

## Nota Técnica

# Predação de sementes de *Aniba rosaeodora* Ducke por meio de análise de imagens

Seed predation of *Aniba rosaeodora* Ducke by image analysis

Adrian Arturo Arispe Torrez<sup>I</sup> 

Angela Maria Imakawa<sup>II</sup> 

Ariel Dotto Blind<sup>I</sup> 

Paulo de Tarso Barbosa Sampaio<sup>I</sup> 

<sup>I</sup>Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM, Brasil

<sup>II</sup>Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, AM, Brasil

## RESUMO

*Aniba rosaeodora* Ducke é uma espécie de alta relevância na indústria da perfumaria. A exploração excessiva, frutificação irregular e altos índices de predação de frutos, principalmente por insetos, situam a *Aniba rosaeodora* na lista de espécies ameaçadas de extinção. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência da análise de imagens radiográficas em sementes predadas por *Heilipus odoratus* e a influência dos danos no processo de germinação e formação de plântulas. As sementes cotiledonares foram submetidas ao teste de raios X na intensidade de 35 kV por 10 segundos e a predação foi analisada por meio das imagens radiográficas com o *software* Imagej2®, estabelecendo-se as categorias: danos pequenos ( $\leq 25\%$ ); danos moderados ( $> 25\% - \leq 50\%$ ) e danos severos ( $> 50\%$ ). O teste de raios X permitiu detectar que sementes com orifícios não necessariamente estavam sendo predadas no seu interior. Apesar de perdas na reserva cotiledonar pela predação, as sementes ainda conseguem emitir raízes se o eixo embrionário não for atingido, porém, as possibilidades de emitir a parte aérea se reduzem drasticamente conforme o aumento dos danos. Concluiu-se que o teste de raios X foi eficiente para confirmar a predação sem afetar o processo de germinação e que a análise de imagens é uma ferramenta adequada para mensurar os danos provocados por *Heilipus odoratus*.

**Palavras-chave:** Raios X; *Heilipus odoratus*; Imagens radiográficas; *Software* Imagej2®

## ABSTRACT

---

*Aniba rosaeodora* Ducke is a species of high relevance in the perfumery industry. The overexploitation, irregular fruiting, and high rates of fruit predation, mainly by insects, place *Aniba rosaeodora* in the list of species threatened with extinction. The objective of this study was to evaluate the efficiency of the analysis of radiographic images in the seeds predated by *Heilipus odoratus* and the influence of the damages in the germination and the seedling formation process. The cotyledon seeds were submitted to an X-ray test at an intensity of 35 kV for 10 seconds and the predation was analyzed using radiographic images with the Imagej2® software, establishing the categories: small damages ( $\leq 25\%$ ); moderate damages ( $> 25\% - \leq 50\%$ ) and severe damages ( $> 50\%$ ). The X-ray test allowed to detect that seeds with holes were not necessarily being preyed on the inside. Despite the losses in the cotyledon reserve due to predation, the seeds are still able to emit roots if the embryonic axis is not compromised. However, the possibilities of emitting the aerial part are drastically reduced as the damage increases. It was concluded that the X-ray test was efficient to confirm the predation without affecting the germination process and that the image analysis is an adequate tool to measure the damage caused by *Heilipus odoratus*.

**Keywords:** X-rays; *Heilipus odoratus*; Radiographic images; Imagej2® software

## 1 INTRODUÇÃO

*Aniba rosaeodora* Ducke é uma espécie florestal da família Lauraceae, considerada de alto valor econômico pela presença de óleo essencial rico em linalol, utilizado como fixador pela indústria da perfumaria (KRAINOVIC *et al.*, 2017). No Brasil, essa espécie sofreu uma intensa exploração seletiva nas décadas de 1980 e 1990 sem a reposição exigida pelo antigo Código Florestal nº 4.771, de 15 de setembro de 1965 (Lei Florestal nº 12.651/2012). Esse fato resultou no desaparecimento das populações naturais, causando sua inclusão na lista de espécies ameaçadas de extinção do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA, 1992) e, depois, incluídas no apêndice II da Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Fauna e Flora Selvagens em Perigo de Extinção (CONVENÇÃO SOBRE O COMÉRCIO INTERNACIONAL DAS ESPÉCIES DA FAUNA E DA FLORA SILVESTRES AMEAÇADAS DE EXTINÇÃO, 2010).

Estudos da fenologia de *Aniba rosaeodora* na Amazônia Central evidenciaram que a espécie possui frutificação irregular e sincronização deficiente de florescimento

(VIEIRA; SAMPAIO; SPIRONELLO, 2016). Naturalmente como a maioria das espécies nativas, *Aniba rosaeodora* está exposta aos ataques de predadores especialistas e/ou generalistas, que afetam drasticamente a produção de frutos e sementes (ZHANG; DRUMMOND; LIEBMAN, 1997; CARVALHO; CARVALHO; DAVIDE, 2009). Entre os predadores observados para esta espécie, encontram-se insetos (Coleoptera e Lepidoptera), aves (*Ramphastos tucanus* e *Selenidera piperivora*) e roedores (*Proechimys* sp.). Os ataques ocorrem ainda na copa da árvore, durante a pré-dispersão de frutos, o que dificulta seu monitoramento, já que esta espécie pode atingir até 30 metros de altura (SPIRONELLO; SAMPAIO; RONCHI-TELES, 2004; SANTOS; SPIRONELLO; SAMPAIO, 2008).

