



**RICHARD ALCIDES MOLINA ALVAREZ**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE  
SEMENTES DE MILHO E SOJA POR ESPECTROSCOPIA NO  
INFRAVERMELHO PRÓXIMO**

**LAVRAS-MG  
2018**

**RICHARD ALCIDES MOLINA ALVAREZ**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MILHO E SOJA  
POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães  
Orientador

Prof. Dr. João Almir Oliveira  
Coorientador

**LAVRAS-MG  
2018**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Molina Alvarez, Richard Alcides.

Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho e soja por espectroscopia no infravermelho próximo. / Richard Alcides

Molina Alvarez. - 2018.

88 p. : il.

Orientador(a): Renato Mendes Guimarães.

Coorientador(a): João Almir Oliveira, Gabriel Castanheira Guimarães.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. Qualidade Fisiológica. 2. Milho e Soja. 3. NIRS. I. Guimarães, Renato Mendes. II. Oliveira, João Almir. III.

**RICHARD ALCIDES MOLINA ALVAREZ**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MILHO E SOJA  
POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADO em 16 de março de 2018

Dr. Adriano Alves da Silva

UNIFOR

Dr. João Almir Oliveira

UFLA

Dr. Anderson Cleiton José

UFLA

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães  
Orientador

Prof. Dr. João Almir Oliveira  
Coorientador

**LAVRAS-MG  
2018**

Ao meu filho Richard, por me ter feito compreender que como pai, eu tenho o dever social de ser um exemplo de perseverança e luta. E que minhas ações irão moldar o seu caráter ao longo de sua jornada. Desse modo, desejo que a conquista deste título, o incentive a buscar sempre o melhor para si e para todos a sua volta.

À minha amiga, companheira e esposa Hilda pelo apoio incondicional. Por entender que, apesar da distância geográfica, nunca deixou de estar presente em meu coração e em meus pensamentos.

À toda a minha família.

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Rosa Alvarez e Alcides Molina, pela vida e a assistência constante para a realização dos meus objetivos profissionais.

Meus irmãos, Darwin, Willian, Gissella, Diana e Holger, pelo apoio em todos os momentos nesta caminhada.

À todos os demais parentes que demonstraram carinho e palavras de ânimo. De maneira especial, à José Sinchi e sua esposa Imaculada Yunga, pelo suporte financeiro, como fiadores para obtenção de um empréstimo de estudos superiores.

Em consequência ao fato anterior, ao *Banco del Pacifico* do Equador pela concessão de empréstimo econômico para realização da Pós Graduação.

À todos os meus amigos que trocaram palavras de alento e conselhos. Assim como outros que de alguma forma, contribuíram para alcançar este objetivo.

Ao programa PAEC-OEA/GCUB 2015, promovido pela Organização dos Estados Americanos, pela oportunidade de cursar o mestrado.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), assim como à CAPES, pela disponibilização da bolsa durante o mestrado.

Aos bolsistas PAEC-OEA/GCUB, de outras convocatórias, estudantes e conhecidos que também estudaram na UFLA e compartilharam experiências que facilitaram a convivência.

Aos meus colegas de mestrado que sempre me deram um norte para o meu desenvolvimento, tanto academicamente quanto linguisticamente, ajudando-me a superar as barreiras do idioma.

Aos meus colegas de trabalho do meu último emprego no *Instituto Nacional de Invetigaciones Agropecuarias* (INIAP) do Equador, onde tive o privilégio de compartilhar e de aprofundar o amor pelo desenvolvimento profissional.

Aos Doutores Victor Barrera do INIAP e Luis Narro do CIMMYT, pelas cartas de recomendação à OEA, com o objetivo de obter a bolsa de mestrado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães, pela compreensão, expertise e conhecimentos para realização dessa dissertação.

Ao Pessoal do Laboratório Central de Sementes, assim como os estagiários que colaboraram nos trabalhos requeridos.

À Marly, pela imensa ajuda desde o primeiro dia da minha chegada à UFLA, e por ter me acompanhado durante toda a caminhada.

Ao, pós doutorando Gabriel Castanheira Guimarães que com a sua sabedoria foi de grande auxílio na conclusão desse trabalho.

Aos meus amigos estrangeiros e, de maneira especial, à Lorena do México, Victor da Nicarágua, Sofia do Chile e Diego do Peru, com quem compartilhei uma república e que se tornaram uma família para mim. Sempre encheram-me de força e alegria para facilitar os desafios deste mestrado.

À todos os meus professores, por terem dedicado seu tempo, conhecimentos, responsabilidades e experiências para transmitir as bases necessárias no desenvolvimento científico e na conclusão desse mestrado.

Ao meu querido e lindo Equador, pela identidade. E aos conterrâneos que conheci em Lavras, como a Dona Miriam e, também aos que a Ufla me apresentou: Andrés, Alberto, Nancy, Fernanda e Galo, pelos diálogos compartilhados, a amizade e patriotismo como lembrança e orgulho de nosso país. A presença de vocês foi um alento a saudade de casa.

**MUITO OBRIGADO!**

## RESUMO

A qualidade fisiológica das sementes é fundamental na implantação de uma lavoura, sendo imprescindível a utilização de metodologias que auxiliem na determinação da deterioração ou do vigor, propriamente dito. Tornando-se fundamental a eficiência e eficácia dos testes aplicados. Desse modo, objetivou-se verificar o potencial da técnica de análise por *Near Infrared Reflectance Spectroscopy* (NIRS), utilizando um equipamento da marca *Bruker* para separar os diferentes níveis de qualidade fisiológica das sementes de milho e soja, relacionando os resultados com os testes convencionais de vigor recomendados para cada cultura. Foram obtidas amostras com diferentes níveis de vigor para cada espécie, utilizando o método do envelhecimento acelerado para deteriorá-las. Para avaliar o perfil das amostras, foram utilizadas avaliações de: Teor de água; germinação; primeira contagem de germinação; emergência em campo e índice de velocidade de emergência, para as duas culturas. E nos testes de condutividade elétrica e tetrazólio para soja: Envelhecimento acelerado, e teste de frio para o milho. A análise pelo NIRS foi realizada utilizando semente inteiras com grau de umidade uniformizada após a deterioração, os dados obtidos pelo equipamento foram analisados pelo método PLS-DA com o auxílio do software PIROUETTE. Pelos testes convencionais de vigor, foi possível distinguir vários níveis de vigor tanto nas sementes de milho, quanto nas de soja. Na avaliação pelo método NIRS, não foi viável distinguir satisfatoriamente os níveis de qualidade, quando estudado individualmente os lotes de cada cultura. Mas quando se agrupou os mais vigorosos e menos vigorosos, houve uma melhoria na resposta de classificação de lotes de sementes de milho e, com menor intensidade, os de semente de soja. Contudo, ainda assim, não foi o suficiente para discriminar com clareza os níveis de qualidade fisiológica quando relacionados com os testes convencionais de vigor.

