

**AValiação da Qualidade Fisiológica de Sementes de Café por
Meio de Análise de Imagens de Plântulas**

GABRIEL CASTANHEIRA GUIMARÃES¹, MARK BENNETT²; RENATO MENDES
GUMARÃES³, STELLA DELLYZETE VEIGA FRANCO DA ROSA⁴

RESUMO

A análise de imagens digitais consiste na captura da imagem para geração de dados dimensionais, como comprimento e área, ou atributos, como cor e textura, e a sua mensuração através de métodos de contagem ou frequência. A avaliação da viabilidade de sementes por meio da análise de imagens tem objetivo econômico e prático. Com base nestas informações, o trabalho foi realizado com o objetivo de comparar os testes de germinação por análise de imagem e pelo método convencional, com sementes de café, para saber se o método de análise de imagens é eficiente para determinar a germinação do café antecipadamente e de forma mais prática. Foram utilizados dois lotes de sementes de café, da mesma espécie, que foram submetidos a diferentes métodos de secagem, um dos lotes foi seco em estufa de circulação forçada de ar, e o segundo foi seco em forno com temperatura mais elevada. Após a avaliação dos dois testes, foi observado que o método da análise de imagens pode fornecer com precisão a germinação e o vigor das sementes de café de um modo mais prático e econômico que o teste convencional.

Palavras-chaves: viabilidade, imagem, café, germinação.

INTRODUÇÃO

A cafeicultura no Brasil é uma das atividades agrícolas de maior expressão, tanto pelo volume de recursos financeiros envolvidos, como pelo emprego de significativa quantidade de mão de obra, com decisiva contribuição no desenvolvimento dos municípios nas regiões produtoras.

As lavouras de café são implantadas a partir de mudas, e um dos pontos críticos para sua produção é a obtenção de sementes de qualidade. Muitas etapas e cuidados devem ser dispensados durante o processo que deve ser finalizado com a análise para avaliação da qualidade final do processo, para garantir sementes de alta viabilidade e vigor para formação das mudas com a qualidade necessária para a formação de lavouras vigorosas e produtivas. Entretanto a avaliação da qualidade de sementes de café é um processo trabalhoso e demorado, já que depende da retirada do pergaminho para a realização do teste de germinação, que tem duração de trinta dias ou da retirada dos embriões, atividade que exige muita habilidade e tempo do laboratorista, quando se deseja resultados mais rápidos utilizando o teste de tetrazólio.

A avaliação da qualidade por meio de análise de imagens é uma técnica estudada para várias culturas e tem se mostrado promissora para automação da avaliação de testes de viabilidade e vigor em sementes, com potencial inclusive para reduzir o tempo necessário para emissão dos resultados.

Pesquisadores da universidade de Ohio desenvolveram metodologia para análise de imagens de plântulas por meio de captura das imagens em “scanners” e análise do desenvolvimento e uniformidade das mesmas, com auxílio de um programa computacional. A esse sistema de análise de imagens foi denominado Seed Vigor Image System - SVIS[®].

Diante disso, o objetivo nessa pesquisa foi avaliar metodologias para a determinação da qualidade fisiológica de sementes de café, utilizando a técnica de análise de imagens por meio do SVIS[®].

¹ Mestrando em Fitotecnia, DAG/UFLA, midi_br@yahoo.com.br

² Professor Titular, Horticulture/OSU, bennett.18@osu.edu

³ Professor Associado, DAG/UFLA, mgrenato@ufla.br

⁴ Pesquisadora Embrapa, DAG/UFLA, sttelaveiga@dag.ufla.br

¹ Mestrando em Fitotecnia, DAG/UFLA, midi_br@yahoo.com.br

¹ Professor Titular, Horticulture/OSU, bennett.18@osu.edu

³ Professor Associado, DAG/UFLA, mgrenato@ufla.br

⁴ Pesquisadora Embrapa, DAG/UFLA, sttelaveiga@dag.ufla.br

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no Laboratório Central de Sementes do Departamento de Agricultura da UFLA, no período de setembro a dezembro de 2008, e no Department of Horticulture and Crop Science da OSU, na cidade de Columbus/Ohio/US, no período de janeiro a junho de 2009.

