação de plântulas normais. As sementes de carnaúba após iniciarem o processo de embebição começam o desenvolvimento do pecíolo cotiledonar que é uma estrutura que prolonga-se a partir dos cotilédones após a expansão do eixo embrionário. Esse tipo de germinação é classificada como germinação remota (COSTA e MARCHI, 2008) sendo típica de palmeiras (Figura 1). O pecíolo cotiledonar pode ser confundido com a raiz primária, porém esta apenas surgirá por volta de 40 dias após a semeadura e é nítida a diferença entre uma estrutura e outra (Figura 2).

Figura 1- Estágios de desenvolvimento e morfologia de plântulas de *C. prunifera*. A- semente com protusão inicial do pecíolo cotiledonar. B- desenvolvimento inicial do pecíolo cotiledonar. C e B- alongamento do pecíolo cotiledonar. (bg = botão germinativo, pc = pecíolo cotiledonar).



Elaborada pela autora

Figura 2- Morfologia das plântulas de *C. prunifera* aos 60 dias.
Onde: A (rp = raiz primária; rs = raiz secundária; pb= primeira bainha) e B (pe = primeiro eófilo)



Elaborada pela autora

Dentre as possibilidades de testes para avaliação de características físicas e fisiológicas de sementes, o teste de raios X tem se destacado tanto em pesquisas como em laboratórios comerciais. Trata-se de uma alternativa segura, rápida e simples de avaliar

sementes e é recomendado pela Associação Internacional de Teste de Sementes (INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION, 2009). Por se tratar de um método de análise não destrutivo é especialmente vantajoso para sementes florestais que estão disponíveis em menor escala do que sementes de plantas cultivadas.

As imagens produzidas no teste de raios X possibilitam a identificação de danos por insetos ou por umidade, malformações morfológicas, espaços vazios no interior da semente e material de reserva disponível para o embrião (ARRUDA, 2017). Os equipamentos utilizados nesta técnica atualmente produzem imagens digitais em escala de cinzas, que podem ser submetidas a softwares de processamento de imagens e assim torna-se possível extrair informações adicionais morfológicas e biométricas que podem ser relacionadas com o vigor das sementes.

Existe ainda a possibilidade de avaliar o vigor de sementes por meio de imagens das plântulas geradas. Dessa forma, as imagens digitais em RGB (Red-Green-Blue) são feitas e então processadas em softwares que podem fornecer informações variadas de acordo com sua especificidade. Quando a técnica de análise de imagens radiográficas de sementes e a de análise de imagens RGB de plântulas são associadas são obtidas informações mais completas e que permitem tomar decisões mais assertivas sobre a qualidade das sementes avaliadas.

Com este trabalho, objetivou-se avaliar características morfológicas das sementes de *Copernicia prunifera* e relacionar com o desempenho das plântulas por meio de técnicas de análise de imagens.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos gerais da espécie

O bioma Caatinga ocupa uma área de 54,43% da região Nordeste do Brasil (IBGE, 2005) e possui riqueza de espécies vegetais nativas de diversas famílias botânicas. A família Arecaceae possui cerca de 200 gêneros de plantas (SOUZA e LORENZI, 2008) que além de sua importância ecológica podem ser exploradas agronomicamente com finalidades de ornamentação, produção de frutos e outros produtos vegetais. O gênero *Copernicia* possui mais de 28 espécies e destaca-se por englobar espécies nativas de grande relevância econômica para o Nordeste brasileiro. No Ceará, pode ser encontrada uma coleção na Fazenda Raposa (Maracanaú- CE) contendo *C. prunifera* (nativa), *C. hospita*, *C. alba*, *C. macroglossa*, *C. curtisii*, *C. glabresens*, *C. baileyana*, *C. burretiana*, *C. cowellii* entre outras nativas ou introduzidas (QUEIROGA, 2017).

A carnaúba [*Copernicia prunifera* (Miller) H. E. Moore] é uma palmeira nativa do bioma Caatinga e sua dispersão natural se dá ao longo de vários estados do Nordeste do Brasil destacando-se no Ceará, Rio Grande do Norte e no Piauí (LEITMAN et al., 2015). Diversos produtos podem ser obtidos a partir da carnaúba, o mais conhecido e valorizado economicamente é a cera produzida por suas folhas porém podem ser utilizadas para fazer desde artesanatos até aplicações na construção civil. Além disso, os frutos, as raízes e fibras podem ser aproveitados na geração de renda, até mesmo as folhas secas são aproveitadas para cobertura do solo e sua preservação (VIEIRA et al., 2015).

Devido a intensa remoção das folhas imaturas, das quais se extrai a cera, foi constatada a diminuição das populações de carnaúba e conseqüentemente houve queda na diversidade genética (SANTOS, 2017). Vieira et al., 2016 estudando a exploração econômica de carnaúba constatou que para o evitar prejuízos ao desenvolvimento da planta a remoção de folhas imaturas deve ser de no máximo 25%, porém foi observada a remoção de 50 a 75% das folhas o que prejudica a formação de novas folhas, sementes e frutos. Dessa forma, fazem-se necessários estudos que forneçam informações para o manejo adequado de *C. prunifera*, de maneira que sua existência e variabilidade não sejam ameaçadas.