O principal inseto-praga das sementes é *Heilipus odoratus* (Coleoptera, Curculionidae, Molytinae) e categorizado como predador granívoro (HULME; BEKMAN, 2002) e fitófago, com características morfométricas de rostro longo e delgado, comprimento entre 9,3 e 13,5 mm e dotado de élitro que lhe permite realizar voos de curta distância. A infestação inicia-se com a oviposição da fêmea adulta diretamente nos frutos, através de um canal escavado com o rostro e, seguidamente, as larvas penetram a polpa, fazendo galerias até hospedar-se no interior das sementes, alimentando-se das reservas cotiledonares até chegar à fase de pupa. Após atingir a fase de inseto adulto, emergem escavando na semente um orifício de aproximadamente 6 mm de diâmetro (VANIN; GAIGER, 2005).

As sementes de *Aniba rosaeodora* que apresentam sinais de infestação por insetos são eliminadas na seleção de material para produção de mudas, acrescentando mais um problema para essa espécie, cujo material é escasso (FERRAZ; CAMARGO, 2016). Em aspectos biológicos, essas sementes infestadas garantem alimentação e proteção durante o processo da metamorfose de *Heilipus odoratus*. No entanto, em aspectos silviculturais, limita a disponibilidade de recursos e dificulta a aplicação de

técnicas para o manejo integrado dessa espécie. Portanto, surge a necessidade de confirmar se os orifícios que as sementes apresentam são um indício da presença de uma larva-predadora no seu interior, e se isso pode ser verificado por métodos não destrutivos, a exemplo do teste de raios X, que permite determinar a qualidade física e fisiológica, por meio da avaliação da morfologia interna das sementes (MEDEIROS *et al.*, 2018). Diferentes estudos têm demonstrado que esse teste não afeta o processo de germinação e tem sido utilizado em espécies nativas como *Ocotea pulchella*, *Nectandra grandiflora*, *Nectandra lanceolata*, *Nectandra nitidula*, *Leucaena leucocephala*, *Persea pyrifolia*, *Tabebuia heptaphylla*, *Terminalia argentea* e *Senna multijuga*, permitindo avaliar a qualidade e a viabilidade do lote de sementes (CARVALHO; CARVALHO; DAVIDE, 2009; AMARAL *et al.*, 2011; GOMES *et al.*, 2014; MARCHI; GOMES JUNIOR, 2017; MEDEIROS *et al.*, 2018).

A análise de imagens radiográficas, como complemento ao teste de raios X, pode ser realizada a partir de *softwares* semiautomáticos que permitem a mensuração das estruturas internas das sementes, facilitando relacionar os aspectos morfológicos ao processo da germinação, visando garantir a eficiência, rapidez e precisão durante as medições (SILVA *et al.*, 2017). Os *softwares* de uso frequente para a análise de imagens radiográficas de sementes são: Tomato analyzer® (MARCHI; GOMES JUNIOR, 2017), Image ProPlus® (SILVA; CICERO; BENNETT, 2012), Imagej® (MEDEIROS *et al.*, 2018) e Imagej2®. Esse último é uma versão reescrita e melhorada de toda a base do código Imagej, com a finalidade de oferecer uma série de novas funcionalidades que atendam às exigências de dados científicos de imagens (RUEDEN *et al.*, 2017).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi avaliar a predação interna de sementes de *Aniba rosaeodora* por larvas de *Heilipus odoratus*, por meio de análise de imagens radiográficas e determinar a influência de perdas na reserva cotiledonar no processo de germinação e formação de plântulas.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Coleta de material biológico

Os frutos de *Aniba rosaeodora* foram coletados em cinco matrizes de um plantio experimental (1 ha) com topografia de terreno plana e tipo de solo argiloso de textura pesada, instalado em 1968 sob sombra de floresta primária, com espaçamento 10 x 5 m, situado na Reserva Florestal Adolpho Ducke, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Manaus, Amazonas, Brasil.

O acompanhamento da fenologia se iniciou na época da floração (julho/2019) e as coletas foram realizadas durante a época de dispersão, quando se observou a queda espontânea de frutos (outubro/2019). Os frutos foram coletados de ramos cortados com auxílio de podão de alumínio. Após a coleta, 450 frutos foram colhidos e colocados em sacos de plástico com furos de 1 mm, para facilitar as trocas gasosas. No mesmo dia da coleta, os frutos foram transportados para o Laboratório Integrado de Propagação de Plantas, da Escola Superior de Tecnologia, Universidade do Estado do Amazonas.

### 2.2 Métodos de laboratório

Os frutos ainda imaturos, de coloração verde, foram dispostos sobre bancadas forradas com jornal e mantidos durante quatro dias em condições de laboratório ( $27 \pm 2$  °C), até atingirem a coloração violáceo-escura. Selecionou-se aqueles com comprimento  $\geq 2$  cm e largura  $\geq 1,8$  cm, e em seguida foram submersos em água corrente durante 60 segundos, eliminando-se da seleção os frutos leves que flutuaram. Posteriormente, os frutos selecionados foram observados em lupa estereoscópica para verificar a presença ou ausência de orifícios de oviposição de insetos (*Heilipus odoratus*) e, a partir disso, foram separados em dois grupos: sadios e com orifícios (sinais de infestação). Para os dois grupos, a polpa dos frutos foi retirada por meio da abrasividade manual, com apoio de uma peneira granulométrica de 40  $\mu$ m de diâmetro.