**Palavras-chave:** Qualidade fisiológica. Milho. Soja. NIRS.



## ABSTRACT

The physiological quality of seeds is fundamental in the implantation of a crop, making it imperative to use methodologies that help to determine the deterioration or the vigor itself, being fundamental the efficiency and effectiveness of the applied tests. The objective of this study was to verify the potential of the Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) technique using Bruker brand equipment to separate different levels of physiological quality of corn and soybean seeds, to correlate the results with the conventional vigor tests recommended for each crop . Samples with different levels of vigor were obtained for each species using the accelerated aging method to deteriorate them. In order to evaluate the profile of the samples, water content, germination, first germination count, field emergence and emergency velocity index were used for the two cultures, and in the electrical conductivity and tetrazolium tests for soybean; accelerated aging and cold test for corn. The NIRS analysis was performed using whole seeds with uniform humidity degree after deterioration, the data obtained by the equipment were analyzed by the PLS-DA method with the help of the software PIROUETTE. By conventional tests of vigor it was possible to distinguish several levels of vigor in both corn and soybean seeds. In the NIRS method, it was not possible to distinguish satisfactorily the quality levels, when the lots of each crop were studied individually, but when the most vigorous and less vigorous ones were grouped, an improvement in the response of classification of lots of corn seeds and with less intensity to the soybean, it was not enough to discriminate clearly the levels of physiological quality when related to the conventional tests of vigor.

**Keywords:** Physiological quality. Corn. Soybean. NIRS.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Resultados da avaliação da (QF) dos lotes, com os estudos das medias de germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), envelhecimento acelerado (EA), emergência de plântulas em campo (EC), índice de velocidade de emergência (IVE) e Teste de Frio (TF), de sementes de milho. Lavras, MG, 2017.....	41
Figura 2	Espectros de seis amostras de sementes de milho submetidas ao infravermelho próximo, (Y) concentrações orgânicas; (X) comprimentos de ondas.....	42
Figura 3	Comprimentos de onda (cm <sup>-1</sup> ) referentes às amostras de sementes de milho estudados, a) T0, b) T1, c) T2, d) T3, e) T4, f) T5.....	44
Figura 4	Comprimentos de onda (cm <sup>-1</sup> ) referente a duas qualidades fisiológicas de sementes de milho por germinação, a) alto vigor e b) baixo vigor.....	46
Figura 5	Comprimentos de onda (cm <sup>-1</sup> ) referente ao Teste de Primeira Contagem de Germinação, a) alto vigor, b, c, d, e) baixo vigor.....	47
Figura 6	Comprimentos de onda (cm <sup>-1</sup> ) referente ao Teste de Envelhecimento Acelerado, a) alto vigor; b, c, d) baixo vigor.....	50
Figura 7	Comprimentos de onda (cm <sup>-1</sup> ) referente ao Teste de Emergência em Campo, a) alto vigor; b, c) baixo vigor.....	53
Figura 8	Espectros de seis amostras de sementes de soja submetidas ao infravermelho próximo (Y) concentrações orgânicas; (X) comprimentos de ondas.....	68
Figura 9	Comprimentos de onda (cm <sup>-1</sup> ) referentes aos lotes de sementes de milho estudados, a) T0, b) T1, c) T2, d) T3, e) T4, f) T5.....	71
Figura 10	Resultados da avaliação da (QF) dos lotes, com os estudos das medias de germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), Teste de tetrazólio (TZ), emergência de plântulas em campo (EC) e Índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de soja. Lavras, MG, 2017.....	73
Figura 11	Comprimentos de onda (cm <sup>-1</sup> ) referente ao teste germinação, a) alta germinação; b, d) baixa germinação e c) não classificou.....	75
Figura 12	Comprimentos de onda (cm <sup>-1</sup> ) referente as qualidades fisiologicas de sementes de soja pelo teste de PC.....	77
Figura 13	Comprimentos de onda (cm <sup>-1</sup> ) referente à qualidade fisiologica de sementes	

	de soja por teste de tetrazolio, a) alto vigor e b) baixo vigor.....	79
Figura 14	Comprimentos de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) referente às qualidades fisiológicas de sementes de soja pelo teste de emergência em campo, a) alto vigor; b, c) baixo vigor.....	81
Figura 15	Comprimentos de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) referente as qualidades fisiologicas de sementes de soja por IVE; a) alto vigor, d) baixo vigor; b, c) não classificaram.....	83
Figura 16	Resultados da avaliação da (QF) dos lotes, com os estudos de medias da Condutividade Elétrica (CE). ( $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$ ) .....	84

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Grau de umidade das amostras de sementes de milho.....	37
Tabela 2	Resultados médios da avaliação da qualidade fisiológica dos lotes de amostras de sementes de milho. Lavras, MG, 2017.....	40
Tabela 3	Sementes de milho em estudo, classificadas quanto sua qualidade fisiológica, através da PLS-DA, como auxílio da técnica de infravermelho próximo.....	42
Tabela 4	Sementes de milho em estudo, classificadas através da validação do modelo PLS-DA referente à sua qualidade fisiológica.....	43
Tabela 5	Sementes de milho classificadas por meio do modelo PLS-DA com base no teste de Germinação.....	44
Tabela 6	Sementes de milho em estudo, classificadas por meio da validação do modelo PLS-DA, segundo o Teste de Germinação.....	45
Tabela 7	Sementes de milho em estudo, classificadas por meio do modelo PLS-DA com base no teste de Primeira Contagem de Germinação.....	46
Tabela 8	Sementes de milho em estudo, classificadas através da validação do modelo PLS-DA, referente ao Teste de Primeira contagem de Germinação.....	47
Tabela 9	Sementes de milho em estudo, classificadas por meio do modelo PLS-DA com base no teste de envelhecimento acelerado.....	49
Tabela 10	Sementes de milho em estudo, classificadas por meio da validação do modelo PLS-DA, com base no Teste de Envelhecimento Acelerado.....	49
Tabela 11	Sementes de milho em estudo, classificadas por meio do modelo PLS-DA com base no teste de emergência em campo.....	52
Tabela 12	Sementes de milho em estudo, classificadas por meio da validação do modelo de PLS-DA, com base no Teste de Emergência em campo.....	52
Tabela 13	Grau de umidade dos lotes de sementes de soja.....	64
Tabela 14	Sementes de soja em estudo, classificadas por meio do modelo PLS-DA com base na qualidade fisiológica.....	69
Tabela 15	Sementes de soja em estudo, classificadas através da validação do modelo PLS-DA referente à sua qualidade fisiológica.....	70
Tabela 16	Resultados da avaliação da qualidade fisiológica dos lotes, com os estudos de das medias de germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), Teste de Tetrazólio (TZ), emergência de plântulas em campo (EC), Índice de velocidade de emergência (IVE) e Condutividade Elétrica (CE), de sementes	

	de soja. Lavras, MG, 2017.....	72
Tabela 17	Sementes de soja classificadas através do modelo PLS-DA com base no teste de Germinação.....	73
Tabela 18	Sementes de soja em estudo, classificadas por meio da validação do modelo PLS-DA, com base no Teste de Germinação.....	74
Tabela 19	Sementes de soja em estudo, classificadas por meio do modelo PLS-DA com base no teste de Primeira Contagem de Germinação.....	76
Tabela 20	Sementes de soja em estudo, classificadas por meio da validação do modelo PLS-DA com base no Teste de Primeira contagem de Germinação.....	76
Tabela 21	Sementes de soja em estudo, classificadas por meio do modelo PLS-DA com base no teste de tetrazólio.....	78
Tabela 22	Sementes de soja em estudo, classificadas por meio da validação do modelo PLS-DA, com base no Teste de Tetrazólio.....	78
Tabela 23	Sementes de soja em estudo, classificadas por meio do modelo PLS-DA com base no teste de emergência em campo.....	80
Tabela 24	Sementes de soja em estudo, classificadas através da validação do modelo PLS-DA, segundo o Teste de emergência em campo.....	80
Tabela 25	Sementes de soja em estudo, classificadas por meio do modelo PLS-DA com base no teste de Índice de Velocidade de Emergência.....	82
Tabela 26	Sementes de soja em estudo, classificadas através da validação do modelo PLS-DA, segundo o Teste de Índice de Velocidade de Emergência.....	82