Por conta desse decréscimo da presença natural da carnaúba seu uso tem sido recomendado em programas de reflorestamento na Caatinga porque esta espécie também é importante para preservação da água em ecossistemas (PEREIRA, 2011). Para esta finalidade é preciso um sistema de produção de mudas que as disponibilize atendendo essas demandas. Assim, são necessários alguns conhecimentos, por exemplo, sobre a biologia da espécie e suas formas de reprodução para obter êxito no desenvolvimento de estratégias para preservação e produção da carnaúba.

Em relação as suas características botânicas, a *C. prunifera* é uma monocotiledônea, monóica e alógama, ou seja, ocorrem cruzamentos entre indivíduos da espécie o que proporciona características diversificadas em sementes produzidas por uma mesma planta. Portanto, é imprescindível uma boa seleção do material propagativo, a semente, para então obter uma produção de mudas com características desejáveis e uniformes. Porém, ainda existem lacunas no conhecimento sobre a propagação sexuada da carnaúba (QUEIROGA, 2017), com isso pesquisas que fornecem dados sobre sementes são de grande importância para o desenvolvimento da tecnologia de sementes. Principalmente no caso de sementes de plantas florestais, como a carnaúba, pois em geral possuem menor germinação e uniformidade do que plantas que já são cultivadas em larga escala e passaram por melhoramento genético (REIS, 2010).

2.1.1 Qualidade da semente

As sementes de carnaúba geralmente são coletadas após sua separação da planta mãe quando estão no solo, devido o porte elevado desta palmeira que pode medir entre 7 e 10 metros e em alguns casos até um pouco mais. Logo, as sementes coletadas podem apresentar potencial fisiológico máximo ou não, pois quando alcança sua maturidade fisiológica a semente expressa seu máximo vigor, após esse momento podem passar a ocorrer reações bioquímicas naturais ou danos por fatores ambientais e durante o beneficiamento das mesmas, que reduzem sua qualidade inicial (MARCOS FILHO, 2015).

Os atributos que definem a qualidade de sementes são genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários, sendo que todos esses são igualmente importantes para a obtenção de um desempenho satisfatório de plântulas em campo. Aspectos como o tamanho, o peso e a composição química das sementes podem estar relacionados a sua qualidade física e fisiológica (SANTOS *et al.*, 2005). As sementes devem apresentar um conjunto de características que lhes permitam germinar uniformemente e se estabelecerem em condições de campo. Para carnaúba, OLIVEIRA e BOSCO, (2013) mostram que existe grande variação no tamanho de sementes, além disso, de acordo com Reis (2010) a germinação em palmeiras é lenta e desuniforme.

Existem algumas formas de avaliação prévia para estimar o comportamento das sementes em campo, os testes de vigor são baseados no desempenho de lotes de sementes e, para identificação de lotes de maior qualidade, estes são submetidos a testes que os comparam entre si para que dessa forma sejam observadas diferenças ou alterações em seu vigor inicial. Para cada espécie vegetal existem parâmetros específicos de avaliação da qualidade de sementes, sendo que um dos primeiros sinais de declínio do vigor fisiológico é a diminuição na velocidade e no total de germinação das sementes (MARCOS FILHO, 2015). Por isso, são realizadas análises como o teste de primeira contagem, índice de velocidade de germinação (IVG), emergência, índice de velocidade de emergência (IVE), entre outros que avaliam variáveis relativas ao potencial de germinação e desempenho de plântulas. Assim, lotes que apresentam sementes com alta porcentagem, uniformidade e velocidade de germinação podem ser classificados como de alto vigor fisiológico.

2.2.1 Avaliação do vigor de sementes e plântulas por análise de imagens

O potencial fisiológico de sementes pode ser avaliado por meio de suas características morfológicas e físicas, tais como preenchimento dos tecidos de reserva, tamanho e localização do embrião além de outras características como a presença de danos por insetos e danos por umidade (FORTI; CICERO; PINTO, 2010). Porém, nem sempre as

características mencionadas são visíveis a facilmente visíveis pela avaliação da aparência externa da semente. Assim, são necessárias técnicas específicas para essas avaliações, sendo o teste de raios X uma técnica que se destaca por possibilitar análise das características internas das sementes (ARRUDA, 2016). O princípio da técnica radiográfica adapta-se ao estudo de sementes pois, a radiação aplicada é regulada em baixa intensidade e não provoca alterações morfológicas ou fisiológicas, sendo apenas suficiente para observar diferenças na densidade ou integridade física dos tecidos biológicos (JEROMINI et al., 2019).

As sementes florestais devido sua rusticidade podem comumente apresentar malformações no embrião ou sementes vazias, o que dificulta sua propagação em maior escala. Socolowski et al., (2011) aplicando o teste de raios X em sementes de pimenta macaco (*Xylopia aromatica* Lam. Mart.) encontrou resultados que permitiram elevar a qualidade do lote de sementes através da eliminação de sementes malformadas ou danificadas por insetos. Silva, Sarmiento & Silveira (2013), mensuraram áreas livres internas em sementes de *Acca sellowiana* por meio de imagens radiográficas. Os trabalhos mencionados estudaram espécies florestais do bioma Cerrado e encontraram resultados promissores utilizando a técnica de raios X porém, para espécies do bioma Caatinga existe uma lacuna nos estudos que forneçam este tipo de informação.

A análise de plântulas por meio de imagens em RGB é uma técnica que otimiza o tempo necessário para avaliação, além de aumentar a precisão dos resultados, visto que os dados obtidos são calculados via programas de processamento de imagens e, dessa forma, eliminam a subjetividade do analista (CASTAN, 2017). Diferente dos testes de vigor tradicionais, na avaliação automatizada por meio de imagens de plântulas, os softwares são capazes de realizar a contagem de pixels e, alguns softwares em especial, calculam automaticamente o comprimento de plântulas (raiz e parte aérea) em centímetros além de outros índices de vigor.

