

Avaliação da eficiência do teste LERCAFÉ para sementes de café

¹ Soryana Gonçalves Ferreira de Melo, ¹ Marcela Carlota Nery, ¹ Fabiano Ramos Costa, ¹ Mahany Graça Martins, ² Cíntia Maria Teixeira Fialho, ¹ André Cabral França

¹ Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, *Campus JK*, MGT 367, Km 583, n. 5000 Alto da Jacuba, CEP 39100-000, Diamantina, MG, Brasil. E-mails: soryanagfmelo@gmail.com, nery.marcela@ufvjm.edu.br, fabianoraco@outlook.com, mahany.martins@hotmail.com, cabralfranca@yahoo.com.br

² Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Prolongamento da Rua Cerejeira, s/n Bairro São Luiz, CEP 85892-000, Santa Helena, PR, Brasil..E-mail: cintiafialho@utfpr.edu.br

Resumo: As sementes de café possuem viabilidade curta e germinação lenta, exigindo um período mínimo de 30 dias para a obtenção dos resultados, o que pode não mais condizer com o atual estado fisiológico das sementes. O teste LERCAFÉ, possibilita a obtenção de resultados referentes à viabilidade das sementes de café em um curto período de tempo, além de ser de fácil execução. Assim, objetivou-se analisar as imagens das sementes de café através do *Software Imagek* que foram submetidas ao teste LERCAFÉ e relacionar com os resultados do teste de germinação. Foram utilizadas sementes das cultivares Araponga MG1 e Acaiá, colhidas na safra 2015/2016, sem o pergaminho, utilizando solução de hipoclorito de sódio 3% pelo período de três horas. Após a caracterização dos lotes, as sementes foram submetidas ao teste LERCAFÉ. As imagens, em formato JPG, foram analisadas com o uso do *Software ImageK* e classificadas quanto a posição das manchas. Foi realizado o teste de germinação com essas sementes, realizadas imagens das plântulas e computada a porcentagem de plântulas normais e comparada com as demais imagens das sementes. Para a cultivar Acaiá as posições da mancha e tipo de plântula não estão associadas. Para a cultivar Araponga MG1 a porcentagem de plântulas normais depende da posição da mancha na semente. Concluiu-se que para ambas as cultivares foram observadas porcentagens superiores de plântulas normais nas sementes sem manchas e a análise de imagens permitiu relacionar os resultados do teste LERCAFÉ e o tipo de plântula de café para a cultivar Araponga MG1.

Palavras chave: *Coffea arabica*, Qualidade, Viabilidade.

Evaluation of the efficiency of the LERCAFÉ test for coffee seeds

Abstract: Seeds of coffee have short viability and slow germination, requiring a minimum period of 30 days to obtain the results, which may no longer correspond to the current physiological state of coffee seeds. The LERCAFÉ test makes it possible to obtain results regarding the viability of coffee seeds in a short period of time, besides being easy to perform. The objective of this study was to analyze the images of the coffee seeds using the Imagek Software, which were submitted to the LERCAFÉ test, using seed without parchment with 3% sodium hypochlorite solution for 3 hours. Seeds of the cultivars Araponga MG1 and Acaiá were used, harvesting 2015/2016. After characterization of the lots, the seeds were submitted to the LERCAFÉ test. The images, in JPG format, were analyzed using the ImageK Software and classified for the position of the spots. The germination test was carried out with these seeds, where the seedlings were imaged and the percentage of normal seedlings was computed and compared with the other seeds images. For the cultivar Acaiá the positions of the spot and type of seedling are not associated. For the cultivar Araponga MG1, the percentage of normal seedlings depends on the position of the spots in the seed. It was concluded that for both cultivars higher percentages of normal seedlings were observed in the seeds without spots and the image analysis allowed to relate the results of the LERCAFÉ test and the type of coffee seedling for the cultivar Araponga MG1.

Key word: *Coffea arabica*, Quality, Viability.