O teor de umidade foi obtido a partir de quatro repetições com cinco sementes cada, cortadas transversalmente, seguido de corte longitudinal, resultando em quatro partes, e colocadas em cápsulas de alumínio que foram depositadas em estufa (Quimis® Q-317B253) sob temperatura de  $103 \pm 2$  °C, durante 24 horas. Os resultados foram expressos em porcentagem com base na massa úmida das sementes, conforme as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

### **2.3 Teste de raios X**

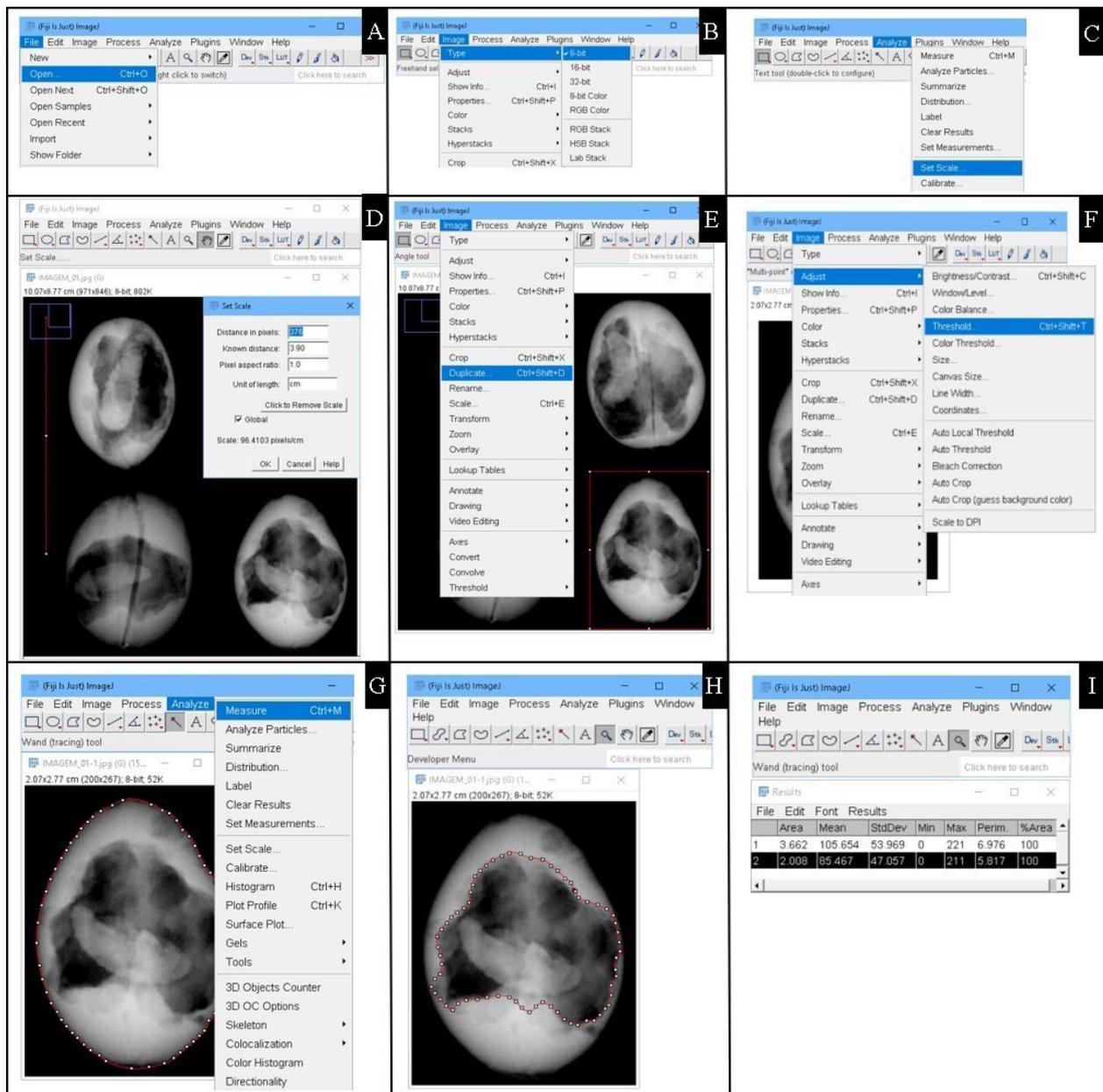
A intensidade de radiação e o tempo de exposição ideal das sementes foram definidos por testes preliminares com equipamento Faxitron® LX-60 Cabinet, acoplados a um computador com processador Intel® Core™2 Duo E7400, 2.80 GHz e memória RAM de 1.99 GB, e as imagens radiográficas foram projetadas em um monitor MultiSync LCD1990SX de 19 polegadas. A radiação estabelecida para a aplicação do teste foi de 35 kV durante 10 segundos a uma distância focal de 75 cm. Foram utilizadas 400 sementes, sendo 60 completamente sadias e 340 com orifícios (sinais de infestação), que foram colocadas sobre a base de uma placa acrílica de 12 x 12 cm para exposição aos raios X. Com base no resultado das imagens radiográficas, as sementes com orifícios foram classificadas em: a) sementes sem presença de larvas e b) sementes com presença de larvas. Posteriormente, as sementes foram acondicionadas em placas de isopor com espaços adaptados e respectivamente numerados com base na imagem radiográfica.