O software *ImageJ*® (*Image Processing and Analysis in Java*) é um programa de acesso livre que analisa diversos tipos de imagens e que pode ser utilizado para diversas áreas de estudo desde agrônomicas, como em análises de área foliar até em áreas médicas para medições biométricas. Na análise de sementes, imagens radiográficas podem ser processadas no *ImageJ*® para obtenção de dados biométricos ao invés de técnicas tradicionais com o uso de paquímetros e régua e assim é possível obter medições mais precisas e de maneira mais rápida diminuindo a subjetividade do analista. Também podem ser analisadas neste programa imagens em RGB das plântulas e com a disponibilidade de ferramentas do *ImageJ*® podem

ser feitas medições e outras análises relativas a morfologia. Além disso, os dados gerados são facilmente exportados para um editor de planilhas e dessa forma facilita a análise posterior.

Através da análise automatizada de imagens também é possível a criação de bancos de imagens de sementes e plântulas que permitem maior intercâmbio de informações. Diante do que foi exposto pode-se perceber que existem tecnologias disponíveis que ainda podem ser melhor exploradas em pesquisas científicas na área de tecnologia de sementes e, dessa forma, difundir o uso das técnicas de análise de imagens na avaliação de sementes e plântulas.

3 METODOLOGIA

As sementes foram coletadas na Fazenda Experimental Raposa da Universidade Federal do Ceará em Fortaleza (UFC), localizada em Maracanaú-CE durante o mês de fevereiro de 2018. Para a extração das sementes os frutos foram colocados para secagem, a polpa e o endocarpo foram removidos pressionando-os com uma desempenadeira de madeira contra uma bancada de cimento conforme Reis et al. 2010.

O experimento foi conduzido no Laboratório de Análises de Sementes no Centro de Ciências Agrárias, (LAS/CCA/UFC), Ceará, Brasil.

Teste de raios X: Após a coleta, as sementes foram enviadas para o Departamento de Produção Vegetal da “Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (LPV/ESALQ/USP), em Piracicaba, Estado de São Paulo, para realização do teste de raios X. Foi utilizada embalagem semi permeável para o transporte das sementes. A análise radiográfica foi realizada no Laboratório de Análise de Imagens da ESALQ. Para o teste de raios X as sementes foram dispostas em posição semelhante e de forma identificada, numa sequência de 1 a 198. Para aquisição das imagens foi usado o equipamento Faxitron modelo MX-20 DC-12 (Figura 1 A e B), em que utilizou-se a quarta prateleira do equipamento. As imagens foram realizadas em tempo real, com o equipamento conectado a computador Core 2 Duo (3.16 GHz, 2 GB de memória RAM, Disco Rígido de 160 GB) e Monitor MultiSync (LCD1190SX com 17 polegadas).

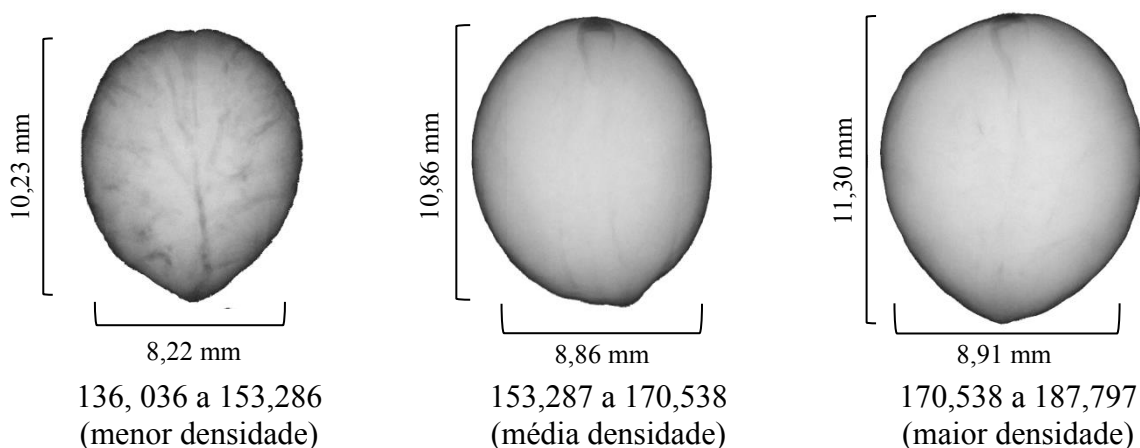
Figura 3- Equipamento de raios X Faxitron MX-20 DC-12. A: Parte externa do equipamento. B: parte interna do equipamento.



Fonte: Abud, 2018

Análise de imagens de sementes: Para a coleta de variáveis das sementes analisadas, as imagens de raios X das sementes de carnaúba foram processadas utilizando o software *ImageJ*[®] (*Image Processing and Analysis in Java*) em computador com processador Core i5-6400 CPU (2.7 GHz, 4 GB de memória RAM) e monitor Lenovo. Foram coletadas as seguintes variáveis: **Densidade ótica** (Valor médio de cinza); **Circularidade** = $(4\pi \times \frac{\text{Área}}{\text{Perímetro}})$; **Aspecto Elíptico** = $(\frac{\text{Eixo maior}}{\text{Eixo menor}})$ e **Área** (mm²). Também foram medidos **comprimento** e **largura** das sementes de carnaúba em mm. Como não foram observadas sementes vazias ou com espaços internos livres as sementes foram classificadas de acordo com sua densidade individual dentro de classes baseadas na amplitude dos valores obtidos para densidade ótica, que variou de 136,036 a 187,797, foram estabelecidas três classes de sementes (Tabela 1) com os seguintes intervalos:

Figura 4 – Imagens radiográficas de sementes de *Copernicia prunifera* classificadas com base na densidade ótica apresentada nas imagens de raios X.