Introdução

O Brasil figura como o maior produtor e exportador mundial de café, e segundo maior consumidor do produto, possuindo 2,25 milhões de hectares de área plantada da cultura. A implantação da cultura do cafeeiro é feita por transplantação de plântulas, e para o sucesso desta, é fundamental a obtenção de sementes de alta qualidade fisiológica. Porém, uma característica importante, é que estas apresentam germinação lenta e irregular, além de baixo potencial de armazenamento (Clemente et al., 2011). Para a avaliação da qualidade de sementes de café, as Regras para Análise de Sementes (RAS), determinam um período de 30 dias para a realização do teste de germinação e obtenção dos resultados (Brasil, 2009). O lento desenvolvimento das plântulas dificulta as avaliações de viabilidade e de vigor, pois exige um tempo considerado excessivo para a obtenção dos resultados (Rosa et al., 2009). Assim, torna-se necessário a busca por testes complementares para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de café, e estes, necessitam ser confiáveis, reproduzíveis e rápidos (Ribeiro et al., 2016).

A redução do tempo para avaliação do potencial fisiológico das sementes de café, através de testes, busca solucionar a tomada de decisões antecipadas, durante as operações de colheita, recepção, beneficiamento, comercialização e formação de mudas, diminuindo assim, prejuízos aos produtores. A realização de testes, como o teste de germinação executados em laboratório, é considerado altamente favorável, pois apresenta maior flexibilidade e autonomia às atividades de produção e comercialização, além da redução da necessidade de equipamentos e mão-de-obra especializado. E as padronizações de testes alternativos assumem grande importância para as análises realizadas em laboratório, pois estes fornecem resultados comparáveis e consistentes (Guimarães et al. 2013). Para semente de café, o teste LERCAFÉ é considerado uma alternativa viável por ser um teste considerado rápido, barato e eficaz (Reis et al., 2010).

O teste LERCAFÉ consiste na imersão de sementes de café em solução de hipoclorito de sódio, por um determinado período de tempo e temperatura. O cloro ativo, princípio ativo da solução, reage com o endosperma das sementes de café colorindo áreas mortas e/ou lesionadas do endosperma de diferentes tons de verde, as

sementes são classificadas como germináveis caso a coloração ocorra distante da região do eixo embrionário são classificadas como não germináveis aquelas em que a coloração ocorre próximo ou em cima da região do eixo embrionário (Reis et al., 2010). Neste caso, para sementes de café, o teste supracitado é considerado uma alternativa viável. Nascimento et al. (2016) relataram que para a determinação do potencial fisiológico das sementes de café, este teste foi eficiente na estimativa da viabilidade de sementes de café quando estas são imersas em solução de hipoclorito de sódio com teor de 2% de cloro ativo por cinco horas e teor de 3% de cloro ativo por três horas.

Alguns trabalhos vêm sendo desenvolvidos a fim de aperfeiçoar a obtenção de resultados com relação à viabilidade e ao vigor de sementes, utilizando análise de imagens digitais. Teixeira et al. (2006), avaliaram por meio de imagens digitais obtidas por um scanner profissional de superfície a uniformidade das sementes de milho. A análise radiográfica de imagens também tem sido utilizada para avaliar danos mecânicos, como, em soja (Flor et al. 2004), feijão (Forti et al., 2008) e milho (Vaz Mondo & Cícero, 2005). Para a confirmação da eficiência de tecnologias que atestem a veracidade dos resultados de viabilidade torna-se necessário a utilização de software com capacidade suficiente de gerarem maior confiabilidade e reprodutibilidade. Assim, objetivou-se correlacionar as imagens das sementes de café submetidas ao teste LERCAFÉ e classificadas pelo *Software Imagek* (2009) com a porcentagem de plântulas normais obtidas no teste de germinação.

Material e métodos

O estudo foi realizado no Laboratório de Sementes da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri [UFVJM], Diamantina-MG. Foram utilizadas sementes de café arábica (*Coffea arabica*) das cultivares Araponga MG1 (Hibridação artificial entre a cultivar Catuaí Amarelo IAC 86 e a seleção de Híbrido de Timor UFV 446-08) e Acaia (Originada da cultivar Mundo Novo), com colhidas na safra 2015/2016, produzidas e fornecidas pela UFMG.