### **2.4 Avaliação da predação**

As sementes correspondentes ao grupo “com presença de larvas” foram submetidas ao teste de raios X a cada 15 dias, até se confirmar a fase de pupa (estado imóvel e intermediário entre as fases de larva e adulto) de *Heilipus odoratus*, mantendo

a mesma intensidade e tempo de exposição mencionados no tópico anterior. A avaliação e mensuração do nível de danos no interior das sementes foi realizada a partir das imagens radiográficas digitalizadas no computador, que foram salvas no formato JPG e analisadas com o *software* Imagej2®. A sequência de passos executados foi a seguinte: *abertura da imagem* (Figura 1A), conversão para o tipo de *escala de cinza* 8-bit (Figura 1B), definição da *escala de referência*, neste caso, uma linha de 3,9 cm (Figura 1C - 1D) e a avaliação das sementes individualmente, selecionando-se aquela de interesse com a opção *retângulo* e imediatamente *duplicada* em uma nova guia (Figura 1E). O cálculo da área total (mm<sup>2</sup>) e do perímetro (mm) foram obtidos por meio do ajuste da imagem na opção *threshold* (Figura 1F), mantendo-se as configurações por defeito e reduzindo-se o contraste da parte superior para 43,37%. A borda da semente foi selecionada com a ferramenta *varinha (traçamento)*, e como complemento, ingressou-se no editor e, através da opção *seleção*, habilitou-se o *ajuste spline*, que plotou automaticamente pontos com separação milimétrica sobre a área de seleção, permitindo colocar cada ponto na borda da área da semente. Em seguida, o contraste foi reduzido para 0%. A partir daí, calcularam-se a área total e o perímetro com a opção *análise e medida*, mantendo-se a escala de referência mencionada inicialmente (Figura 1G). Para a determinação da área predada, foi ativada a *seleção à mão livre*, traçando a área danificada, e como complemento, foi habilitado o *ajuste spline*, permitindo colocar manualmente cada ponto na borda da área predada (Figura 1H). Os resultados foram obtidos com a opção *análise e medida* (Figura 1I). A partir desses resultados, calcularam-se a circularidade das sementes ( $c = 4\pi * \text{área}/\text{perímetro}^2$ ) e o percentual da área predada, estabelecendo-se as seguintes categorias: danos pequenos (predação ≤ 25%), danos moderados (predação > 25% - ≤ 50%) e danos severos (predação > 50%).

Figura 1 – A-I) Sequência de passos utilizados no *software* Imagej2® durante a análise de imagens radiográficas de sementes de *Aniba rosaeodora* predadas por *Heilipus odoratus*



Fonte: Autores (2019)

## 2.5 Teste de germinação de sementes

As sementes foram desinfetadas em solução de hipoclorito de sódio a 1%

durante cinco minutos e, posteriormente, enxaguadas três vezes em água corrente e secas com papel-toalha. As sementes de cada grupo (1- sadias; 2a- sem presença de larvas e 2b- com presença de larvas) foram separadas e colocadas para germinar em caixas gerbox (11 x 11 x 3,5 cm) contendo como substrato vermiculita esterilizada e autoclavada (Quimis® Q-190-26), e mantidas em câmara BOD (*Biochemical Oxygen Demand* Quimis® Q315D16) a  $28 \pm 2$  °C e fotoperíodo 12 horas. O período de avaliação foi de 90 dias, umedecendo-se o substrato diariamente com água destilada (BRASIL, 2009). Durante o período de avaliação, foi considerado o percentual de germinação ( $G = N/A * 100$ ), utilizando-se como critério a emissão radicular  $\geq 2$  mm (LABOURIAU, 1983). Ao final do experimento, as sementes que não germinaram foram retiradas do substrato e cortadas pela metade para serem observadas e, de acordo com a oxidação interna, classificadas como sementes dormentes ou mortas (coloração amarelada ou marrom, respectivamente). Assim também registrou-se o percentual de insetos que completaram o ciclo da metamorfose e eclodiram das sementes.

Após 90 dias, registrou-se a formação de plântulas, conforme as Regras para Análise de Sementes, considerando-se “normal” aquela que apresentou sistema radicular formado por raiz primária longa e delgada, revestida por numerosos pelos absorventes, parte aérea com epicótilo em desenvolvimento, altura mínima de 10 cm e presença de gema apical e folhas primárias em expansão. Considerou-se “plântula anormal” aquela com desenvolvimento fraco, com deformação ou deteriorada pela ausência das estruturas essenciais (BRASIL, 2009).