Elaborada pela autora.

Teste de emergência: foi realizado em casa de vegetação anexa ao LAS-UFC, durante os meses de junho a agosto de 2018, a temperatura média foi de 26°C (CLIMATEMPO, 2019). Foram utilizados recipientes plásticos transparentes com volume de 0,5 L preenchidos com substrato vermiculita que foi mantido irrigado, próximo a capacidade de campo. Considerou-se para cálculo da emergência todas as sementes que emitiram pecíolo cotiledonar acima de 2 mm. Foi calculada a porcentagem de **protusão do pecíolo cotiledonar** aos 60 dias (PPC 60).

Análise de imagens de plântulas: a identificação inicial das sementes foi mantida e as plântulas foram escaneadas seguindo essa ordem. A primeira coleta de imagens foi aos 30 dias por meio de um sistema de captura de imagens adaptado constituído por caixa para vedação de luz externa na qual estava inserido o escâner modelo Epson V19 conectado a *notebook*. As plântulas foram removidas cuidadosamente do substrato, lavadas, foi retirado o excesso de água e, em seguida, foram escaneadas. Após essa análise, as sementes foram devolvidas ao substrato e permaneceram em casa de vegetação por mais 30 dias. As imagens foram produzidas em formato RGB com resolução de 300 dpi e armazenadas para posterior análise. A segunda aquisição de imagens de plantas foi realizada aos 60 dias, de maneira semelhante a descrição acima.

Variáveis de plantas: todas as plântulas foram medidas, porém devido o desenvolvimento lento da carnaúba estabeleceu-se o critério de que apenas quando houve formação de plantas normais aos 60 dias foram submetidas a análise estatística que foi feita a partir de dados coletados das imagens em RGB de plantas de carnaúba, no *software ImageJ*[®].

30 dias: **comprimento de pecíolo cotiledonar** (cm)

60 dias: nesta pesquisa adotou-se **emergência aos 60 dias** (%), que é número de sementes da classe dividido pelo número de plantas normais formadas, **comprimento do sistema radicular (pecíolo cotiledonar + raiz primária)** (cm), o **comprimento da parte aérea** (cm) e **comprimento total das plântulas** (cm).

Presença de danos: para caracterizar os possíveis danos nas classes de sementes de carnaúba foi realizada uma análise qualitativa nas imagens radiográficas.

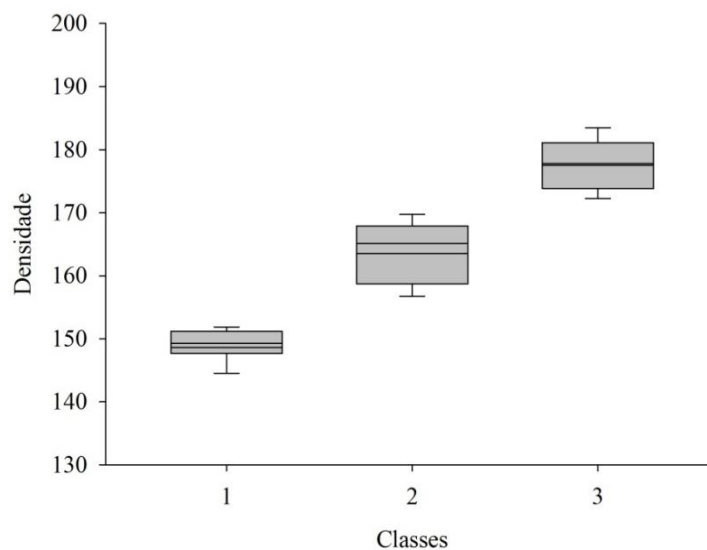
Para a análise estatística das variáveis quantitativas relativas as imagens de raios X das sementes e para o teste de emergência o delineamento foi inteiramente casualizado desbalanceado com n=27 para a classe I, n=70 para classe II e n = 101 para a classe III. Para a análise estatística de variáveis de plantas aos 30 e 60 dias o delineamento foi inteiramente casualizado com número de repetições desiguais por classe n = 6 na classe I, n = 26 na classe

II e $n = 36$ na classe III. Os dados foram submetidos ao teste de Tukey para comparação de médias com nível de significância de 5%

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 5 pode-se observar a distribuição dos valores de densidade ótica nas classes de sementes. Para a classe I observa-se comportamento assimétrico á esquerda com a maioria das sementes localizadas no terceiro quartil e algumas apresentando valores de densidade inferiores a 150. Já para as sementes da classe II a distribuição foi assimétrica a direita. Para a classe III foi observada uma distribuição simétrica dos dados com 50% das sementes apresentando valores entre 175 e 181 e poucas sementes acima ou abaixo desses valores o que evidencia uma distribuição uniforme da densidade nas sementes desta classe. Ressalta-se que esta foi a classe de maior frequência para as sementes analisadas.

Figura 5 – Box plot referente a densidade das sementes de carnaúba obtidas a partir de imagens radiográficas, utilizando o software ImageJ[®].