Foram utilizados dois lotes de sementes de café (*Coffea arabica* L.) da cultivar Rubi, com diferentes níveis de qualidade fisiológica, obtidos em lavouras da UFLA. Após determinação do teor de água, a umidade das sementes foi uniformizada e em seguida as sementes foram submetidas ao teste de germinação. Aos 15 e 30 dias foram realizadas avaliações das plântulas conforme prescrições das Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009).

Durante o período de 30 dias, foram capturadas as imagens das plântulas, as quais foram processadas e digitalizadas por meio do SVISE (software específico), resultando em índices de vigor, baseados em análises de velocidade de crescimento e comprimento das plântulas. Estes resultados foram, então, correlacionados aos resultados do teste de germinação, obtidos segundo avaliação da RAS (BRASIL, 2009).

Teor de água

Foi determinado com duas repetições, pelo método da estufa a 105 °C por 24 horas (BRASIL, 2009). Os resultados foram calculados com base no peso úmido e expressos em percentagem média.

Teste de germinação e primeira contagem

Foram utilizadas dezesseis repetições de 25 sementes, semeadas em rolos de papel toalha, constituídos da seguinte forma: duas folhas de papel de germinação forradas com uma folha de “tecido não tecido” (TNT) de polipropileno de cor azul para permitir o contraste na captura e digitalização das imagens das plântulas. Sobre o TNT as sementes foram semeadas de forma que as raízes fossem direcionadas para a parte inferior do rolo quando colocados no germinador. As avaliações foram realizadas, segundo RAS (BRASIL, 2009), após 15 dias para primeira contagem e aos 30 dias para contagem final.

Índice de velocidade de protrusão radicular

O teste foi realizado em conjunto com o teste de germinação. Para cada repetição, foi calculado o índice de velocidade de protrusão radicular (IVP), somando-se o número de sementes germinadas a cada dois dias, dividido pelo respectivo número de dias transcorridos a partir de semeadura, conforme (MAGUIRRE, 1962). Considerou-se sementes germinadas aquelas que apresentavam protrusão de radícula visível.

Análise das Imagens

A aquisição das imagens foi realizada pelo sistema de escaneamento computadorizado, com auxílio do software de processamento de imagens descrito por Hoffmaster et al. (2003).

A plataforma de imagem realiza a captura das múltiplas imagens de plântulas, mensurando simultaneamente a parte aérea e a raiz primária. Tais dados foram processados por métodos computadorizados que quantificam a performance potencial das sementes amostradas, sendo os resultados de cada repetição combinados para produzir o índice de vigor e uniformidade de crescimento, como descrito por Hoffmaster et al. (2003). Para a digitalização e cálculo dos índices, foi utilizado um software específico para sementes de soja, uma vez que ainda não há um software específico para sementes de café e, devido a semelhança anatômica entre as plântulas de ambas espécies, nas fases iniciais do desenvolvimento.

Estipulou-se para o tamanho máximo das plântulas, o valor de 2 cm, sendo que as plântulas com comprimento de 0 cm geram índice de crescimento 0, e plântulas com 2 cm geram o índice de

¹ Mestrando em Fitotecnia, DAG/UFLA, midi_br@yahoo.com.br

¹ Professor Titular, Horticulture/OSU, bennett.18@osu.edu

³ Professor Associado, DAG/UFLA, mgrenato@ufla.br

⁴ Pesquisadora Embrapa, DAG/UFLA, sttelaveiga@dag.ufla.br

crescimento 1000. As combinações testadas para obtenção dos índices de vigor foram: 30% crescimento (C) e 70% uniformidade (U), 50% C e 50% U e 70% C e 30% U.

Análise estatística

Os resultados de plântulas normais obtidos nas contagens ao longo do período do teste de germinação foram submetidos à análise de variância, em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 4, sendo 2 lotes e 4 tratamentos, cada um deles constituídos pela média de quatro repetições dos testes. Foram utilizadas quatro repetições estatísticas. Esta análise foi realizada com a finalidade de se verificar eficiência de cada metodologia testada em determinar a qualidade das amostras, quando comparadas com os testes tradicionais. As médias foram comparadas pelo teste Scott Knott ao nível de 5%. Para as análises realizadas por meio do programa SISVAR (FERREIRA, 1999), os dados de porcentagem foram transformados em $\text{arc sen } (\%/100)^{0,5}$ ou, na existência de elevada frequência de zeros, em $\text{arc sen } [(\%+0,5)/100]^{0,5}$.

