

Definição da metodologia para realização do teste de raios-X em sementes de abóbora.

Patrícia P. Silva; Warley M. Nascimento.

Embrapa Hortaliças. CP-280, 70359-970, Brasília - DF; e-mail: wmn@cnph.embrapa.br

RESUMO

Entre os métodos para análise de imagens destaca-se o teste de raios-X, para diferenciação entre sementes bem formadas, total ou parcialmente vazias, danificadas mecanicamente ou por organismos nocivos. Para obtenção de um bom resultado neste teste é preciso ter o conhecimento necessário das condições adequadas de exposição das sementes à radiação. A qualidade de penetração dos raios-X é determinada pela quilovoltagem do equipamento, juntamente com o período de exposição das sementes. Com isso, o objetivo do trabalho foi definir a metodologia do teste de raios-X para avaliação da qualidade das sementes de abóbora (*Cucurbita moschata*) 'Brasileirinha'. Foi utilizado sementes em diferentes estágios de maturação e extraídas em frutos com 0 e 15 dias de armazenamento após a colheita. Após isso, foram realizados o teste de umidade e teste de raios-X. Neste teste, as imagens foram obtidas com diferentes intensidades e segundos de exposição, e logo em seguida as sementes foram submetidas ao teste de germinação. Foi constatado que o teste de raios-X é eficiente para avaliar as estruturas internas das sementes da abóbora 'Brasileirinha' na intensidade de 25 kV por 40 segundos e há relação entre o nível de formação das sementes com os resultados do teste de germinação.

Palavras-chave: *Cucurbita moschata*, germinação, maturação.

ABSTRACT

Methodology for the X-ray test in 'Brasileirinha' squash seeds.

Among the methods for image analysis the X-ray test may be used to differentiate seeds (well formed, partially empty, or mechanically damaged by pests). To obtain a good result it is necessary to know the appropriate conditions of exposure the seeds to radiation. The quality of penetration of X-ray is determined by kilo voltage equipment, along with the exposure period of seeds. Thus, the objective of this study was to define the methodology of X-ray test to assess the quality of 'Brasileirinha' squash (*Cucurbita moschata*) seeds. Seeds were harvested at different stages of maturation and extracted after 0 and 15 days after harvested. Then, seed moisture content was determined and X-ray images were obtained with different intensities and time of exposure. Seeds were subjected to germination test. It was found that the X-ray test is efficient to evaluate the internal structure of 'Brasileirinha' squash seeds using an intensity of 25 kV for 40 seconds. A relationship between the morphological seed structure and the results of the germination test was observed.

Keywords: *Cucurbita moschata*, germination, seed maturity.

Entre os métodos para análise de imagens destaca-se o teste de raios-X, indicado pela ISTA - International Seed Testing Association, (2004), desde 1993, para diferenciação entre sementes bem formadas, total ou parcialmente vazias, danificadas mecanicamente ou por organismos nocivos. O teste permite ainda efetuar verificações da evolução do desenvolvimento das sementes, avaliando o grau de normalidade desse processo, mediante o exame do progresso da diferenciação dos tecidos embrionários e de suas relações com os tecidos de reserva (Craviotto *et al.* 2002; Nery, 2005).

O princípio da técnica de raios-X é baseado na impressão de uma película sensível logo após sua exposição a uma fonte de radiação e na consequente obtenção de uma imagem do objeto irradiado. Esta pode ser conservada, reproduzida e examinada a qualquer momento.

O teste de raios-X deve ser executado com o conhecimento necessário das condições adequadas de exposição das sementes à radiação. Assim, a qualidade ou o poder de penetração dos raios-X é determinado pela quilovoltagem do equipamento. O período de exposição, juntamente com a miliamperagem fixa do equipamento, regulam a quantidade de raios-X que determina a densidade radiográfica ou grau de escurecimento. Nesse sentido, diferentes interações voltagem/período de exposição para a obtenção de alta fidelidade das imagens radiográficas de sementes, têm sido adotadas em função da espécie, do equipamento de raios-X e da sensibilidade da película fotográfica utilizada (Cícero *et al.* 1998; Carvalho *et al.* 1999). O objetivo desse trabalho foi definir a metodologia do teste de raios-X para avaliação da qualidade das sementes de abóbora (*Cucurbita moschata*) 'Brasileirinha'.

MATERIAL E MÉTODOS

Produção de sementes

Foram utilizadas sementes de abóbora 'Brasileirinha', desenvolvida pela Embrapa Hortaliças. As sementes foram produzidas na Embrapa Hortaliças, Brasília, DF. Por ocasião do florescimento, foram selecionadas e etiquetadas, ao acaso, flores no estágio de antese. As colheitas dos frutos foram realizadas aos 30, 40, 50 e 60 dias após a antese (DAA). Em cada época, foram colhidos 10 frutos, sendo que estes foram armazenados em laboratório a 25 °C por 0 e 15 dias. Após o armazenamento, os frutos tiveram suas sementes extraídas.