Para caracterização dos lotes de sementes de café, foram realizadas as seguintes

determinações e testes: I) grau de umidade: determinado pelo método da estufa, a 105 °C, durante 24 horas (Brasil, 2009), com duas repetições de 30 gramas de sementes, cujo pergaminho foi removido manualmente. II) teste de germinação: com quatro repetições de 50 sementes cada, realizado com sementes sem pergaminho, sendo este, retirado manualmente. As sementes foram colocadas para germinar em substrato papel, o qual foi umedecido com água em quantidade equivalente a 2,5 vezes o seu peso. Os rolos de papel foram transferidos para câmara de germinação regulada a 30 °C, com luz constante. Os resultados do teste de germinação foram expressos em porcentagem de plântulas normais, registrados aos 15 dias (primeira contagem) e aos 30 dias (contagem final) (Brasil, 2009). III) O índice de velocidade de germinação foi determinado através do cálculo da fórmula proposta por Maguire (1962).

As sementes de café foram submetidas ao teste LERCAFÉ, seguindo a metodologia de Nascimento et al. (2016). Foram utilizadas 200 sementes das cultivares Araponga MG1 e 200 sementes da cultivar Acaia, ambas sem pergaminho (removidos manualmente) das duas cultivares, foram acondicionadas em caixas acrílicas tipo *gerbox*, onde ficaram emergidas em solução de hipoclorito de sódio contendo teor de 3% de cloro ativo, em câmara do tipo BOD pelo período de 3 horas. Posteriormente, as sementes

foram lavadas em água corrente e imersas em água destilada por 40 minutos nas mesmas caixas, com finalidade de retirar o excesso da solução (Zonta et al., 2010). A quantificação e diluição da solução de hipoclorito de sódio foi realizada pelas normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas [ABNT] (2005).

Após o teste LERCAFÉ, as sementes foram dispostas em bancadas, devidamente desinfetadas, e iniciou-se o registro das imagens das sementes. Utilizou-se folhas de papel A4 devidamente marcadas e enumeradas, a fim de homogeneizar o fundo das imagens e facilitar a organização e registro destas. As folhas foram quadriculadas e demarcadas com a presença de X, com o objetivo de demarcar exatamente o local onde deveria ser colocado a semente e a posição desta (eixo embrionário para cima) para facilitar posterior avaliação das imagens das mesmas. Após as sementes serem dispostas nas folhas, foram fotografadas com o auxílio de um suporte (Ribeiro et al., 2016), desenvolvido exclusivamente para a obtenção das imagens, que teve como finalidade padronizar a iluminação nas sementes e também a distância da câmera até a semente.

As imagens, em formato JPG, foram analisadas com o uso do *Software ImageK* – Sistema de Cálculo de Área por Imagem, desenvolvido pela Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha Mucuri. A figura 1 apresenta o ambiente de trabalho do *Software ImageK*.