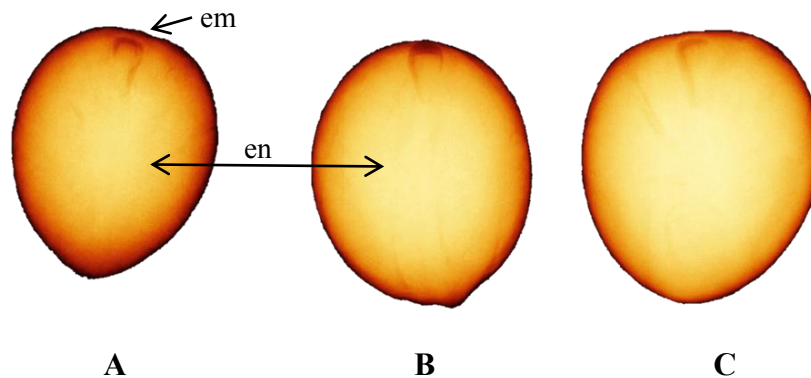
Elaborada pela autora

Ainda analisando a densidade das sementes observou-se que o padrão da morfologia interna nas sementes de carnaúba é o endosperma preenchido uniformemente como foi visto nas sementes das classes II e III que juntas representam 86,36% das sementes analisadas nesta pesquisa. Esta variável é baseada na escala de cinzas de acordo com a imagem formada das sementes pelo teste de raios X. Quanto maior a absorção de radiação mais áreas claras estão presentes nas imagens radiográficas elevando o valor da densidade ótica. As sementes de carnaúba apresentaram elevada radioabsorbância, ou seja apresentaram

elevada resistência a passagem dos raios X visto que a escala da densidade varia de 0 a 255 e a maior parte das sementes apresentou valores de densidade acima de 155.

Na Figura 6 é possível verificar as partes internas das sementes de carnaúba, evidenciando a localização do embrião e endosperma. O embrião pode ser classificado como pequeno e basal de acordo com a classificação de Groth (1984). O endosperma da semente ocupa grande parte da sua área. Além disso, é possível diferenciar por meio das imagens radiográficas regiões de maior e menor densidade em cada semente.

Figura 6 – Imagem radiográfica de sementes de carnaúba evidenciando as regiões de maior densidade por meio de coloração artificial utilizando ferramenta do *software ImageJ*[®], em que as regiões de menor densidade são mais escuras e as regiões de maior densidade são claras. **A**- semente classe I; **B** – semente classe II; **C** – semente classe III. (em= embrião da semente; en = endosperma)



Fonte: elaborada pela autora.

Não foram observadas sementes vazias em nenhuma das classes, porém a classe I apresentou maiores espaços internos livres, que são espaços vazios entre o endosperma e o tegumento das sementes ou falhas na morfologia interna do material de reserva, destoando do padrão observado para a *C. prunifera*. Este fato justifica a diminuição da densidade média das sementes da menor classe. No entanto, Kobori et al., 2012, estudando sementes de mamona observou que tanto sementes parcialmente preenchidas como sementes totalmente preenchidas geraram plântulas normais e ambas as classes de sementes também foram observadas sementes mortas. Ressalta-se que para algumas espécies a ocorrência de espaços internos livres na semente está associada ao menor vigor (Arruda, 2016) devido a menor disponibilidade de material reserva que fornece energia para os processos metabólicos durante o processo germinativo.

Como o objetivo dessa pesquisa inclui caracterizar a morfologia interna das sementes de carnaúba, até então desconhecida, nenhuma das sementes foi descartada do

experimento mesmo quando foram observados espaços livres internos ou danos. Algumas sementes da classe I conseguiram emergir e formar plantas normais aos 60 dias mesmo diante da menor disponibilidade de reserva energética porém o percentual foi de no máximo 22,22%.

O formato das sementes também apresentou variação significativa de acordo com a densidade das sementes, sendo que aquelas menos densas apresentaram forma menos circular como mostra o comportamento da variável circularidade que foi menor para a classe I e maior para a classe III diferindo estatisticamente das demais. Quanto mais elevada foi a densidade óptica mais o formato das sementes apresentou forma semelhante ao círculo perfeito chegando a 83% de semelhança para a classe III, de maior densidade (Tabela 1).

Esse fato pode facilitar a seleção de sementes visto que por meio de avaliação visual é possível comparar dentre as sementes disponíveis quais apresentam formato mais circular e dessa forma inferir sobre sua densidade e conteúdo de reserva energética visto que a maior parte do interior da semente da carnaúba é ocupado pelo tecido cotiledonar.

Tabela 1 – Médias obtidas para variáveis morfológicas e biométricas de sementes de carnaúba de acordo com as classes de densidade.

Onde: F% = frequência; DS = Densidade ótica; Circ = Circularidade; AE = Aspecto elíptico; Área = área das sementes em mm²; C = comprimento das sementes em mm; L= largura das sementes em mm; Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Classe	F %	DS	Circ	AE	Área	C	L
I	13,64	148,62 a	0,59 a	81,45 a	69,11 a	10,63 a	8,30 a
II	35,35	163,55 b	0,73 b	102,16 b	76,80 b	11,20 b	8,72 b
III	51,01	177,83 c	0,83 c	129,43 c	88,2 c	11,99 c	9,31 c
CV%	---	2,67	8,62	11,18	9,8	6,03	5,39

Elaborada pela autora

Também foi possível analisar o formato de sementes de *C. prunifera* por meio de outra variável, sendo esta obtida por meio da relação entre seu comprimento e sua largura (AE). Verificou-se que houve uma relação direta entre o aspecto elíptico e a densidade das sementes (Tabela 2). Quanto a área das sementes, verificou-se que está relacionada com a densidade, de forma que quanto maior a densidade das sementes maior a área. Para as variáveis biométricas o comportamento observado foi semelhante sendo que as dimensões das sementes, comprimento e largura estão diretamente relacionados com a densidade apresentada (Tabela 1).