## SUMÁRIO

	<b>CAPÍTULO 1 – REVISÃO GERAL.....</b>	<b>15</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>16</b>
<b>2.1</b>	<b>Vigor de sementes.....</b>	<b>16</b>
<b>2.2</b>	<b>Milho (<i>Zea mays</i> L.) .....</b>	<b>18</b>
<b>2.2.1</b>	<b>Qualidade fisiológica de sementes de milho.....</b>	<b>19</b>
<b>2.3</b>	<b>Soja (<i>Glycine max</i> (L.) Merr.) .....</b>	<b>20</b>
<b>2.3.1</b>	<b>Qualidade fisiológica de sementes de soja.....</b>	<b>20</b>
<b>2.4</b>	<b>Testes convencionais de vigor.....</b>	<b>21</b>
<b>2.4.1</b>	<b>Primeira contagem do Teste de Germinação.....</b>	<b>21</b>
<b>2.4.2</b>	<b>Condutividade elétrica.....</b>	<b>22</b>
<b>2.4.3</b>	<b>Teste de Tetrazólio.....</b>	<b>23</b>
<b>2.4.4</b>	<b>Teste de Frio.....</b>	<b>23</b>
<b>2.4.5</b>	<b>Envelhecimento Acelerado.....</b>	<b>24</b>
<b>2.4.6</b>	<b>Índice de Velocidade de Emergência (IVE).....</b>	<b>24</b>
<b>2.4.7</b>	<b>Emergência em Campo.....</b>	<b>25</b>
<b>2.4.8</b>	<b>Espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS).....</b>	<b>26</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>28</b>
	<b>CAPÍTULO 2 – ESPECTROSCOPIA NIR PARA AVALIAR A QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MILHO.....</b>	<b>31</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>33</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>35</b>
<b>2.1</b>	<b>Semente utilizada.....</b>	<b>35</b>
<b>2.2</b>	<b>Caracterização dos lotes.....</b>	<b>35</b>
<b>2.2.1</b>	<b>Grau de umidade.....</b>	<b>35</b>
<b>2.2.2</b>	<b>Teste de germinação.....</b>	<b>35</b>
<b>2.2.3</b>	<b>Estratificação do lote.....</b>	<b>36</b>
<b>2.3</b>	<b>Testes fisiológicos em sementes de milho.....</b>	<b>37</b>
<b>2.3.1</b>	<b>Teste de germinação (G) e primeira contagem (PC).....</b>	<b>37</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Envelhecimento acelerado (EA)</b>	<b>37</b>
<b>2.3.3</b>	<b>Teste de frio (TF).....</b>	<b>38</b>

2.3.4	Índice de velocidade de emergência (IVE) e emergência em campo (EC).....	38
2.3.5	Espectroscopia do infravermelho próximo (NIR).....	39
2.3.6	Delineamento estatístico.....	39
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	40
3.1	Qualidade fisiológica de sementes de milho.....	40
4	CONCLUSÃO.....	55
	REFERÊNCIAS.....	56
	<b>CAPÍTULO 3 – POTENCIAL DA TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA NIR PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA.....</b>	<b>58</b>
1	INTRODUÇÃO.....	60
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	62
2.1	Sementes utilizadas.....	62
2.2	Caracterização dos lotes.....	62
2.2.1	Grau de umidade.....	62
2.2.2	Teste de germinação.....	62
2.2.3	Estratificação do lote.....	63
2.3	Testes fisiológicos em sementes de soja.....	64
2.3.1	Teste de germinação (G) e primeira contagem (PC).....	64
2.3.2	Teste de condutividade elétrica.....	64
2.3.3	Teste de Tetrazólio.....	65
2.3.4	Emergência de campo.....	65
2.3.5	Índice de velocidade de emergência (IVE).....	65
2.3.6	Espectroscopia do infravermelho próximo (NIR).....	66
2.3.7	Delineamento estatístico.....	67
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	68
3.1	Testes fisiológicos.....	68
4	CONCLUSÃO.....	85
4.1	Considerações finais.....	85
	REFERÊNCIAS.....	86

## CAPÍTULO 1 – REVISÃO GERAL

### 1 INTRODUÇÃO

A semente é o principal insumo na implantação de uma lavoura, pois é o repositório do potencial genético das espécies cultivadas, assim como de suas cultivares resultantes de melhoramento contínuo e seleção ao longo do tempo. Com isso, a entrega de sementes de alta qualidade de cultivares selecionadas pelos produtores, é necessária para garantir uma melhor produção para enfrentar os crescentes desafios. (FAO, 2017). Para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes, os testes convencionais de vigor têm sido fundamentais, desde o começo de seu desenvolvimento, a aplicações, modificações e padronizações em diferentes culturas utilizadas pelo homem. Contudo, tais testes possuem algumas características indesejáveis, como: serem destrutivos e demorados.

Nos últimos anos, o desenvolvimento de tecnologias e aplicações de metodologias que apresentem versatilidade e rapidez na obtenção de resultados, tem sido motivo de inúmeras pesquisas e constantes desafios na produção e tecnologia de sementes. A busca por técnicas rápidas e não invasivas para mensurar a composição química, fisiológica ou bioquímica que podem ser usadas para auxiliar cientistas, pesquisadores e agricultores para direcionar a agricultura sustentável, tem sido incessante. A combinação de pesquisa básica, espectroscopia vibratória e análise de dados multivariados, possibilitará o desenvolvimento de tecnologias que permitirão um teste rápido, não destrutivo e de baixo custo para a ciência das plantas. (FASSIO; RESTAINO; COZZOLINO, 2015), (LI et al., 2017).

Entre as tecnologias promissoras utilizadas para estudar a qualidade fisiológica de sementes, a espectroscopia NIRS do inglês *Near Infrared Reflectance Spectroscopy*, ganha espaço com grandes argumentos e expectativas quanto a rapidez na análise. Além de ser um método não invasivo, o que permitiu fazer vários estudos em uma mesma amostra. Por exemplo, quando se trata de sementes de alta importância genética, é interessante reproduzi-las em uma fase sucessiva para continuar os programas de melhoramento. Desse modo, o objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial da técnica do NIRS para prever a qualidade fisiológica das sementes de milho e de soja.



## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Vigor de sementes

O termo "vigor da semente" foi introduzido por F. Nobbe em 1876, em sua "*Handbuch der Samenkunde*". Em 1911, Hiltner e Ihssen usaram o termo *triebkraft* para aludir a "força motriz" e "força disparadora" das plântulas em germinação, destacando as sementes que produziram plântulas com raízes mais longas em comparação com as sementes "mais fracas" do mesmo lote. (MARCOS-FILHO et al., 2015). O vigor das sementes é um dos principais atributos da qualidade fisiológica a ser considerado na implantação de uma lavoura. O uso de sementes de alto vigor é justificado em todas as culturas para assegurar a população adequada de plantas sobre uma ampla variação de condições ambientais de campo encontradas durante a emergência, e assim possibilitar o aumento na produção quando o estande de plantas for menor que a requerida. Sementes com baixo vigor podem provocar reduções na: velocidade de emergência; uniformidade; emergência total; no tamanho inicial e no estabelecimento de estandes adequados. Esses fatores podem influenciar no acúmulo de matéria seca, e assim afetar o rendimento. O uso de sementes vigorosas serve para assegurar o estabelecimento adequado do estande, mesmo que não haja resposta consistente em termos de produção final das plantas (SCHEEREN et al., 2010).