Grau de umidade

A determinação do grau de umidade foi realizada pelo método de estufa a 105 ± 3 °C por 24hs, utilizando-se duas sub- amostras de semente de cada tratamento, segundo as regras para Análise de Sementes (Brasil,1992); os resultados foram expressos em porcentagem.

Utilização de raios-X e digitalização de imagens

O teste de raios-X foi realizado no Laboratório de Análises de Sementes da Universidade de São Paulo na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz-USP/ESALQ, utilizando quatro repetições de 25 sementes de cada tratamento. As sementes foram colocadas sobre uma placa de acrílico; as mesmas foram identificadas de acordo com a posição ocupada no recipiente, de maneira que pudessem ser identificadas nas determinações posteriores. A placa de acrílico contendo as sementes foi colocada diretamente sobre um

filme de raios-X (Kodak MIN-R 2000, tamanho de 18 x 24 cm). As imagens foram obtidas com diferentes intensidades e segundos de exposição (15, 20, 25, 30 Kv nos períodos de 30, 35, 40, 45 segundos), utilizando-se equipamento FAXITRON X-Ray, modelo MX-20. A revelação foi efetuada numa processadora Hope X-Ray, modelo 319 Micromax. Após isso, as imagens dos filmes de raios-X foram capturadas por um Scanner Umax, para ampliação e visualização em computador. Após a revelação das radiografias, as sementes foram classificadas de acordo com sua anatomia interna em: a) sementes cheias: aquelas com áreas vitais (tecidos essenciais) normalmente estruturadas; b) sementes mal formadas e, c) sementes vazias.

Avaliação fisiológica das sementes

Os testes de primeira contagem e de germinação, foram conduzidos nas sementes que foram previamente identificadas no teste de raios-X; as sementes foram distribuídas em grupo de 25, sendo cinco fileiras de cinco sementes espaçadas, sobre duas folhas de papel germitest, cobertas com mais uma folha de papel germitest e enroladas. As folhas de papel foram umedecidas com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa das mesmas. Os rolos foram mantidos em germinadores, tipo BOD, mantidos em uma temperatura alternada de 20-30 °C. Após quatro dias foi realizada a primeira contagem e após oito dias a última leitura, onde foram avaliadas as plântulas normais, anormais e as sementes mortas. Após a obtenção do resultado de germinação foi feita uma comparação desse resultado com o resultado obtido através do Scanner Umax.

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo a comparação de médias efetuada pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sementes dos oito tratamentos (quatro épocas de colheita e duas épocas de extração) estavam com teor de água em torno de 6,5% a 7,2%. O teor de água é um fator de grande importância no teste de raios-X, uma vez que quanto menor a quantidade água na semente maior será a densidade ótica da mesma, facilitando a diferenciação das estruturas através da radiografia (Simak, 1991). Diante do exposto, verifica-se a importância da padronização do teor de água das sementes antes da realização do teste de raios-X.

O tempo de exposição das sementes à radiação de 40 segundos e a intensidade de 25 KV possibilitou uma boa visualização das sementes de abóbora através das radiografias. A regulação do aparelho de raios-X depende da espessura, densidade e composição da semente e do aparelho usado (ISTA, 1996; Bino *et al.* 1993). No tempo de 40 segundos e intensidade de 25 KV foi possível determinar o desenvolvimento das estruturas internas das sementes de abóbora e também um tecido denso ao redor do embrião, que é o tegumento da mesma.

Observou-se que somente os tratamentos com sementes colhidas aos 60 dias após a antese, extraídas após 15 dias de armazenamento, não apresentaram sementes vazias. Com relação às sementes classificadas como danificadas, os únicos tratamentos que não apresentaram esse tipo de semente foram aqueles oriundos da colheita aos 30 dias; essas sementes foram classificadas como vazias. E as sementes cheias foram encontradas em

cinco tratamentos (Tabela 1). Como esperado, quanto maior o tempo de maturação maior foi o número de sementes cheias. Verifica-se que os resultados obtidos no teste de germinação foram concordantes com a classificação de sementes no teste de raios-X, sendo constatado no entanto, a presença de plântulas normais e anormais nas sementes classificadas como cheias (Tabela 2). No entanto, a maior parte das sementes consideradas cheias apresentou plântulas normais; as classificadas como danificadas mostraram-se na maioria como plântulas anormais e 100% das sementes vazias não germinaram. Resultados semelhantes foram observados por Pupim *et al.* (2008) em sementes de embaúba. Carvalho *et al.* (2009) analisando sementes de abóbora observaram que os lotes que possuíam maior número de sementes cheias apresentaram um maior número de plântulas normais.