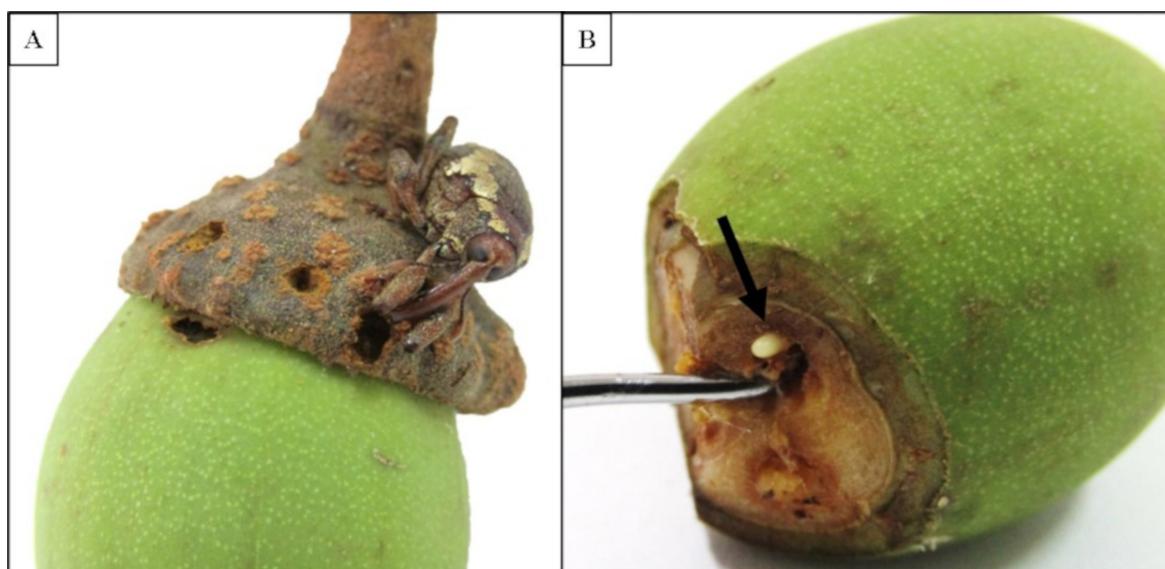
## **2.6 Análise de dados**

Os dados foram submetidos à análise estatística descritiva. Os resultados foram avaliados através da relação entre o dano detectado pela análise de imagens radiográficas e a porcentagem de germinação de sementes, bem como a formação de plântulas.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os frutos apresentaram comprimento e largura de  $2,87 \pm 0,13$  cm e  $2,10 \pm 0,12$  cm, respectivamente. A avaliação da superfície do epicarpo permitiu evidenciar danos causados pelo inseto-broca (*Heilipus odoratus*) em 78% (n= 450) dos frutos coletados. Entre as características principais dos insetos broqueadores destaca-se a especialidade em escavar galerias e introduzir-se em qualquer parte da planta (tronco, frutos e sementes) e podem ser, ou não, específicos para uma determinada espécie (FUENTES; VILDOZOLA; URÍAS-LÓPEZ, 2017). Para *Aniba rosaeodora* existem registros de ataques desses insetos correspondentes às ordens Coleoptera e Lepidoptera, que atacam durante a formação de frutos, causando danos acima de 60% (SPIRONELLO; SAMPAIO; RONCHI-TELES, 2004). A espécie com maior frequência nos ataques é *Heilipus odoratus*, responsável por realizar orifícios nos frutos e, inclusive, na cúpula (sustento do fruto), com a finalidade de ovipositar (Figura 2); e, através de galerias, as larvas conseguem penetrar e hospedar-se nas sementes, permitindo a entrada de microrganismos que também podem afetar a viabilidade do processo de germinação (SCHERER; ROMANOSKI, 2005).

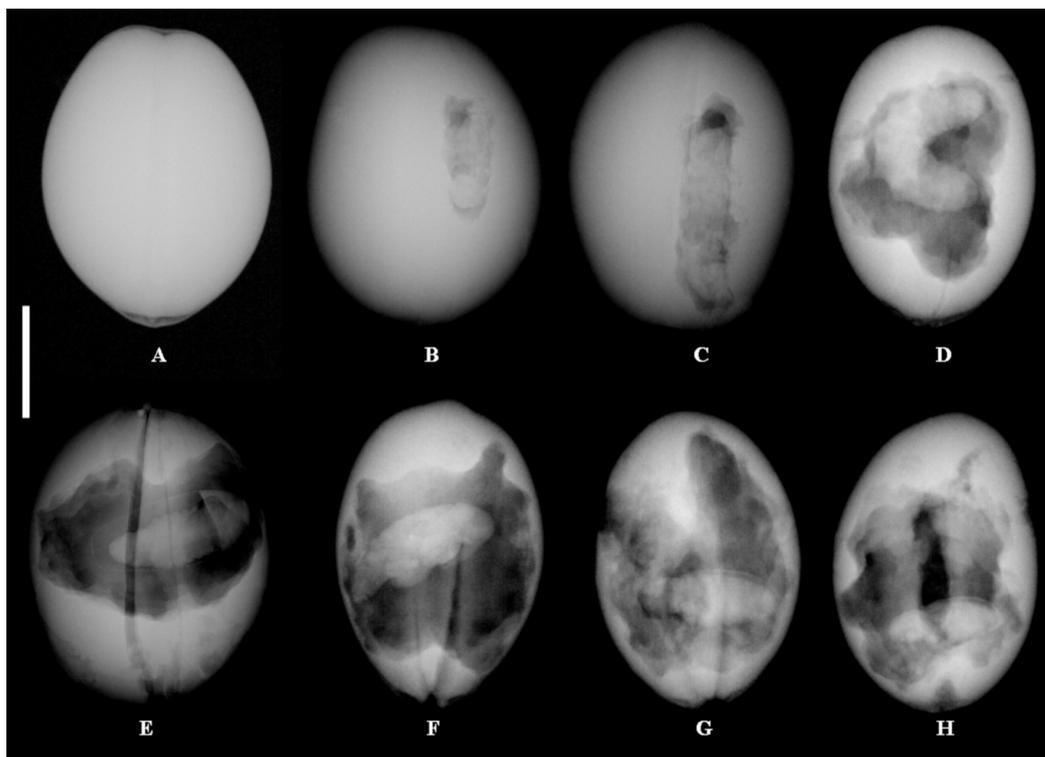
Figura 2 – A) Fêmea adulta de *Heilipus odoratus* realizando orifícios em diferentes partes do fruto de *Aniba rosaeodora* para oviposição, B) Detalhe do local de oviposição com a presença de ovo de *Heilipus odoratus*



Fonte: Autores (2019)

Destaca-se que as configurações do equipamento de raios X (35 kV por 10 segundos) foram adequadas para gerar imagens radiográficas de ótima qualidade, o que permitiu evidenciar que apenas 54% de 340 sementes com orifícios exibiam larvas, que foram acompanhadas até completar a metamorfose (Figura 3). Segundo Carvalho, Carvalho e Davide (2009), o teste de raios X aplicado em sementes da família Lauraceae (*Nectandra nitidula* e *Nectanda grandiflora*), na intensidade de radiação 30 kV durante 2 e 3 minutos, permitiu identificar 5% e 10% de infestação por larvas de insetos, respectivamente. Por outro lado, durante o teste de raios X em sementes de *Aniba rosaeodora* não foi possível visualizar as estruturas do eixo embrionário, diferentemente do observado em estudos de raios X aplicados em sementes florestais de *Anacardium othonianum*, *Leucaena leucocephala*, *Tecoma stans* e *Terminalia argentea*, fato que pode estar relacionado ao alto conteúdo de água nas sementes (48,37%), dificultando a penetração da luz e, em consequência, afetando a clareza na visualização das estruturas das sementes nas imagens radiográficas (SOCOLOWSKI; CICERO, 2008; GOMES *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2017; MEDEIROS *et al.*, 2018).