O vigor da semente é a combinação de características que determinam o potencial de alto desempenho após a semeadura. Como consequência, existem várias técnicas para determinar sua avaliação, incluindo aquelas que avaliam, direta ou indiretamente, o estado metabólico atual da semente para estabelecer uma relação com a emergência e a armazenagem das plântulas; Esses testes incluem (i) condutividade elétrica, (ii) tetrazólio, e (iii) testes que avaliam o crescimento de plântulas. Em contrapartida, alguns testes são realizados com o objetivo de identificar a tolerância das sementes ao estresse (es). Os testes de estresse mais importantes são: O teste frio, envelhecimento acelerado e deterioração controlada. (MARCOS-FILHO et al., 2015)

O uso de sementes de alta qualidade é a base para o aumento do rendimento, o componente fisiológico da qualidade da semente tem sido objeto de numerosos estudos, uma vez que as sementes são submetidas a uma série de alterações degenerativas após a maturidade (FREITAS; NASCIMENTO, 2006). Além disso, o uso de testes de vigor é útil

para monitorar a qualidade das sementes que, a partir da maturidade, ocorre redução de vigor que precede a perda de viabilidade (DIAS; MARCOS FILHO, 1995). Os testes de vigor detectam diferenças significativas na qualidade fisiológica das sementes com germinação similar, fornecendo informações adicionais as obtidas pelo teste de germinação, que são classificadas como métodos diretos, pois tentam simular as condições que ocorrem no campo, e indiretamente visam avaliar atributos relacionados ao vigor (físico, biológico e fisiológico) das sementes (CARVALHO & NAKAGAWA, 2012 apud SENA et al., 2017).

De acordo com Sharf (1953) os lotes de sementes são capazes de alcançar um surgimento rápido e uniforme, e de estabelecer estandes em condições ambientais menos favoráveis. Delouche e Grabe (1958) se referiram ao vigor como uma "resistência fisiológica da semente". Com a evolução do conhecimento, houve outras conotações, como Woodstock (1965) enfatizando que o vigor das sementes seria uma condição de boa saúde e robustez natural associada à germinação rápida e completa, sob uma ampla gama de condições ambientais. Alguns anos depois, Pollock e Roos (1972) assumiram que o vigor das sementes poderia ser considerado como um potencial para o estabelecimento de plântulas no campo, e a mesma ideia foi apoiada por vários tecnólogos de sementes. Essas novas abordagens e os comentários de TeKrony (2003) constituíram a base para os conceitos atuais de vigor de sementes, ou seja,

O vigor da semente é a soma de todas as propriedades que determinam o potencial de emergência rápida e uniforme e o desenvolvimento de plântulas normais, sob uma ampla gama de condições de campo (AOSA, 1983; BAALBAKI et al., 2009). Dessa maneira, vigor da semente é a soma das propriedades que determinam a atividade e o desempenho de lotes de sementes de germinação aceitável em uma ampla gama de ambientes. Um lote de semente vigoroso é aquele que é potencialmente capaz de funcionar bem em condições ambientais que não são ótimas para as espécies (ISTA, 2014 apud MARCOS-FILHO et al., 2015).

O propósito básico do teste de vigor de sementes é fornecer uma identificação precisa de diferenças importantes no potencial fisiológico entre lotes de sementes de valor comercial, principalmente aqueles de porcentagem similar de germinação, com a finalidade de identificar lotes com maior probabilidade de ter um bom desempenho após a semeadura, e/ou durante o armazenamento. Deve ser considerado, portanto, que os requisitos de um teste de vigor eficiente incluem alta sensibilidade às diferenças no potencial fisiológico não detectado por testes de viabilidade, e a capacidade de classificar lotes de acordo com seu potencial de desempenho. (MARCOS-FILHO et al., 2015).

O teste de vigor é uma medida mais sensível da qualidade fisiológica das sementes, sendo compreensível e natural que a avaliação do vigor da semente requeira um controle mais rigoroso das variáveis de teste, e critérios de interpretação para obter resultados consistentes. É essencial que os analistas de sementes, tecnólogos e produtores entendam que os testes de vigor não foram projetados para prever o número exato de plântulas que surgirão em um suporte no campo, ou por quanto tempo um lote de sementes será capaz de manter uma porcentagem de germinação percentual durante armazenamento para "n" meses. Logo, a interpretação adequada dos resultados dos testes, fornece informações que permitem a seleção de melhores lotes de sementes, a determinação da quantidade necessária de sementes e sua distribuição durante a semeadura, além de uma estimativa do provável sucesso comercial em várias condições de campo. (MARCOS-FILHO et al., 2015).

Métodos comuns utilizados para a detecção de danos e viabilidade de sementes contém medidas como: Características de crescimento de plântulas, medidas de resistência à adversidade, determinação fisiológica e bioquímica, bem como métodos físicos e químicos, entre outros. Os métodos característicos de crescimento de plântulas e de resistência à adversidade exigiram um teste de germinação para determinar a viabilidade da semente de acordo com o crescimento de plântulas. A determinação bioquímica seria a coloração e determinação da atividade enzimática e assim como a medição da condutividade elétrica manifestada pela deterioração de membranas. (JIA et al., 2016).

## **2.2 Milho (*Zea mays L.*)**

O milho é uma cultura importante na economia mundial, caracterizada por muitas formas de uso, desde a alimentação até a indústria de alta tecnologia (PICARELLI, 2012). Neste contexto, o Brasil emergiu como o terceiro maior produtor, atrás apenas dos EUA e da China (EMBRAPA MILHO; SORGO, 2012). O uso de milho como alimento representa a maior verba de consumo, cerca de 70% em todo o mundo, e nos Estados Unidos representa cerca de 50%, enquanto no Brasil varia de 70 a 80% para esse fim. Apesar da baixa participação nos alimentos, geralmente os derivados do milho têm grande importância, pois atendem as demandas de alimentos, especialmente em regiões de baixa renda (PICARELLI, 2012 apud SENA et al., 2017).

Sendo uma das principais espécies cultivadas no mundo, sua produção era voltada principalmente à alimentação animal. Entretanto foi domesticado há mais de 8000 anos, impossibilitando sua sobrevivência na forma silvestre. O milho possui um elevado valor econômico e alto potencial genético, sendo bastante responsivo as técnicas de manejo. É extensivamente utilizado como alimento humano e na ração animal, devido as suas qualidades nutricionais. A verdadeira origem do milho ainda não foi completamente elucidada, porém existem alguns trabalhos indicando que seu genitor seja *Zea mays ssp. Mexicana* ou *Zea mays ssp. Parviglumis*, ambos conhecidos como teosintes. (VERZEGNAZZI, 2011).

O milho é um dos cereais mais utilizados pelo homem desde os tempos antigos e uma das espécies de plantas mais produtivas. O seu desenvolvimento foi mais rápida em zonas de clima temperado, em que representa cerca de 40% da área colhida e 60% da produção mundial (L. PALIWAL, 2001). A crescente demanda por alimentos, forragem, alimentação e utilização industrial, o situa em posição privilegiada. É o tipo de cultura mais adequada para superar a desnutrição global. (PH ZAIDE ET AL, 2011). Milhões de pessoas que vivem nas zonas tropicais e subtropicais do mundo são em grande parte dependentes do milho para a sua subsistência. Entre os cereais, o milho é a cultura mais importante do mundo em termos de produtividade, produtos industriais (fermentação e produtos farmacêuticos), ração animal e forragem. (PATHI et al., 2013).