Os resultados de todas as metodologias, visuais ou por análise de imagens foram correlacionados entre si por meio de teste de correlação simples utilizando-se o programa ASSISTAT.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1A são apresentados os valores representativos dos índices vigor, obtidos por meio do programa SVIS[®] a partir das imagens capturadas por escâner. Esses valores foram correlacionados aos resultados obtidos no teste de germinação das sementes, (Tabela 3A e 4A) e de análise de variância para comparação entre lotes e tratamentos (Tabela 2A).

Na Tabela 1 são apresentados os índices de correlação entre as variáveis determinadas por análise visual das plântulas dos testes de germinação, e por análise das imagens das plântulas capturadas por meio de escâner com auxílio do programa SVIS[®] para o lote 1. Pode-se observar que não houve correlação significativa quando as plântulas foram analisadas pelo SVIS[®] aos 10 dias e aos 16 dias, com qualquer das combinações de porcentagem de crescimento e uniformidade utilizada, em relação a nenhum método de análise visual. Aos 12 dias observa-se correlação significativa na maioria das comparações, exceto para as variáveis plântulas normais aos 30 dias (N30) e análise de imagem aos doze dias na combinação 30% de crescimento e 70% de uniformidade (AI123070). Os índices das análises de imagem aos 14 dias podem ser correlacionados com a maioria dos índices dos testes por análise visual, com exceção apenas daqueles do teste N30, em todas as ponderações atribuídas para o crescimento e uniformidade. Quando é considerada a captura de imagens aos 18 dias observa-se correlação entre todos os testes visuais, independente das ponderações atribuídas. Considerando que a análise visual aos 30 dias é o método prescrito para o teste de germinação nas Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 2009), pode-se considerá-lo como referência para a comparação com os testes por análises de imagem. Nesse caso, as correlações mais consistentes ocorreram quando as imagens foram capturadas com 18 dias, independente da ponderação considerada. Na Tabela 2 são apresentadas as mesmas correlações para o lote 2.

¹ Mestrando em Fitotecnia, DAG/UFLA, midi_br@yahoo.com.br

¹ Professor Titular, Horticulture/OSU, bennett.18@osu.edu

³ Professor Associado, DAG/UFLA, mgrenato@ufla.br

⁴ Pesquisadora Embrapa, DAG/UFLA, sttelaveiga@dag.ufla.br

XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFPA
27 de setembro a 01 de outubro de 2010

Tabela 1 Índices de correlação entre as variáveis determinadas por análise visual (N15 – Plântulas normais observadas aos 15 dias; N30 – Plântulas normais observadas aos 30 dias; IVP – Índice de velocidade de Protrusão; P – Protrusões de radículas observadas, Numerais referem-se ao número de dias para observação) e as variáveis determinadas com auxílio do Programa SVIS® (AI - os numerais dois a dois representam respectivamente dias após a germinação, crescimento e uniformidade) para sementes do lote 1. Lavras MG, 2009.

	N15	N30	IVP	P10	P12	P14	P16	P18
AI107030	0.2506ns	-0.0895ns	0.1074ns	0.1328ns	0.1119ns	0.1119ns	0.1356ns	0.1356ns
AI105050	0.2378ns	-0.1855ns	0.1274ns	0.0584ns	0.0749ns	0.0749ns	0.1052ns	0.1052ns
AI103070	0.3515ns	0.0255ns	0.1843ns	0.2167ns	0.1951ns	0.1951ns	0.2261ns	0.2261ns
AI127030	0.7791**	0.5730*	0.7419**	0.7905**	0.7229**	0.7229**	0.7461**	0.7461**
AI125050	0.8118**	0.5196*	0.7053**	0.8282**	0.7703**	0.7703**	0.7843**	0.7843**
AI123070	0.8231**	0.4887ns	0.6840**	0.8375**	0.7875**	0.7875**	0.7981**	0.7981**
AI147030	0.5592*	0.4111ns	0.6445**	0.6360**	0.5567*	0.5567*	0.5649*	0.5649*
AI145050	0.7627**	0.4536ns	0.6971**	0.8212**	0.7607**	0.7607**	0.7695**	0.7695**
AI143070	0.7935**	0.3629ns	0.6006*	0.8518**	0.8144**	0.8144**	0.8304**	0.8304**
AI167030	0.3393ns	0.4613ns	0.3720ns	0.4399ns	0.3379ns	0.3379ns	0.3645ns	0.3645ns
AI165050	0.3560ns	0.3952ns	0.3675ns	0.4720ns	0.3742ns	0.3742ns	0.3942ns	0.3942ns
AI163070	0.3617ns	0.3563ns	0.3561ns	0.4840ns	0.3912ns	0.3912ns	0.4064ns	0.4064ns
AI187030	0.6899**	0.6658**	0.5994*	0.5713*	0.5939*	0.5939*	0.6384**	0.6384**
AI185050	0.7621**	0.6431**	0.6072*	0.6135*	0.6703**	0.6703**	0.7108**	0.7108**
AI183070	0.7879**	0.6129*	0.5971*	0.6227**	0.7011**	0.7011**	0.7385**	0.7385**