Figura 1 - Ambiente de trabalho do *Software ImageK*



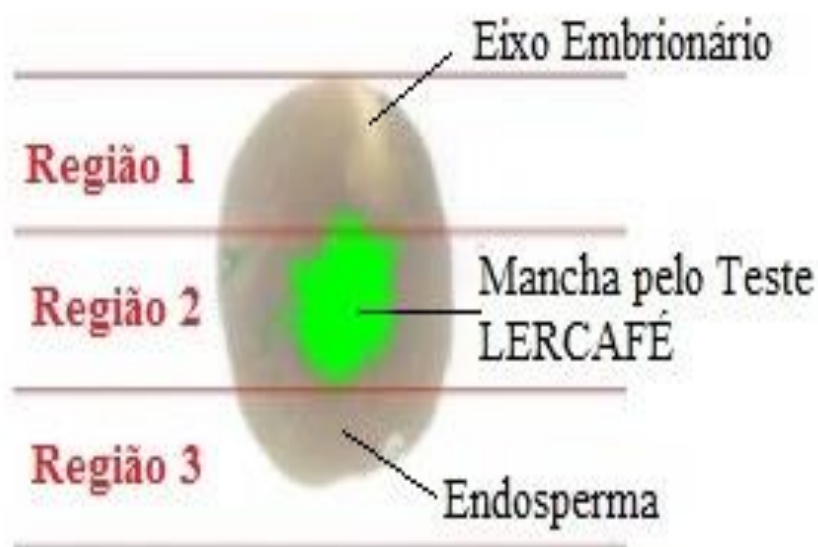
Como todas as imagens foram obtidas sob mesmas condições de luminosidade e distância objeto-lente, os parâmetros de brilho, contraste e suavidade foram padronizados para todas as imagens pela definição dos valores 90, 0 e 100, respectivamente. O emprego desses parâmetros permitiu a remoção da cor de fundo e a obtenção da área das sementes, em *pixels* ao quadrado (px^2).

A identificação da cor de referência, característica da resposta ao teste LERCAFÉ, foi obtida nas imagens de cada cultivar que, visualmente, apresentou a melhor resposta ao teste. A cor de referência foi realçada em todas as sementes utilizando-se o parâmetro de abrangência igual a 25%. Esse valor foi obtido por

tentativas até que a mancha da resposta ao teste LERCAFÉ, fosse completamente realçada. O *Software ImageK* permite a definição da cor a ser apresentada no realce da imagem. Para esse trabalho, foi utilizada a cor cujo código hexadecimal é 00FF00 (verde). O *Software ImageK* identificou a cor de referência pelo código em hexadecimal 7B8676.

As sementes de café ficaram dispostas na mesma posição com o eixo embrionário para cima. Para a localização da cor de referência nas sementes, ou seja, a área em que a mancha se encontra, programou-se o *Software ImageK* para que dividisse a imagem das sementes em 3 regiões. A Figura 2 representa uma área realçada na região 2 da semente.

Figura 2 - Semente de café submetida ao teste LERCAFÉ com manchas.



Depois de realçada a área manchada nas diferentes regiões das sementes, essas foram classificadas quanto à posição das manchas, como apresenta o Tabela 1, e após a germinação das mesmas, foram computados a porcentagem de semente que geraram plântulas normais para cada classificação das posições das **manchas**.

As cultivares foram analisadas separadamente através da análise descritiva utilizando o Teste Qui-Quadrado (χ^2) de

independência. Verificou-se a independência da posição que a mancha se encontrou na semente com o tipo de plântula após a germinação. Para esta análise utilizou-se o *Software Statistical Package for Social Sciences* [SPSS] (2009) para Windows versão 24, considerando-se um nível de significância de 5% ($p=0,05$) onde foi obtido os valores de porcentagem de sementes em posição da mancha e porcentagem de sementes em plântulas normais.

Tabela 1 - Classificação das posições das manchas presentes nas sementes de café após o teste LERCAFÉ

Classificação da posição das manchas	Descrição
1	Região do eixo embrionário manchado (Região 1)
2	Região Mediana manchada (Região 2)
3	Região distal do eixo embrionária manchada (Região 3)
4	Regiões 1 e 2 manchadas
5	Regiões 1 e 3 manchadas
6	Regiões 2 e 3 manchadas
7	Todas as regiões manchadas
8	Todas as regiões não manchadas

Resultados e discussão

Na caracterização do lote, o grau de umidade das sementes de café da cultivar Acaiá foi de 11% e da cultivar Araponga MG1 foi de 24%. Pelo teste de germinação a cultivar Acaiá apresentou 96% de germinação e a cultivar Araponga MG1, 95% de germinação, dessa forma, acima de 70%, limite considerado como padrão para a comercialização (Brasil, 1999). Para a primeira contagem do teste de germinação, observou-se para a cultivar Acaiá 90%, já para a Araponga MG1 93%. O resultado do IVG para a cultivar Acaiá foi de 4,75 e para a cultivar Araponga MG1 6,16.