Figura 3 – Imagem radiográfica de sementes de *Aniba rosaeodora*. A) Sementes sadias, B - D) Desenvolvimento de larvas de *Heilipus odoratus*, E) Pré-pupa de *Heilipus odoratus*, F) Pupa de *Heilipus odoratus*, G - H) Insetos adultos de *Heilipus odoratus*. Barra de escala: 1 cm



Fonte: Autores (2019)

A utilização conjunta do *software* semiautomático Imagej2® durante a avaliação de imagens radiográficas permitiu medir com precisão a área total, a área predada e o perímetro das sementes. A determinação de danos em função da predação, sob o critério de transformação das larvas em pupas (fase em que o indivíduo não se alimenta), permitiu ter a certeza de que a área dos danos na semente não iria aumentar (VANIN; GAIGUER, 2005). A análise das sementes permitiu observar variabilidade na proporção das categorias estabelecidas (danos pequenos, moderados e severos), bem como houve homogeneidade na biometria das sementes (área total, perímetro e circularidade), que em conjunto apresentaram forma ovoide (Tabela 1).

Tabela 1 – Biometria de sementes predadas de *Aniba rosaeodora* (N= 184) por meio da análise de imagens radiográficas utilizando-se o *software* Imagej2®

<b>Categorias</b>	<b>Sementes (%)</b>	<b>Área Total (mm<sup>2</sup>)</b>	<b>Área Predada (mm<sup>2</sup>)</b>	<b>Perímetro (mm)</b>	<b>Circularidade</b>
Predação ≤25%	10,87	3,35 ± 0,43	0,56 ± 0,22	7,84 ± 0,51	0,69 ± 0,08
Predação >25% - ≤50%	44,57	3,31 ± 0,51	1,28 ± 0,28	7,76 ± 0,73	0,69 ± 0,08
Predação >50%	44,57	3,16 ± 0,46	2,00 ± 0,34	7,55 ± 0,65	0,70 ± 0,08

Fonte: Autores (2019)

Em que: Valores médios expressados em porcentagem com respectivo desvio padrão.

A viabilidade das sementes sadias foi de 93,33% com capacidade para produzir 91,66% de plântulas normais, além disso, constatou-se que 86,54% das sementes com orifícios sem presença de larvas conseguiram germinar e produzir 80,13% de plântulas normais. Foi constatado que a predação influencia circunstancialmente o processo de germinação das sementes mais afetadas, que apesar de terem perdas na reserva cotiledonar, ainda conseguem emitir raízes se o eixo embrionário não for atingido, embora as possibilidades de emitir a parte aérea se reduzem drasticamente conforme o aumento de danos (Tabela 2). Além disso, o teste de raios X aplicado em sementes de *Nectandra lanceolata*, *Ocotea pulchella* e *Persea Pyrifolia* permitiu detectar sementes malformadas e com alterações morfológicas, que influenciaram na formação de plântulas (CARVALHO; CARVALHO; DAVIDE, 2009).

Tabela 2 – Viabilidade das sementes, germinação e formação de plântulas normais (PN) e anormais (PA) de *Aniba rosaeodora* avaliadas nas categorias de sementes sadias, com orifício e sem presença de larvas e sementes danificadas por predação

<b>Categorias</b>	<b>Germinação de Sementes (%)</b>	<b>Sementes Mortas (%)</b>	<b>Sementes Dormentes (%)</b>	<b>PN (%)</b>	<b>PA (%)</b>
Sadias	93,33	1,66	5,00	91,66	1,66
Sem presença de larvas	86,54	11,54	1,92	80,13	6,41
Predação ≤25%	55,00	45,00	-	25,00	5,00
Predação >25% - ≤50%	29,27	70,73	-	7,32	6,10
Predação >50%	20,73	79,27	-	1,22	3,66

Fonte: Autores (2019)

Em que: Valores médios expressados em porcentagem.

Apesar das sementes apresentarem entre 1 e 7 orifícios de oviposição, observou-se apenas o desenvolvimento de um único indivíduo adulto de *Heilipus odoratus* por semente, evidenciando que este fato pode estar relacionado ao canibalismo entre os indivíduos imaturos, comportamento já registrado em algumas espécies da ordem Coleoptera e está baseado em duas estratégias de competição, por recurso compartilhado e por espaço, garantindo alimento para o desenvolvimento da larva mais vigorosa (GUEDES; GUEDES; SMITH, 2007; ARAUJO *et al.*, 2009; GUEDES, 2013; BOOTH; ALYOKHIN; PINATTI, 2015). O acompanhamento da predação de sementes de *Aniba rosaeodora* por larvas em desenvolvimento de *Heilipus odoratus* é complexo, por ser um processo que ocorre internamente, o que dificulta sua visualização e detalhamento das diferentes fases. No entanto, o teste de raios X facilita a compreensão desse comportamento de interação específica inseto-planta ou entre larvas e sementes. Utilizando a mesma técnica, Bolívar-Silva, Guedes e Guedes (2017) acompanharam a formação de galerias e o avanço dos indivíduos imaturos de *Sitophilus granarius* e *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae) em sementes de *Zea mays*, confirmando o canibalismo e evidenciando que esse processo impactou positivamente no desempenho reprodutivo, peso e biomassa dos indivíduos sobreviventes que

emergiram. De modo similar, o monitoramento de sementes de *Aniba rosaeodora*, com predação interna confirmada pelas imagens (n=184), evidenciou que 73% das larvas conseguiram completar o ciclo de metamorfose e emergiram como uma larva única por semente.