Níveis de significância: ns – não significativo; * - significativo ao nível de 5%; ** - significativo ao nível de 1%.

Tabela 2 Índices de correlação entre as variáveis determinadas por análise visual (N15 – Plântulas normais observadas aos 15 dias; N30 – Plântulas normais observadas aos 30 dias; IVP – Índice de velocidade de Protrusão; P – Protrusões de radículas observadas, Numerais referem-se ao número de dias para observação) e as variáveis determinadas com auxílio do Programa SVIS® (AI - os numerais dois a dois representam respectivamente dias após a germinação, crescimento e uniformidade) para sementes do lote 2. Lavras MG, 2009.

	N15	N30	IVP	P10	P12	P14	P16	P18
AI107030	0.7095**	0.6030*	0.4995ns	0.7056**	0.7095**	0.6039*	0.6374**	0.6374**
AI105050	0.7312**	0.5865*	0.4949ns	0.7277**	0.7312**	0.6326**	0.6610**	0.6610**
AI103070	0.7375**	0.5792*	0.4893ns	0.7337**	0.7375**	0.6423**	0.6688**	0.6688**
AI127030	0.7534**	0.3556ns	0.8033**	0.8792**	0.7534**	0.7565**	0.7914**	0.7914**
AI125050	0.7649**	0.3384ns	0.7884**	0.8900**	0.7649**	0.7765**	0.8055**	0.8055**
AI123070	0.7713**	0.3277ns	0.7816**	0.8968**	0.7713**	0.7877**	0.8144**	0.8144**
AI147030	0.7094**	0.4651ns	0.5101*	0.7661**	0.7094**	0.6651**	0.6810**	0.6810**
AI145050	0.7445**	0.4654ns	0.5715*	0.7944**	0.7445**	0.7108**	0.7251**	0.7251**
AI143070	0.7516**	0.4609ns	0.6000*	0.8005**	0.7516**	0.7243**	0.7383**	0.7383**
AI167030	0.8829**	0.3787ns	0.8359**	0.9006**	0.8829**	0.8531**	0.8732**	0.8732**
AI165050	0.9010**	0.3873ns	0.7852**	0.9074**	0.9010**	0.8728**	0.8840**	0.8840**
AI163070	0.8749**	0.3570ns	0.7496**	0.8813**	0.8749**	0.8405**	0.8457**	0.8457**
AI187030	0.5161*	-0.1351ns	0.6481**	0.6259**	0.5161*	0.5327*	0.5348*	0.5348*
AI185050	0.5670*	-0.0057ns	0.6580**	0.6132*	0.5670*	0.5744*	0.5648*	0.5648*
AI183070	0.5282*	-0.0192ns	0.6167*	0.6087*	0.5282*	0.5328*	0.5214*	0.5214*

Níveis de significância: ns – não significativo; * - significativo ao nível de 5%; ** - significativo ao nível de 1%.

¹ Mestrando em Fitotecnia, DAG/UFPA, midi_br@yahoo.com.br

¹ Professor Titular, Horticulture/OSU, bennett.18@osu.edu

³ Professor Associado, DAG/UFPA, mgrenato@ufla.br

⁴ Pesquisadora Embrapa, DAG/UFPA, sttelaveiga@dag.ufla.br

XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA
27 de setembro a 01 de outubro de 2010

As correlações foram significativas para a maioria das variáveis, sendo as exceções para as correlações resultados de porcentagem de plântulas normais aos 30 dias X análise de imagens nos 12 e 18 dias, e IVP X análise de imagem no 10º dia.

A Tabela 2A apresenta o resumo das análises de variância dos dados referentes a cada um dos testes para a comparação dos lotes, dos tratamentos e da interação entre lotes e tratamentos.