Na Tabela 2, verifica-se o número de observações de sementes que geraram plântulas normais (N¹) e anormais, mortas e duras (N²) em cada posição das manchas, as porcentagens das plântulas normais nas diferentes posições de aparecimento das manchas nas sementes após o teste LERCAFÉ (% GPM) e também, as porcentagens de plântulas normais (%PN) obtidas para a cultivar Acaiá (n=82). Segundo o teste de Qui-Quadrado (p = 0,644) ocorreu independência significativa entre as posições das manchas e as plântulas normais, ou seja, a posição da mancha

nas sementes de café da cultivar Acaiá não influencia na obtenção de uma plântula normal pelo teste de germinação. Trujillo et al. (2019), avaliaram sementes de café quanto a morfologia interna e associaram tecidos deteriorados nas sementes que não germinaram e que obtiveram plântulas normais, e ainda sementes intactas que também não germinaram.

Para a cultivar Araponga MG1, na Tabela 3, observou-se que o número de plântulas normais (n=172) foi superior em relação a cultivar Acaiá. Pelos resultados do teste Qui-Quadrado houve dependência significativa (p = 0,006) entre as porcentagens das posições das manchas e as porcentagens de plântulas normais para a cultivar Araponga MG1. Sementes que apresentaram mancha pelo teste LERCAFÉ nas posições 3 e 7 tiveram menor porcentagem de plântulas normais em relação às outras posições. Diversos fatores podem estar associados a produção de sementes deterioradas e mal formadas, e conseqüente não formação de plântulas normais. Segundo Goulart et al. (2007), fatores como genótipo e sua interação com o ambiente, podem levar ao aparecimento de locus não fertilizados ou vazios, culminando à produção de sementes malformadas.

Tabela 2 - Número de plantas normais (N¹) e anormais, dormentes e duras (N²) nas diferentes posições de aparecimento das manchas, porcentagem de plântulas normais na posição da mancha (PNPM) e a porcentagem de plântulas normais (PN) do lote obtidas para a cultivar Acaiá.

Posição da Mancha	N ¹	N ²	% PNPM	% PN
1	1	2	33,3	1,2
2	16	22	42,1	19,5
3	3	7	30,0	3,7
4	1	4	20,0	1,2
5	0	0	0	0
6	13	20	39,4	15,9
7	3	10	23,1	3,7
8	45	58	45,9	54,9
Total	82	123	41,0	100

* Teste Qui-Quadrado com nível de significância $P > 0,05$ ($P=0,644$).

Tabela 3 - Número de plantas normais (N¹) e anormais, dormentes e duras (N²) nas diferentes posições de aparecimento das manchas, porcentagem de plântulas normais na posição da mancha (PNPM) e a porcentagem de plântulas normais (PN) do lote obtidas para a cultivar Araponga MG1.

Posição da Mancha	N ¹	N ²	% PNPM	% PN
1	6	0	100,0	3,5
2	38	2	95,0	22,1
3	4	2	66,7	2,3
4	11	3	78,6	6,4
5	0	0	0	0
6	32	5	86,5	18,6
7	31	13	70,5	18,0
8	50	3	94,3	29,1
Total	172	28	86,0	100

* Teste Qui-Quadrado com nível de significância $P < 0,05$ ($P=0,006$).