### **2.2.1 Qualidade fisiológica de sementes de milho**

As indústrias de sementes de milho são reconhecidas por lidar com tecnologias de ponta em escala global. No Brasil, a presença de empresas multinacionais, trouxe grandes investimentos em pesquisa e desenvolvimento para este setor que mudou o cenário, melhorando a qualidade das sementes de milho disponíveis para os produtores. Nessas empresas, muitos segmentos trabalham em conjunto para produzir as sementes de melhor qualidade, em termos de genética e potencial fisiológico. A última fase, antes da liberação de sementes no mercado, é a garantia de qualidade, que é crucial para garantir os padrões de qualidade das sementes. (DIAS et al., 2015).

A produção de sementes híbridas de milho de alta qualidade é extremamente importante para o benefício econômico das empresas de sementes. (GU et al., 2017). A qualidade das sementes é geralmente refletida pelo vigor das sementes, um termo abrangente

que se refere às propriedades totais das atividades de sementes, desde a germinação em amplos ambientes até a longevidade da semente durante o armazenamento. A germinação padrão (G), a germinação do teste frio (GTF) e a germinação do teste de envelhecimento acelerado (GEA) são os três parâmetros mais amplamente utilizados quanto ao vigor das sementes. (ISTA 2015 apud GU et al., 2017).

### 2.3 Soja (*Glycine max* (L.) Merr.)

A soja é uma das culturas de oleaginosas mais importantes do mundo, representando 59% da produção global. As sementes de soja são altamente valorizadas pela alta quantidade de proteína e teor de óleo. Uma composição próxima da soja inteira em relação à matéria seca consiste em 40% de proteína, 20% de lipídios (WEE et al., 2017), 35% de carboidrato e 5% de cinzas. Esses valores variam dependendo do cultivar e das condições de crescimento específicas. O pool de lipídeos das sementes de soja é quase completamente (88%) na forma de triacilgliceróis. O óleo de soja é um importante óleo comestível consumido em 27% do mercado global (KARN et al., 2017).

Essa oleaginosa representa a cultura agrícola brasileira que apresentou o maior crescimento nas últimas três décadas, correspondendo a 49% da área ocupada com grãos no Brasil. Entre os fatores que contribuem para o adequado desempenho da cultura no campo está a obtenção de uma lavoura com população ideal de plantas, o que é dependente da correta utilização de diversas práticas, destacando-se o uso de sementes de elevada qualidade juntamente com o emprego de plantas adaptadas aos diversos locais de plantio. (CONCEIÇÃO et al., 2014).

A soja tem sido utilizada em alimentos para consumo humano e animal. É o terceiro maior cereal produzido e consumido no mundo, estando atrás apenas do arroz e do trigo. A maior parte da produção de soja ocorre nos EUA (89'483.000 tons/ano), Brasil (81'699.787 tons/ano) e Argentina (49'306.201 tons/ano), (ROJAS ARIAS et al., 2017). E seu valor econômico de colheita depende da concentração de proteína e óleo. A relação entre os componentes de proteína, óleo e açúcar de sementes de soja maduras tem sido objeto de inúmeras pesquisas (WEE et al., 2017).

### **2.3.1 Qualidade fisiológica de sementes de soja**

O uso de sementes de soja com altos padrões de qualidade física, genética, fisiológica e sanitária tem sido a grande diferença no estabelecimento bem-sucedido da cultura no campo (SILVA et al., 2011a. apud. NEVES et al, 2016). Neste contexto, é indubitável a relevância do processamento de sementes para a eficiência do processo de produção. A qualidade e a viabilidade das sementes de soja durante o armazenamento, dependem da qualidade inicial e das condições de armazenamento do lote. A semente de soja é susceptível aos danos mecânicos que ocorrem durante a colheita, secagem e processamento, o que pode influenciar negativamente a viabilidade e vigor da semente durante o armazenamento (MARYAM; OSKOUIE, 2011 apud NEVES et al., 2016).

Usar sementes de soja de alta qualidade é essencial para obter alto rendimento (BARBOSA et al., 2012). No entanto, durante o processo produtivo, vários fatores podem influenciar a qualidade da semente, e a colheita poderia ser considerada a fase mais crítica de todo o processo (CARVALHO; NOVENBRO, 2012 apud. PAIXÃO et al, 2017). Portanto, os principais benefícios para a produção de soja com o uso de sementes de melhor qualidade para plantação, constituem um fator de extrema importância para obter um estabelecimento adequado de plantas no campo, resultando em maiores rendimentos (GIURIZATTO et al., 2008, apud. NEVES et al., 2016).

É notório que os traços relacionados à qualidade da semente são essenciais para a obtenção de plantas homogêneas no campo, bem como alta produtividade. (MAMBRIM et al., 2015, apud. PEREIRA et al., 2017). As sementes são importantes ingredientes primários, com grande parte do sucesso agrícola resultante do uso de sementes de alta qualidade. Assim, as sementes formam a base de qualquer programa de melhora genética de plantas e é através delas que a tecnologia gerada é estabelecida. (PEREIRA et al., 2017). Nos últimos anos, a soja vem sendo analisada, estudada, desenvolvida e aprimorada através de inúmeros trabalhos de pesquisa, promovendo um aumento incessante de cultivares com: maior produção, tolerância ao estresse, fixação de nitrogênio ou qualidade de sementes. (ROJAS ARIAS et al., 2017).

### **2.4 Testes convencionais de vigor**

### 2.4.1 Primeira contagem do Teste de Germinação

Esta avaliação é realizada em conjunto com o teste padrão de germinação, registrando a porcentagem de plântulas normais, na data prescrita pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 1992 apud OLIVEIRA et al., 2009) para primeira contagem do teste de germinação.

As sementes das amostras que germinam mais rapidamente, isto é, que apresentam maior porcentagem de plântulas normais nessa contagem, são consideradas mais vigorosas (MARCOS FILHO et al., 1987 apud OLIVEIRA et al., 2009). Indiretamente, procede-se uma avaliação da velocidade de germinação, desde que maior porcentagem de plântulas presentes na primeira contagem significa que as sementes desta amostra germinaram mais rapidamente que as demais (NAKAGAWA, 1994 apud OLIVEIRA et al., 2009).

### 2.4.2 Condutividade elétrica

Juntamente com o teste de tetrazólio, o teste de condutividade elétrica (CE) é classificado como um teste bioquímico. O princípio do teste CE foi proposto pela primeira vez por Fick e Hibbard (1925), associando baixa germinabilidade de sementes de *Phleum pratense* L. à alta liberação de solutos durante a hidratação. Mais tarde, Priestley (1958) descobriu que a condutividade elétrica da solução de imersão da semente de algodão era inversamente proporcional à germinação, mas até então não havia nenhuma menção desta análise com possível avaliação do vigor da semente. Essa ideia foi desenvolvida por Matthews e Bradnock (1967), que propuseram uma metodologia detalhada para este teste, estabelecendo um procedimento básico para estimar a porcentagem de emergência de plântulas em ervilhas, amplamente disseminado para uso em várias espécies. (MARCOS-FILHO et al., 2015).

O princípio do teste CE é que as sementes menos vigorosas ou mais deterioradas mostram uma menor velocidade de reparo da membrana celular durante a absorção de água da semente para germinação e, portanto, liberam maiores quantidades de solutos para o ambiente externo. A perda de lixiviados inclui açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, proteínas, enzimas e íons inorgânicos ( $K^+$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $Na^+$ ,  $Mn^{+2}$ ), e o teste avalia a quantidade de vazamento de íons. Em condições de campo, o vazamento de exsudados após a semeadura,

que reflete a perda da organização da membrana celular e a permeabilidade seletiva, podem estimular o crescimento de microrganismos patogênicos e prejudicar a emergência das plântulas. Ching e Schoolcraft (1968) confirmaram que o aumento de vazamento durante a embebição das sementes, estava diretamente relacionado à interrupção dos sistemas de membrana celular e perda de controle de permeabilidade. (MARCOS-FILHO et al., 2015).