Para verificação do desempenho de plantas em função das características morfológicas das sementes dentro de cada classe, observou-se a emergência aos 60 dias após a semeadura. Aos 60 dias após a semeadura verificou-se que a maior porcentagem de

emergência ocorreu na classe III (Tabela 2).

Na Tabela 2 observa-se os dados referentes ao desempenho de plantas aos 30 e 60 dias após a semeadura em função da densidade das sementes. Aos 30 dias após a semeadura, em função do desenvolvimento lento das plantas de carnaúba foi medido apenas o comprimento do pecíolo cotiledonar. Verificou-se uma grande amplitude para esta variável tendo em vista que a desuniformidade de desenvolvimento é elevada. No entanto, verificou-se que não houve diferença de desempenho em função da densidade das sementes, em que o comprimento do pecíolo cotiledonar apresentou desenvolvimento semelhante entre as três classes (Tabela 1).

Aos 60 dias após a semeadura, houve o desenvolvimento de parte aérea das plântulas, o que permitiu a mensuração do comprimento para as diferentes partes das plantas. O mesmo padrão de desenvolvimento foi mantido, em que não houve diferença de comprimento de sistema radicular, de parte aérea e, conseqüentemente, de comprimento total de plantas (Tabela 2).

Oliveira e Bosco (2013), estudando *Copernicia hospita* observaram que não houve relação entre o tamanho das sementes e o percentual de emergência que foi de aproximadamente 70% para todas as sementes estudadas.

Tabela 2. Resultados da medição de plântulas por imagens de plântulas de carnaúba aos 30 e aos 60 dias.

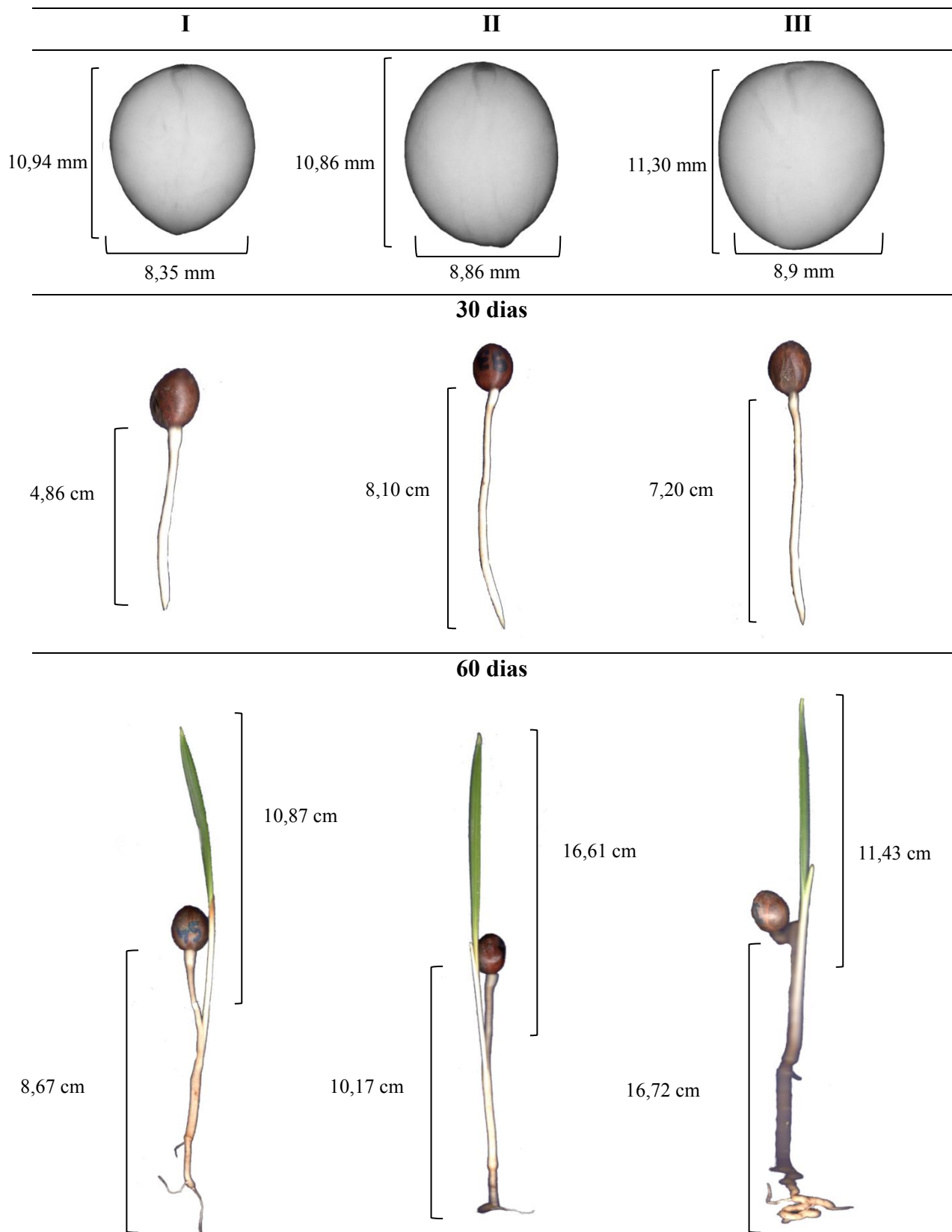
Variáveis: DSO = densidade ótica; PPC 60 = Porcentagem de Protusão do pecíolo cotiledonar; E 60 = Emergência aos 60 dias; SR 30= comprimento do sistema radicular aos 30 dias; SR 60 = comprimento do sistema radicular aos 60 dias; CTP= comprimento total de plantas. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Classe	DSO	PPC 60	E 60	SR 30	SR 60	PA 60	CTP
I	148,62 a	55,55 a	22,22 a	5,01 a	12,18 a	11,44 a	23,62 a
II	163,55 b	71,43 ab	37,14 a	7,14 a	13,49 a	12,29 a	25,78 a
III	177,83 c	88,12 b	35,64 a	6,62 a	13,37 a	12,27 a	25,64 a
CV %	2,67	51,70	138,59	48,53	24,31	20,13	19,55