Portanto, este estudo reflete as diferentes aplicações e benefícios que podem ser obtidos com a utilização do teste de raios X conjuntamente com a análise de imagens radiográficas, facilitando a seleção de material biológico e evitando o descarte total de sementes com orifícios e, conseqüentemente, ampliando as chances para a produção de mudas. Adicionalmente, contribui para enriquecer a base de informações sobre predação de sementes de *Aniba rosaeodora* e facilitar o acompanhamento de aspectos sobre a biologia e comportamento de *Heilipus odoratus*, características ainda pouco estudadas, e que em conjunto, contribuem para o desenvolvimento de técnicas que possam ser utilizadas no manejo integrado dessa praga.

## **4 CONCLUSÕES**

A intensidade de 35 kV durante 10 segundos permite visualizar e localizar os danos causados por *Heilipus odoratus* em sementes de *Aniba rosaeodora*.

A análise de imagens radiográficas com o uso do *software* ImageJ2® permite medir com precisão e rapidez a área predada da semente.

A detecção de sementes com orifícios e identificadas sem a presença de larvas no seu interior é essencial para evitar o descarte de material biológico, ao mesmo tempo que permite melhorar a qualidade do lote, garantindo que essas sementes ainda possam ser consideradas viáveis na produção de mudas.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Programa de Coleções e Acervos do INPA (PCCB)/Coleção de Peixes, pela disponibilidade do equipamento Faxitron® LX-60 Cabinet. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

## REFERÊNCIAS

- AMARAL, J. B. *et al.* Teste de raios X para avaliação do potencial fisiológico de sementes de Ipê-roxo. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 601-607, 2011.
- ARAUJO, C. O. *et al.* Ecologia e variação espacial de *Naupactus lar* Germar (Coleoptera, Curculionidae, Entiminae) no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, RJ. **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 53, n. 1, p. 82-87, 2009.
- BOLÍVAR-SILVA, D. A.; GUEDES, N. M. P.; GUEDES, R. N. C. Larval cannibalism and fitness in the stored grain weevils *Sitophilus granarius* and *Sitophilus zeamais*. **Journal of Pest Science**, [s. l.], v. 91, n. 2, p. 707-716, 2017.
- BOOTH, E.; ALYOKHIN, A.; PINATTI, S. Adult cannibalism in an oligophagous herbivore, the Colorado potato beetle. **Insect Science**, [s. l.], v. 24, n. 2, p. 295-302, 2015.
- BRASIL. Lei nº 12.651, de 25 de maio de 2012. Dispõe sobre a proteção da vegetação nativa; altera as Leis nºs 6.938, de 31 de agosto de 1981, 9.393, de 19 de dezembro de 1996, e 11.428, de 22 de dezembro de 2006; revoga as Leis nºs 4.771, de 15 de setembro de 1965, e 7.754, de 14 de abril de 1989, e a Medida Provisória nº 2.166-67, de 24 de agosto de 2001; e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 149, n. 102, p. 1, 28 maio 2012.
- BRASIL. Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: Mapa; ACS, 2009. 398 p.
- CARVALHO, L. R.; CARVALHO, M. L. M.; DAVIDE, A. C. Utilização do teste de raios X na avaliação da qualidade de sementes de espécies florestais de Lauraceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 4, p. 57-66, 2009.
- CONVENÇÃO SOBRE O COMÉRCIO INTERNACIONAL DAS ESPÉCIES DA FAUNA E DA FLORA SILVESTRES AMEAÇADAS DE EXTINÇÃO. **Notificação às partes No. 2010/036**: Instrução normativa n. 9, de 5 de setembro de 2010. Genebra: CITES; UNEP, 2010. 3 p.
- FERRAZ, I. D. K.; CAMARGO, J. L. C. Sementes de *Aniba rosaeodora* Ducke. In: SAMPAIO, P. T. B. **Uso e Conservação do Pau-rosa**. 1. ed. Manaus, AM: EDUA, 2016. p. 61-65.
- FUENTES, L. M. H.; VILDOZOLA, A. C.; URÍAS-LÓPEZ, M. A. Weevil borers in tropical fruit crops: Importance, Biology and Management. In: SHIELDS, V. D. C. **Insect Physiology and Ecology**. London: INTECH, 2017. p. 38-53.
- GOMES, K. B. P. *et al.* Avaliação da morfologia interna de sementes de *Terminalia argentea* (Combretaceae) pelo teste de raios X. **Revista Ciência Agronômica**, Ceará, v. 45, n. 4, p. 752-759, 2014.
- GUEDES, C. F. C. Preferência alimentar e estratégias de alimentação em Coccinellidae (Coleoptera). **Oecologia Australis**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 2, p. 249-270, 2013.
- GUEDES, R. N. C.; GUEDES, N. M. P.; SMITH, R. H. Larval competition within seeds: from the behaviour process to the ecological outcome in the seed beetle *Callosobruchus maculatus*. **Austral Ecology**, Carlton, v. 32, n. 6, p. 697-707, 2007.
- HULME, P. E.; BEKMAN, C. W. Granivory. In: HERRERA, C. M.; PELLMYR, O. **Plant-animal interactions: an evolutionary approach**. Cornwall, UK: Blackwell Science, 2002. p. 132-156.