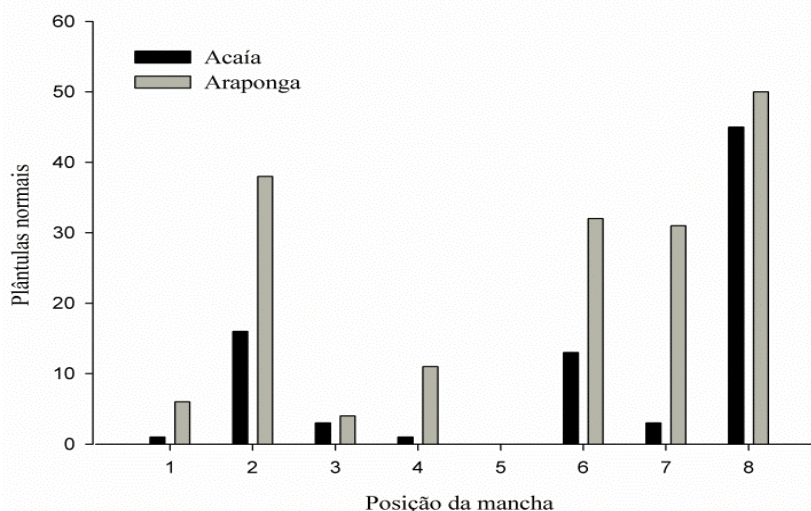
Manchas na posição 3, representa a região distal do eixo embrionário e a posição 7 são todas as regiões manchadas, indicando a baixa qualidade fisiológica das sementes com manchas nessas posições para a cultivar Araponga MG1. Segundo Reis et al. (2010), sementes que apresentaram manchas pelo teste LERCAFÉ em regiões ao redor do eixo embrionário emitiram a raiz primária, porém não foram capazes de gerar plântulas normais. Porém, para a posição 1 (região do eixo embrionário manchado), foi possível observar para a Araponga MG1, 100% de plântulas normais e também para a posição 6 (Região mediana e região distal do eixo embrionário) 86,5% de plântulas normais. Dessa forma, podem ter outros fatores que influenciam na obtenção de plântulas normais e não só o fato da mancha estar próxima ao eixo embrionário.

Apesar da independência para a cultivar Acaíá e dependência para a Araponga MG1, observou-se maior número de plântulas normais nas posições 2, 6 e 8, para ambas as cultivares, e consequentemente maior porcentagem de plântulas normais nessas posições. Reis et al. (2010), observaram que as sementes que não apresentaram nenhum tipo de dano em toda a extensão do endosperma originaram plântulas normais com desenvolvimento superior aos demais. Essa observação corrobora com os resultados dessa pesquisa em que a posição 8 (todas as regiões não manchadas) obteve maior porcentagem de plântulas normais.

Na Figura 3 é apresentado o número de plântulas normais nas diferentes classificações de posição das manchas para as cultivares de café Acaíá e Araponga MG1. Observa-se nas duas cultivares que não houve número de plântulas normais na posição da mancha 5, ou seja, nenhuma semente apresentou as regiões 1 e 3 manchadas. A maior parte das sementes, em média 50%, não apresentaram mancha em nenhuma das regiões (Região 8). As sementes com manchas nas regiões medianas (Posição 2) e nas regiões medianas e distal do eixo embrionário (Posição 6) apresentaram maior número de plântulas normais para ambas cultivares. Para a cultivar Araponga MG1 também foi representativo o número plântulas normais com sementes manchadas em todas as regiões (Posição 7). As manchas presente nas sementes podem estar associadas a deterioração das mesmas. Alterações relacionadas à deterioração dos tecidos reflete principalmente à interação das sementes com as condições ambientais e a dependência dos processos que são submetidas (Trujillo et al., 2019).

Para a indicação da metodologia ideal do teste LERCAFÉ em sementes de café, existem ainda a necessidade de refinamento do teste, envolvendo maior número de lotes e na captura das imagens das sementes, é necessário aprimoramento do suporte e câmera digital de melhor qualidade.

Figura 3 - Comparação das cultivares, quanto ao número de plântulas normais dentro de cada posição da mancha. 1- Região do eixo embrionário manchado (Região 1), 2 -Região Mediana manchada (Região 2), 3-Região distal do eixo embrionária manchada (Região 3),4-Regiões 1 e 2 manchadas, 5- Regiões 1 e 3 manchadas, 6- Regiões 2 e 3 manchadas, 7- Todas as regiões manchadas, 8- Todas as regiões não manchadas.