### 2.4.3 Teste de Tetrazólio

O teste de tetrazólio baseia-se na atividade das enzimas desidrogenases (AOSA, 1983; Bulat, 1961; Copeland et al, 1959; Moore, 1973; Smith, 1952; Smith e Throneberry, 1951), as quais catalisam as reações respiratórias nas mitocôndrias, durante a glicólise e o ciclo de Krebs. Essas enzimas, particularmente a desidrogenase do ácido málico, reduzem o sal de tetrazólio (2,3,5-trifenil cloreto de tetrazólio ou TCT) nos tecidos vivos. Quando a semente de soja é imersa na solução incolor de TCT, essa é difundida através dos tecidos, ocorrendo nas células vivas a reação de redução que resulta na formação de um composto vermelho, estável e não difusível, conhecido por trifenilformazan. (FRANÇA NETO; KRZYZANOWSKI; DA COSTA, 1998).

Esse teste é rápido para estimar a viabilidade e o vigor das sementes com base em alterações de cor de tecidos vivos de sementes em contato com uma solução de 2,3,5 de cloreto de trifenil tetrazólio, refletindo o grau de atividade do sistema de enzima desidrogenase intimamente relacionado à respiração de sementes e viabilidade. (MARCOS-FILHO et al., 2015).

### 2.4.4 Teste de Frio

O teste frio é considerado o teste de vigor mais antigo e provavelmente o mais popular, usado para avaliação de vigor de sementes nos Estados Unidos. É o principal teste para a indústria de sementes de milho híbrido, mas também pode ser usado para outras espécies, como cevada (*Hordeum vulgare* L.), cenoura (*Daucus carota* L.), algodão, berinjela (*Solanum melongena* L.), feijão, alface (*Lactuca sativa* L.), cebola (*Allium*



*cepa* L.), arroz (*Oryza sativa* L.), sorgo (*Sorghum bicolor* L.), soja e outros. (MARCOS-FILHO et al., 2015).

O procedimento tem como intuito avaliar a resposta de amostras de sementes submetidas a uma combinação de baixa temperatura, alto teor de água do substrato e, se possível, presença de agentes patogênicos. Dois tipos de estresse prevalecem neste teste: (i) a temperatura sub-ótima favorece o vazamento de solutos celulares durante a absorção de água da semente devido à configuração desorganizada dos sistemas de membrana. Em tal situação, o reparo da membrana é relativamente lento, aumentando a liberação de lixiviados, incluindo açúcares; e (ii) a presença de microorganismos quando o substrato inclui o solo é aumentada não só como consequência da exposição a baixas temperaturas, mas também estimulada pela liberação de açúcares, de modo que o aumento do dano ao desempenho da semente seja aumentado. (MARCOS-FILHO et al., 2015).

#### **2.4.5 Envelhecimento Acelerado**

O teste de envelhecimento acelerado (EA) fornece informações valiosas sobre potenciais de emergência de campo, armazenamento e semeadura. As sementes são hidratadas para um nível específico quando expostas a temperaturas relativamente altas (40 a 45 ° C, geralmente 41 ° C) e UR (cerca de 100%). Após este tratamento de envelhecimento, as sementes são submetidas a um teste de germinação, e os lotes de sementes de alto vigor toleram esta condição de envelhecimento melhor do que os lotes de sementes de baixo vigor e produzem uma maior porcentagem de plântulas normais (BAALBAKI et al., 2009 apud MARCOS-FILHO et al.; 2015).

Esse teste tem como base o fato de que a taxa de deterioração das sementes é aumentada consideravelmente através de sua exposição a níveis muito adversos de temperatura e umidade relativa, considerados os fatores ambientais preponderantes na intensidade e velocidade de deterioração. Assim, verifica-se que amostras com baixo vigor apresentam maior queda de sua viabilidade quando submetidas a essa situação. Assim sendo, as sementes mais vigorosas geralmente são menos afetadas em sua capacidade de produzir plântulas normais e apresentam germinação mais elevada, após serem submetidas ao "envelhecimento" (KRZYZANOWSKI; FRANÇA NETO; ROBERVAL DAITON, 1999).

#### 2.4.6 Índice de Velocidade de Emergência (IVE)

O teste que emprega a velocidade de emergência de plântulas é análogo ao teste velocidade de germinação de plântulas, por possuírem princípio e objetivos muito semelhantes. Neste o vigor do lote de sementes é determinado avaliando a velocidade de emergência de plântulas em condições de campo, e/ou casa de vegetação. Mais vigoroso será um lote de sementes quanto mais rápida for a sua emergência das plântulas no campo. Considerando que este teste é realizado no campo. Pode-se comparar o vigor das sementes de lotes semeados na mesma época, porém não podem ser comparados testes realizados em épocas diferentes. Seu procedimento é feito de forma semelhante ao teste para determinação da porcentagem de emergência de plântulas, sendo o mesmo empregado na realização de sua avaliação. Entretanto, as observações são realizadas diariamente, até que o número de plântulas se torne constante, a partir da emergência da primeira plântula. Para o cálculo da velocidade de emergência empregam-se várias fórmulas, desenvolvidas ao longo dos estudos. (OLIVEIRA et al., 2009).

Maguire (1962 citado por KRZYZANOWSKI; FRANÇA NETO; ROBERVAL DAITON, 1999) propôs o método estatístico mais comumente adotado.

$$IVE = \frac{E1}{T1} + \frac{E2}{T2} + \frac{Ei}{Ti} + \dots$$

Onde:

- IVE é índice de velocidade de emergência;
- E1 até Ei é o número de emergência ocorrida a cada dia;
- T1 até Ti é o tempo (dias).

#### 2.4.7 Emergência em Campo

Esta avaliação parte do princípio que sementes que propiciam maior percentual de emergência, em condições de campo, ou seja, não controladas, são mais vigorosas. (OLIVEIRA et al., 2009). Segundo Nakagawa (1994, citado por OLIVEIRA et al., 2009), este

teste se conduzido na época normal de semeadura da cultura, fornecerá a capacidade do lote em estabelecer-se, dando contribuições necessárias ao cálculo da quantidade de sementes a ser utilizada para obtenção de uma população ou estande de plantas desejável. Se conduzido em outra época, defasada da normal de semeadura, poderá gerar resultados não exatamente iguais aos da referida época, mas mesmo assim, poderia fornecer subsídios úteis para comparação entre diferentes lotes. Este teste pode ser realizado tanto no campo, utilizando 400 sementes por lote quanto em bandejas em casa de vegetação, utilizando 200 sementes por lote em quatro repetições de 100 ou 50 sementes respectivamente. Em condições de campo, para cada repetição as sementes deverão ser semeadas em sulco, à profundidade uniforme e recomendada para a cultura em terreno devidamente preparado. (OLIVEIRA et al., 2009).

#### **2.4.8 Espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS)**

É um método de análise de baixo custo, rápido, não destrutivo e amplamente desenvolvido. Um espectro NIR é uma série de ondas eletromagnéticas cujo comprimento de onda varia de 780 nm a 2500 nm; O espectro NIR contém informação relativa a grupos hidrogênio, tais como C-H, N-H e O-H. Por conseguinte, o espectro NIR pode revelar a composição da matéria orgânica nas culturas. Também é amplamente utilizado para analisar produtos agrícolas quantitativa e qualitativamente. Os modelos de predição também podem superar a influência do agente de revestimento de sementes e, portanto, pode ser aceitável para aplicações práticas. (AN et al., 2016).