Elaborada pela autora

Na Figura 7 é possível verificar as imagens radiográficas das sementes de carnaúba nas três classes de densidade, além de imagens de plântulas aos 30 e 60 dias após a semeadura, em que é possível verificar as partes de plantas em diferentes estádios de desenvolvimento.

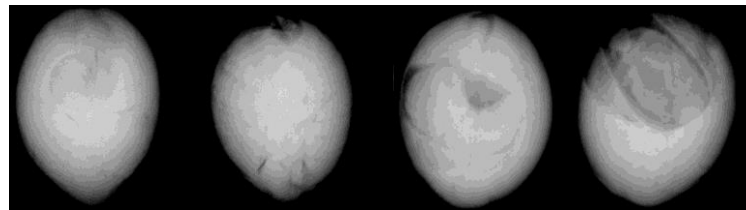
Figura 7 – Imagens radiográficas de sementes de carnaúba em função das classes de densidade e suas respectivas plântulas aos 30 e 60 dias após a semeadura.



De modo geral foi observado que a qualidade das classes de sementes foi reduzida pela presença de danos diversos como danos por insetos e malformações embrionárias. Pelas imagens de raios X foram detectados danos por insetos em 13 sementes (6,56%) distribuídas nas três classes. Deste total, quatro sementes (30,76%) estavam na classe I, quatro sementes (30,76%) na classe II e cinco sementes (38,46%) na classe III.

Na classe de menor densidade 14,8% das sementes estavam danificadas, das quais apenas uma semente emitiu pecíolo cotiledonar observado aos 30 dias. Este fato pode estar relacionado com a localização medial do dano, já que o eixo embrionário está localizado em outra região da semente e, portanto não foi diretamente afetado pelo dano. Contudo aos 60 dias, para essa semente, não houve formação de planta normal. Nas demais sementes danificadas da classe I (Figura 8) a região embrionária foi afetada e não foi observada a protusão do pecíolo cotiledonar, pois os danos atingiram o eixo embrionário.

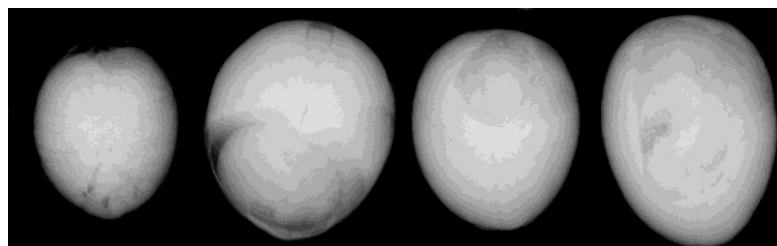
Figura 8 – Danos observados em sementes de carnaúba da classe I.



Elaborada pela autora

Na classe II foram encontradas três sementes com danos na região do embrião e uma na região oposta totalizando 5,71% de sementes desta classe, nenhuma delas germinou. Na classe III duas sementes apresentaram danos na região medial, das quais uma germinou e outras três apresentaram danos na região do embrião destas nenhuma germinou (Figura 9).

Figura 9- Danos observados em sementes de carnaúba da classe II.

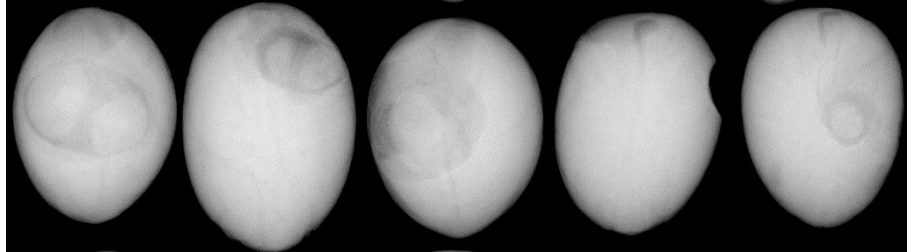


Elaborada pela autora

Nas classes II e III foram observadas sementes cujo embrião não pode ser localizado na

imagem de raios X. Para estas sementes, após a semedura e avaliação os 30 e 60 dias, foi verificado que nenhuma delas chegou a emitir pecíolo cotiledonar (Figura 10).

Figura 10- Danos observados em sementes de carnaúba da classe III.