Conclusões

As sementes de café sem manchas após o teste LERCAFÉ apresentaram porcentagens superiores de plântulas normais para ambas as cultivares.

A análise de imagens através do *Software ImageK* permitiu relacionar os resultados do teste LERCAFÉ e a germinação para a cultivar Araponga MG1. Para a cultivar Acaiá as posições da mancha e germinação das sementes não estão associadas.

Referências

- Associação Brasileira de Normas Técnicas. (2005). *Hipoclorito de sódio - Determinação de cloro ativo - Método volumétrico* (3p) [NBR 9425:2005]. Rio de Janeiro: ABNT.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2009). *Regras para análise de sementes* (399p). Brasília: Secretaria de defesa agropecuária.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (1999). *Padrões de sementes para safra 99/2000*. Campinas: Comissão Estadual de Sementes e Mudanças.
- Clemente, C.S.A., et al. (2011). Preparo das sementes de café para avaliação da viabilidade pelo teste tetrazólio. *Revista Brasileira de Sementes*, 33 (1), 38-44.
- Flor, E.P.O.F., et al. (2004). Avaliação de danos mecânicos em soja por meio da análise de imagens. *Revista Brasileira de Sementes*, 26 (1), 68-76.
- Forti, V.A., Cícero, S.M., & Pinto, T.L.F. (2008). Análise de imagens de danos mecânicos e agudos por percevejos em sementes de feijão. *Revista Brasileira de Sementes*, 30 (1), 121-130.
- Goulart, P.F.P; et al. (2007). Aspectos histoquímicos e morfológicos de grãos de café de diferentes qualidades. *Ciência Rural*, 37 (3), 662-666.
- Guimarães, G.C., et al. (2013) Minimum period to assess the potential of germination of coffee seeds. *Journal of Seed Science*, 35 (3), 347-352.
- Maguire, J. B. (1962). Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence vigor. *Crop Science*, 2 (2), 176-177.
- Nascimento, R.M., et al. (2016). Viability and enzyme activity of coffee seeds subjected to the LERCAFÉ test. *African Journal of Agricultural Research*, 11 (15), 1282-1288.
- National Institutes of Health. (2009). *Software ImageK (ImageJ)* [Software]. Recuperado de <https://imagej.nih.gov/ij/>.
- Reis, L.S., et al. (2010). LERCAFÉ: novo teste para estimar o potencial germinativo de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). *Revista Brasileira de Sementes*, 32 (1), 9-16.
- Ribeiro, B.G., et al. (2016) Image analysis of coffee seeds submitted to the LERCAFÉ test. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 38 (3), 355-361.
- Rosa, S.D.V.F., et al. (2009). Estádios do desenvolvimento de plântula de café: uma justificativa para a redução do teste de germinação. In: *Anais do Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil*. Vitória: Consórcio Pesquisa Café, 6.
- SPSS Statistics. (2009). *Programa Statistical Package for Social Sciences. Command Syntax Reference (SPSS Statistics 17)* [Programa de computador]. Chicago, IL: SPSS Inc.
- Teixeira, E.F., Cícero, S.M., & Dourado Neto, D. (2016). Análise de imagens digitais de plântulas para avaliação do vigor de sementes de milho. *Revista Brasileira de Sementes*, 28 (2), 159-167.
- Trujillo, H. A., Guilhien Gomes-Junior, F., Lara, I. A. R., & Cicero, S. M. (2019). Radiographic analysis and performance of coffee seeds. *Journal Seed Science*, 41 (4), 431-440.
- Vaz Mondo, V.H., & Cicero, S.M. (2005) Análise de imagens na avaliação da qualidade de sementes de milho localizadas em diferentes espécies na espiga. *Revista Brasileira de Sementes*, 27 (1), 9-18.
- Zonta, J.B., et al. (2010). Teste LERCAFÉ para sementes de cafeeiro com diferentes teores de água. *Revista Brasileira de Sementes*. 32 (1), 17-23.

Recebido em: 11/03/2019
Aceito em: 10/05/2021