O NIRS é uma técnica não destrutiva que requer um treinamento mínimo do usuário e uma preparação de amostra, nada complexa ou demorada, permitindo a análise de muitas amostras em um período de tempo reduzido. Tem sido aplicado a uma ampla gama de desafios analíticos, especialmente para pesquisa de plantas e solo. (QUIGLEY; ALTHOFF; DONATI, 2016). Devido ao baixo custo, rapidez, alta precisão e repetibilidade, a espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS) pode oferecer uma alternativa potencial aos métodos químicos para determinar a bioquímica de plantas. A espectroscopia de infravermelho próximo é rotineiramente utilizada para a análise de nitrogênio, umidade, fibra, carboidratos estruturais, aminoácidos e minerais para qualidade de forragem e plantas. (QUENTIN et al., 2016).

Alguns dos métodos convencionais, incluindo seleção humana, testes de imunoensaio

e reações em cadeia da polimerase (PCR), apresentam várias deficiências, como subjetividade, invasividade, baixa especificidade, consumo de tempo e baixa precisão. As técnicas espectroscópicas de vibração exploram as diferentes composições bioquímicas, tais como os teores de amido, proteína e umidade, que existem entre sementes envelhecidas e normais (AMBROSE et al., 2016). Além dos diferentes métodos químicos propostos na literatura, a espectroscopia de infravermelho, juntamente com modelos quimiométricos preditivos, também pode ser usada para determinar compostos bioquímicos e atividades em diferentes matrizes. O infravermelho foi aplicado de forma eficiente para a determinação do teor de antioxidantes e atividade antioxidante em alimentos. Esta técnica pode ser aplicada em amostras biológicas sem o passo de extração, o que por vezes leva à degradação dos componentes antioxidantes. Calibrações NIRS também foram desenvolvidas para antioxidantes e a Capacidade de Antioxidantes Totais (TAC) no chá verde e grãos de arroz. Os resultados indicaram que o NIRS pode ser aplicado com sucesso ao rastreamento de um grande número de amostras para estes parâmetros. (REDAELLI; ALFIERI; CABASSI, 2016). Nas últimas décadas, muitos pesquisadores se concentraram no uso potencial da espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS), um poderoso procedimento espectroscópico para a detecção de compostos orgânicos. No campo da agricultura, alimentação, medicina, papel, polímeros, etc., o grande interesse tem sido direcionado à espectroscopia NIR porque é um método rápido, não destrutivo, ambientalmente amigável e altamente preciso que requer pouco treinamento de especialistas em rotina de análise. (TAMBURINI et al., 2016). A informação NIR, não pode ser utilizada para determinar a concentração analítica devido a maneira pela qual a radiação do infravermelho próximo passa, e é refletida a partir da amostra. Técnicas de calibração multivariada são frequentemente empregadas para extrair informações de importância da análise NIRS. Calibração de NIRS é um pré-requisito para a estimativa de multi-traços em uma colheita de dados por qualquer laboratório. A calibração requer entrada de trabalho inicial, mas uma vez calibrada, o sistema NIRS é eficiente, rápido e seguro (KAUR; SANGHA; KAUR, 2017).

## REFERÊNCIAS

- AMBROSE, A. et al. Comparative nondestructive measurement of corn seed viability using Fourier transform near-infrared (FT-NIR) and Raman spectroscopy. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 224, p. 500–506, 2016.
- AN, D. et al. Effects of Varieties, Producing Areas, Ears, and Ear Positions of Single Maize Kernels on Near-Infrared Spectra for Identification and Traceability. **PLOS ONE**, v. 11, n. 9, p. e0161489, 6 set. 2016.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. Não paginado.
- CONCEIÇÃO, G. M. et al. Desempenho de plântulas e produtividade de soja submetida a diferentes tratamentos químicos nas sementes. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 6, p. 1711–1720, 2014.
- DIAS, M. A. N. et al. VIGOR TESTS ASSOCIATION AS AN ALTERNATIVE FOR PRECISE AND EFFICIENT ASSESSMENT OF MAIZE SEED QUALITY. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 3, p. 93–99, set. 2015.
- DIAS, D.C.F.S.; MARCOS FILHO, J. Testes de vigor baseados na permeabilidade das membranas celulares: I. Condutividade elétrica. **Informativo Abrates**, Londrina, v.5, n.1, 1995. Não paginado.
- FAO. **Seeds | FAO | Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: <<http://www.fao.org/seeds/en/>>. Acesso em: 8 abr. 2017.
- FASSIO, A. S.; RESTAINO, E. A.; COZZOLINO, D. **Determination of oil content in whole corn (Zea mays L.) seeds by means of near infrared reflectance spectroscopy** *Computers and Electronics in Agriculture*. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016816991400297X>>. Acesso em: 6 abr. 2017.
- FRANÇA NETO, J.; KRZYŻANOWSKI, F.; DA COSTA, N. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. [s.l.] 1998, 1998. v. Documento
- Freitas RA & Nascimento WM (2006) Teste de envelhecimento acelerado em sementes de lentilha. **Revista Brasileira de Sementes**, 28:59-63.
- GU, R. et al. The ideal harvest time for seeds of hybrid maize (Zea mays L.) XY335 and ZD958 produced in multiple environments. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 17537, 13 dez. 2017.
- JIA, S. et al. **Feasibility of analyzing frost-damaged and non-viable maize kernels based on near infrared spectroscopy and chemometrics**. 2016.
- KARN, A. et al. Development of Rigorous Fatty Acid Near-Infrared Spectroscopy Quantitation Methods in Support of Soybean Oil Improvement. **Journal of the American Oil**

**Chemists' Society**, v. 94, n. 1, p. 69–76, 16 jan. 2017.

KAUR, B.; SANGHA, M. K.; KAUR, G. Development of Near-Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) Calibration Model for Estimation of Oil Content in Brassica juncea and Brassica napus. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 1, p. 227–233, 18 jan. 2017.

KRZYŻANOWSKI, F.; FRANÇA NETO, J. DE B.; ROBERVAL DAITON, V. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina, PR: [s.n.].

L. PALIWAL, R. **EL MAÍZ EN LOS TRÓPICOS: Mejoramiento y producción**. [s.l.] FAO, 2001.

LI, C. et al. Determination of gossypol content in cottonseeds by near infrared spectroscopy based on Monte Carlo uninformative variable elimination and nonlinear calibration methods. **Food Chemistry**, v. 221, p. 990–996, 2017.

MARCOS-FILHO, J. et al. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**, v. 72, n. 4, p. 363–374, ago. 2015.

NEVES, J. M. G. et al. Quality of soybean seeds with high mechanical damage index after processing and storage. **Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v. 2020, n. 1111, p. 1025–1030, 2016.

OLIVEIRA, A. C. S. et al. Testes De Vigor Em Sementes Baseados No Desempenho De Plântulas. **Revista Científica Internacional**, v. 2, p. 1–21, 2009.

PAIXÃO, C. S. S. et al. Physical and physiological quality of soybean seeds at three speeds of the harvester. **Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v. 2121, n. 33, 2017.

PATHI, K. M. et al. An efficient and rapid regeneration via multiple shoot induction from mature seed derived embryogenic and organogenic callus of Indian maize (*Zea mays* L.). **Plant signaling & behavior**, v. 8, n. 10, p. doi: 10.4161/psb.25891, 2013.

PEREIRA, E. et al. Canonical correlations between agronomic traits and seed physiological quality in segregating soybean populations. **Genetics and Molecular Research Genet. Mol. Res**, v. 16, n. 162, 2017.