Elaborada pela autora

5 CONCLUSÃO

As características morfológicas de sementes de carnaúba podem ser analisadas por meio de análise de imagens de forma eficiente. Características de forma e dimensões das sementes são relacionadas a sua densidade.

O desempenho de plântulas não está relacionado as características morfológicas das sementes.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, L. H. B.; SILVA, R. A. R.; DANTAS, E. X.; SOUSA, R. F.; VIEIRA, F. A. Germinação de sementes da *Copernicia prunifera*: biometria, pré-embebição e estabelecimento de mudas. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 17, p. 1517-1528, 2013.

ARRUDA, N. Avaliação da morfologia interna de sementes de citrumelo ‘Swingle’ por meio de raios X. **Tese**, USP, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 2016.

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, set.2010.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro (IBGE) -. **Mapa de Biomas e de Vegetação**. 2005

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **International rules for seed testing**. Zurique: ISTA, 2009. p. 180.

JEROMINI, T. S.; CHALITA, C. M. ; PEREIRA, F. E. C. B.; GOMES JÚNIOR, F. G . **Revista Ciência Agronômica**; Fortaleza Vol. 50, Ed. 3, (2019): 439-446.

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

LEITMAN, P.; SOARES, K.; HENDERSON, A.; NOBLICK, L.; MARTINS, R. C. **Areaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015.

MARCOS FILHO, J. *et al.*. Using tomato analyzer software to determine embryo size in x-rayed seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 2, p. 146-153, 2010.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: FEALQ, 2015.

NUNES, Renan Thiago Carneiro; SOUZA, Ubiratan Oliveira Souza, MORAIS, Otoniel Magalhães; LOURENÇO, Caíque Moreira Silveira. Análise de imagens na avaliação da qualidade fisiológica de sementes. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v9, n. 5, p. 84 – 90, 2014.

OLIVEIRA, A B.; BOSCO, M. R. O. Biometria, determinação da curva de absorção de água em sementes e emergência inicial de plântulas de *Copernicia hospita* Martius. **Revista Brasileira de Agroecologia**, [S.l.], v. 8, n. 1, apr. 2013.

PEREIRA, Magnum de Sousa. Manual técnico Conhecendo e produzindo sementes e mudas da caatinga. Fortaleza: Associação Caatinga, 2011

PEREIRA, D. S., SOUSA, J. E. S, PEREIRA, M. S., Gonçalves, N. R., Bezerra, A. M. E. **Emergence and initial growth of *Copernicia prunifera* (Arecaceae) as a function of fruit maturation**

QUEIROGA, V. P. **Carnaubeira: Tecnologias de Plantio e Aproveitamento Industrial**. 2ed. AREPB, 2017.

REIS, R. G. E., BEZERRA, A. M. E. , GONÇALVES, N. R., PEREIRA, M. S. e FREITAS, J. B. S. Biometria e efeito da temperatura e tamanho das sementes na protrusão do pecíolo cotiledonar de carnaúba. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 1, p. 81-86, jan-mar, 2010

SANTOS, J. R. M. **Modelagem de nicho ecológico e diversidade genética (de *Copernicia prunifera* (Miller) H. E Moore) (Arecaceae) : Implicações para conservação.**, Dissertação, 2017.

SANTOS, P. M.; REIS, M. S.; SEDIYAMA, T.; ARAUJO, E. F.; CECON, P. R.; SANTOS, M. R. Efeito da classificação por tamanho da semente de soja na sua qualidade fisiológica durante o armazenamento qualidade fisiológica durante o armazenamento. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 27, n. 3, p.395-402, 2005.

SILVA, F. D. B. **Estudos morfo-fisiológicos e conservação de sementes de *Copernicia prunifera* (Miller) H. E Moore**. 2007. 68 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SILVA, F. D. B. MEDEIROS FILHO, S., BEZERRA, A. M. E., FREITAS, J. B. S. e ASSUNÇÃO, M. V. Pré-embebição e profundidade de semeadura na emergência de *Copernicia prunifera* (Miller) H. E Moore. **Revista Ciência Agronômica**, v. 40, n. 2, p. 272-278, abr-jun, 2009.

SILVA, S.A.; MARCOS FILHO, J.; KRZYZANOWSKI, F.C. Teste de raios x para avaliação da ocorrência de injúrias mecânicas em sementes de trigo. **Informativo ABRATES**, Londrina, v. 21, n. 2, ago. 2011. CD-ROM. Edição dos Anais do XVII Congresso Brasileiro de Sementes., Natal, ago. 2011.

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

SILVA, P. P., BARROS, A. C. S. A., MARCOS FILHO, J., GOMES JUNIOR, F. G. NASCIMENTO, W. M.. Assessment of squash seed vigor using computerized image analysis. **Journal of Seed Science**, v.39, n.2, p.159-165, 2017.

SOCOLOWSKI, F., CICERO, S. M., & VIEIRA, D. C. M. (2011). Seed weight of *Xylopia aromatica* (Annonaceae): quality evaluation from X-ray and seedling emergence. **Scientia Agricola**, 643-646.

SOUZA, V.C.,LORENZI, H., 2008. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil**, baseado no APG II. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2. ed., 324p.

VIEIRA, I. R. ; OLIVEIRA, J. S.; VEROLA, C. F.; LOIOLA, M. I. B. Traditional knowledge, use, and management of *Copernicia prunifera* H.E. Moore (carnaúba) in Northeastern Brazil. **Revista Espacios**. Vol. 37 (Nº 08) Año 2016. Pág. 18.