IBAMA. **Lista Oficial da Flora Ameaçada de Extinção**. Brasília: Ministério do Meio ambiente, 1992. 15 p.

KRAINOVIC, P. M. *et al.* Sequential management of commercial rosewood (*Aniba rosaeodora* Ducke) plantations in Central Amazonia: Seeking sustainable models for essential oil production. **Forests**, Basel, v. 8, n. 12, p. 438, 2017.

LABOURIAU, L. G. Capacidade e velocidade de germinação. *In*: LABOURIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Washington: OEA, 1983. p. 45-62.

MARCHI, J. L.; GOMES JUNIOR, F. G. Use of image analysis techniques to determine the embryo size of *Senna multijuga* (Rich.) seeds and its relation to germination and vigor. **Journal of Seed Science**, Viçosa, MG, v. 39, n. 1, p. 13-19, 2017.

MEDEIROS, A. D. *et al.* Parameters based on X-ray images to assess the physical and physiological quality of *Leucaena leucocephala* seeds. **Ciencia e Agrotecnologia**, Lavras, v. 42, n. 6, p. 643-652, 2018.

RUEDEN, C. T. *et al.* ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data. **BMC Bioinformatics**, [s. l.], v. 18, p. 529, 2017.

SANTOS, R. P.; SPIRONELLO, W. R.; SAMPAIO, P. T. B. Genetic diversity in rosewood saplings (*Aniba rosaeodora* Ducke, Lauraceae): An ecological approach. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 38, n. 4, p. 707-714, 2008.

SCHERER, K. Z.; ROMANOWSKI, H. P. Predação de *Megacerus baeri* (Pic, 1934) (Coleoptera: Bruchidae) sobre sementes de *Ipomoea imperati* (Convolvulaceae), na praia da Joaquina, Florianópolis, sul do Brasil. **Biotemas**, Florianópolis, v. 18, n. 1, p. 39-55, 2005.

SILVA, L. A. *et al.* Radiographic image analysis of *Anacardium othonianum* Rizz (anacardiaceae) achenes subjected to desiccation. **Acta Scientiarum - Agronomy**, Maringá, v. 39, n. 2, p. 235-244, 2017.

SILVA, V. N.; CICERO, S. M.; BENNETT, M. Relationship between eggplant seed morphology and germination. **Revista Brasileira de Sementes**, Viçosa, MG, v. 34, n. 4, p. 597-604, 2012.

SOCOLOWSKI, F.; CICERO, S. M. Caracterização morfológica de embriões por imagens de raios x e relação com a massa e a qualidade fisiológica de sementes de *Tecoma stans* L. Juss. ex Kunth (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 200-208, 2008.

SPIRONELLO, W. R.; SAMPAIO, P. T. B.; RONCHI-TELES, B. Produção e predação de frutos em *Aniba rosaeodora* Ducke var. *amazonica* Ducke (Lauraceae) em sistema de plantio sob floresta de terra firme na Amazônia Central. **Acta Botanica Brasilica**, Brasília, v. 18, n. 4, p. 801-807, 2004.

VANIN, S. A.; GAIGER, F. A new spermophagous species of *Heilipus* Germar from the Amazonian. **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 49, n. 2, p. 240-244, 2005.

VIEIRA, G.; SAMPAIO, P. T. B.; SPIRONELLO, W. Ecologia Reprodutiva do Pau-rosa. *In*: SAMPAIO, P. T. B. **Uso e Conservação do Pau-rosa**. 1. ed. Manaus, AM: EDUA, 2016. p. 21-34.

ZHANG, J.; DRUMMOND, F.; LIEBMAN, M. **Technical Bulletin**: Insect Predation of Seeds and Plant Population Dynamics. Maine: University of Maine, 1997. 32 p.

## **Contribuição de Autoria**

### **1 – Adrian Arturo Arispe Torrez**

Engenheiro Florestal, Me., Engenheiro Florestal, Me., Doutorando em Ciências de Florestas Tropicais

<https://orcid.org/0000-0002-1274-343X> • [arturo.arispe.t@gmail.com](mailto:arturo.arispe.t@gmail.com)

Contribuição: Investigação, Metodologia, Curadoria de dados, Software, Escrita – primeira redação, Escrita – revisão e edição

### **2 – Angela Maria Imakawa**

Ecóloga, Dra.

<https://orcid.org/0000-0002-5655-5625> • [aimakawa@uea.edu.br](mailto:aimakawa@uea.edu.br)

Contribuição: Análise Formal, Recursos, Metodologia, Escrita – revisão e edição

### **3 – Ariel Dotto Blind**

Engenheiro Agrônomo, Dr.

<https://orcid.org/0000-0002-1499-7556> • [ariel.blind@inpa.gov.br](mailto:ariel.blind@inpa.gov.br)

Contribuição: Análise Formal, Visualização, Escrita – revisão e edição

### **4 – Paulo de Tarso Barbosa Sampaio**

Engenheiro Florestal, Dr., Pesquisador Titular

<https://orcid.org/0000-0003-0254-7651> • [sampaio@inpa.gov.br](mailto:sampaio@inpa.gov.br)

Contribuição: Obtenção de financiamento, Administração do projeto, Supervisão

## **Como citar este artigo**

Torrez, A. A. A.; Imakawa, A. M.; Blind, A. D.; Sampaio, P. T. B. Predação de sementes de *Aniba rosaeodora* Ducke por meio de análise de imagens. *Ciência Florestal*, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 1061-1077, 2022. DOI 10.5902/1980509848117. Disponível em: <https://doi.org/10.5902/1980509848117>.