A Tabela 3 apresenta a comparação dos valores médios alcançados pelos lotes avaliados por cada um dos diferentes testes. Nota-se que em todos os casos a qualidade do lote 1 foi avaliada como superior a do lote 2, denotando completa coerência entre as avaliações que foram capazes de detectar diferenças entre ambos.

Todos esses resultados são coerentes com aqueles encontrados por Silva (2009), Vilela et al. (2009) e Hoffmaster et al. (2003).

Tabela 3 Médias de valores alcançados em diferentes avaliações pelos lotes de sementes. Variáveis determinadas com auxílio do Programa SVIS® (AI - os numerais dois a dois representam respectivamente dias após a germinação, crescimento e uniformidade). Lavras MG, 2009.

Lote	1	2
N30%	77.50a	65.25b
IVP	3.821a	3.215b
AI107030	279.125a	253.875b
AI105050	431.562a	400.000b
AI103070	587.125a	545.750b
AI127030	287.875a	269.312b
AI125050	440.125a	418.312b
AI123070	591.875a	566.875b
AI147030	311.312a	284.437b
AI145050	457.375a	430.312b
AI143070	601.687a	575.812b
AI167030	327.562a	304.375b
AI165050	466.937a	445.187b
AI187030	353.250a	327.062b
AI185050	487.750a	462.875b
AI183070	621.625a	595.500b

Médias com a mesma letra na linha não são diferentes pelo teste de Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Na Tabela 4 são apresentados os valores médios referentes aos tratamentos comparados pelos testes que foram capazes de detectar diferença independente dos lotes. Nesse caso é irrelevante a apresentação detalhada dessas diferenças, já que os resultados esperados e desejados para um teste eficiente eram de não diferenciar os tratamentos, confirmando a uniformidade dentro dos lotes. É importante ressaltar que dos 23 testes utilizados neste trabalho, apenas os 3 apresentados na tabela 4, foram excessivamente rigorosos e detectaram essas diferenças sutis.

Tabela 4 Médias de valores alcançados em diferentes avaliações pelos tratamentos dos lotes. Variáveis determinadas com auxílio do Programa SVIS® (AI - os numerais dois a dois representam respectivamente dias após a germinação, crescimento e uniformidade). Lavras MG, 2009.

Tratamento	A	B	C	D
AI125050	418.125a	428.000a	445.625b	425.125a
AI123070	564.375a	579.000a	601.625b	572.500a
AI187030	327.250a	336.625a	352.875a	343.875a

Médias com a mesma letra na linha não são diferentes pelo teste de Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

¹ Mestrando em Fitotecnia, DAG/UFLA, midi_br@yahoo.com.br

¹ Professor Titular, Horticulture/OSU, bennett.18@osu.edu

³ Professor Associado, DAG/UFLA, mgrenato@ufla.br

⁴ Pesquisadora Embrapa, DAG/UFLA, sttelaveiga@dag.ufla.br

CONCLUSÃO

A utilização da análise de imagens com o auxílio do programa SVIS[®] é um método promissor para avaliação da viabilidade e vigor de lotes de sementes de café.

REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: SNAD/DNDV/CLAV, 2009. 398 p.

FERREIRA, D. F. **SISVAR 4.3: sistema de análises estatísticas**. Lavras: UFLA, 2003.

HOFFMASTER, A. L.; FUJIMURA, K.; McDONALD, M. B.; BENNETT, M. A. An automated system for vigour testing three-day-old soybean seedlings. **Seed Science and Technology**, Zürich, v. 31, p. 701-713, 2003.

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

SILVA, C. A. T.. **Potencial do uso de análise de imagens digitais na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de nabo forrageiro**. 2009. 23p. Monografia (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

VILELA, F. L.; ROSA, S. D. V. F.; MCDONALD, M. B.; BENNETT M. A.; GUIMARÃES, G. C. Avaliação do vigor de sementes de café por meio da análise de imagens. In: XVI CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES, 19., 2009, Curitiba, 2009. 19 CD ROM.

¹ Mestrando em Fitotecnia, DAG/UFLA, midi_br@yahoo.com.br

¹ Professor Titular, Horticulture/OSU, bennett.18@osu.edu

³ Professor Associado, DAG/UFLA, mgrenato@ufla.br

⁴ Pesquisadora Embrapa, DAG/UFLA, sttelaveiga@dag.ufla.br