Os dados obtidos no estudo demonstram que a morfologia interna das sementes de abóbora pode ser visualizada com exposição de 40 segundos numa radiação de 25 KV, sem provocar nenhum dano nas mesmas e que a morfologia interna das mesmas é um indicativo do seu potencial de viabilidade. Dessa forma, a identificação e retirada de sementes que apresentam danos pode promover a melhoria da qualidade física e fisiológica de um lote de sementes. O uso de raios-x mostrou-se eficiente na detecção de anormalidades e de sementes vazias de abóbora que afetam negativamente sua germinação.

REFERÊNCIA

- BINO RJ; AARTASE JW; VAN DER BURG WJ. 1993. Non-destructive x-ray analysis of Arabidopsis embryo mutants. *Seed Science Research* 3:167-170.
- BRASIL. 1992. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. *Regras para análise de sementes*. Brasília, DF: SNDA/ DNDV/CLAV. 365p.
- CARVALHO MLM; SILVA CD; OLIVEIRA LM; SILVA DG; CALDEIRA CM. 2009. Teste de raios x na avaliação da qualidade de sementes de abóbora. *Revista Brasileira de Sementes* 31: 221-227.
- CARVALHO MLM; AELSTACV; ECK JWV; HOEKSTRA FA. 1999. Pre-harvest stress cracks in maize (*Zea mays* L.) kernels as characterized by visual, X-ray and low temperature scanning electron microscopical analysis: effect on kernel quality. *Seed Science Research* 9: 227-236.
- CICERO SM; HEIJDEN GWAM; BURG WJ; BINO RJ. 1998. Evaluation of mechanical damages in seeds of maize by X-ray and digital imaging. *Seed Science and Technology* 26: 603-612.
- CRAVIOTTO RM; YOLDJIAN AM; SALINAAR; ARANGO MR; BISAROV; MATURO H. 2002. Description of pure seed fraction of oat through usual evaluations and radiographic images. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37: 1183-1188.
- ISTA. International Rules for Seed Testing. *Seed Science and Technology*. 1996. 24. 336p. (Supplement).
- SIMAK M. 1991. Testing of forest tree and shrub seeds by x radiography. In: Gordon AG; GOSLING PG; WANG B. Tree and shrub seed handbook. *International Seed Testing Association*. p-14-28.

NERY MC. 2005. *Aspectos Morfológicos do Desenvolvimento de sementes de Tabebuia serratifolia*. LAVRAS:Universidade Federal de Lavras.95p Dissertação (Tese mestrado).

PUPIM TL; NOVENBRE ADLC; CARVALHO MLM; CICERO SM. 2008. Adequação do teste de raios X para avaliação da qualidade de sementes de embaúba (*Cecropia pachystachya* trec). *Revista Brasileira de Sementes* 30: 28-32.

Tabela 1. Resultado em porcentagem do número de sementes cheias (SC), danificadas (SD) ou vazias (SV) em sementes de abóbora (*Cucurbita moschata*) 'Brasileirinha', em diferentes períodos de maturação e em duas épocas de extração de sementes (Results in percentage of the number of well formed, damaged or empty seeds of 'Brasileirinha' squash (*Cucurbita moschata*), at different times of maturation and two periods of seed extraction). USP/ESALQ, Piracicaba-SP, 2009.

Dias	Extração (dias)	SC	SD	SV
30	0	0	0	100
30	15	0	0	100
40	0	0	5	45
40	15	55	39	6
50	0	25	71	4
50	15	54	45	1
60	0	38	60	2
60	15	62	38	0

Tabela 2. Resultado dos testes de primeira contagem (PC) e germinação (G) em sementes de abóbora (*Cucurbita moschata*) 'Brasileirinha', em diferentes períodos de maturação e em duas épocas de extração (Results of first count and germination in seeds of squash (*Cucurbita moschata*) 'Brasileirinha', at different times of maturation and two periods of extraction). USP/ESALQ, Piracicaba-SP, 2009.

Dias	Extração (dias)	PC (%)	G (%)
30	0	0c	0c
30	15	0c	0c
40	0	0c	0c
40	15	0c	55b
50	0	0c	3d
50	15	18b	54b
60	0	0c	13cd
60	15	27a	65ab
CV (%)		20,25	9,12

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (Means followed by the same letter in the column do not differ by Tukey test at 5% probability).