PH ZAIDE ET AL. **11th Asian Maize Conference**. 11th. ed. PR China: [s.n.]. v. 1  
PHUANGSOMBUT, K.; SUTTIWIJITPUKDEE, N.; TERDWONGWORAKUL, A.  
Nondestructive classification of mung bean seeds by single kernel near-infrared spectroscopy. 2016.

QUENTIN, A. G. et al. Application of near-infrared spectroscopy for estimation of non-structural carbohydrates in foliar samples of *Eucalyptus globulus* Labillardière. **Tree Physiology**, v. 37, p.131–141, 2016.

QUIGLEY, K. M.; ALTHOFF, A. G.; DONATI, G. L. **Inductively coupled plasma optical emission spectrometry as a reference method for silicon estimation by near infrared spectroscopy and potential application to global-scale studies of plant chemistry**. 2016.

REDAELLI, R.; ALFIERI, M.; CABASSI, G. Development of a NIRS calibration for total antioxidant capacity in maize germplasm. **Talanta**, v. 154, p. 164–168, 2016.

ROJAS ARIAS, A. C. et al. **Patents and genetically modified soybean for glyphosate resistance** **World Patent Information**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0172219016300503>>. Acesso em: 13 abr. 2017.

SCHEEREN, B. R. et al. Qualidade fisiológica e produtividade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 3, p. 35–41, 2010.

SENA, D. V. DOS A. et al. Vigor tests to evaluate the physiological quality of corn seeds cv. “Sertanejo”. **Ciência Rural**, v. 47, n. 3, 2017.

SHARF, A. F. Correlation of germination data of corn and soybean seed lots under laboratory, greenhouse, and filed conditions. **Proceedings of the Association of Seed Analysts**, New York, v. 43, n.4. 1953. Não paginado.

TAMBURINI, E. et al. Quantitative Determination of *Fusarium proliferatum* Concentration in Intact Garlic Cloves Using Near-Infrared Spectroscopy. **Sensors**, v. 16, n. 7, p. 1099, 15 jul. 2016.

VERZEGNAZZI, A. L. **Comparação dos métodos genealógicos e duplo haploides para a seleção de genótipos elites e estudo da herança genética de altura de planta e espiga em milho**. [s.l.] UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO, 2011.

WEE, C.-D. et al. **Evaluation of seed components of wild soybean (*Glycine soja*) collected in Japan using near-infrared reflectance spectroscopy**. 2017.

## **CAPÍTULO 2 – ESPECTROSCOPIA NIR PARA AVALIAR A QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MILHO**

### **RESUMO**

O milho é uns dos cereais mais importantes do mundo, no Brasil se destaca como o segundo agronegócio de sucesso, possui ampla diversidade genética, está adaptada as mais diversas condições climáticas e é utilizado desde a fonte alimentar mais básica, direta e indireta pelo homem até as mais exigentes tecnologias industriais (sementeira, farmacêutica e combustível). A sua produção é completamente dependente da produção de sementes a nível global, fato que tem demandado grandes investimentos no setor, visando o desenvolvimento de cultivares e como eixo fundamental a obtenção de sementes de alta qualidade que beneficiem e gere renda em todas as etapas subsequentes. Se bem existem metodologias desenvolvidas ao longo do tempo e utilizadas rotineiramente para avaliar a qualidade das sementes, cada vez exige um aprimoramento no desenvolvimento de tecnologias capazes de alcançar em menor tempo o mesmo ou melhores resultados dos alvos de pesquisa que as obtidas por metodologias convencionais. O alvo neste trabalho foi avaliar a capacidade da tecnologia (NIRS) para prever a qualidade fisiológica das sementes de milho, cultivar DKB-290-HS, que foi subdividido em seis níveis de deterioração, característica que foi também estudada por métodos convencionais de vigor. Utilizou-se 200 sementes por cada amostra em quatro repetições, tomadas aleatoriamente da amostra de trabalho. Quando as sementes foram submetidas às leituras por meio do NIRS, colocaram-se com o embrião focado para a fonte de onda eletromagnética, posteriormente os espectros obtidos foram analisados pelo software PIROUETTE. No estudo mediante testes convencionais de vigor conseguiu-se detectar eficientemente os níveis de qualidade dos lotes de sementes estudadas. Quando foi utilizada a tecnologia NIRS, não revelou diferenças contundentes, estudando cada lote separadamente, mas quando se optou por agrupa-las, os lotes de alto vigor e de baixo vigor, observou-se uma melhoria na classificação dos lotes. Fato que permite concluir que a metodologia NIRS, revelou pouca eficiência para diferenciar níveis individuais, e melhorou quando agrupados de acordo a qualidade fisiológica das sementes de milho utilizadas em esta pesquisa.

**Palavras-chave:** NIR. Qualidade. Sementes. Milho.



## ABSTRACT

Corn is one of the most important cereals in the world, in Brazil it stands out as the second successful agribusiness, has a wide genetic diversity, is adapted to the most diverse climatic conditions and is used from the most basic food source, direct and indirect by man until the most demanding industrial technologies (sowing, pharmaceutical and fuel) and its production is completely dependent on the production of seeds at a global level, a fact that has demanded great investments in the sector, aiming the development of cultivars and as a fundamental axis the obtaining of high seeds beneficiaries and generate income in all subsequent stages. Although there are methodologies developed over time and routinely used to evaluate the quality of the seeds, each time requires an improvement in the development of technologies capable of achieving in the same time or better results of the research targets than those obtained by conventional methodologies. The objective of this study was to evaluate the ability of NIRS to predict the physiological quality of corn seeds, cultivar DKB-290-HS, which was subdivided into six levels of deterioration, which was also studied by conventional methods of vigor. 200 seeds per sample were used in four replicates, taken at random from the working sample. When the seeds were submitted to the readings through the NIRS, they were placed with the embryo focused to the source of the electromagnetic wave, later the obtained spectra were analyzed by the software PIROUETTE. In the study by conventional tests of vigor it was possible to efficiently detect the quality levels of the seed lots studied. When the NIRS technology was used, it did not show conclusive differences, studying each lot separately, but when it was chosen to group them, the lots of high vigor and of low vigor, an improvement in the classification of the lots was observed. A fact that allows to conclude that the NIRS methodology revealed little efficiency to differentiate individual levels and improved when grouped according to the physiological quality of corn seeds used in this research.

**Keywords:** NIR. Quality. Seeds. Corn.

## 1 INTRODUÇÃO

A cultura de milho (*Zea Mays L.*) é uma das maiores a nível global e coloca-se no segundo item da importância no agronegócio brasileiro, atingindo a demanda nacional e suprimindo importações de outros países, movimentando importantes rendas ao longo de toda a cadeia. A crescente demanda dessa significativa matéria prima nos últimos anos tem gerado grandes investimentos no setor, visando o desenvolvimento de novas e melhores cultivares. Uma característica crucial é que o milho é completamente dependente de sementes para seu desenvolvimento na agricultura e a produção de sementes de alta qualidade tem gerado constante interesse das empresas produtoras, Universidades e Centros de Pesquisas, para atender as principais exigências nesta área.

A qualidade fisiológica é um dos atributos mais importantes de uma semente, e estudar o vigor é extremamente relevante, já que permite analisar a capacidade da semente para se desenvolver nas mais diversas condições edafoclimáticas. Os testes convencionais de vigor, como: Primeira Contagem de Germinação (PCG), Teste de Frio (TF), Envelhecimento Acelerado (EA), Índice de Velocidade de Emergência (IVE), Emergência em Campo (EC), além de outros utilizados em inúmeras pesquisas, têm contribuído bastante no estudo da qualidade fisiológica de sementes de milho e outras culturas. Se por um lado, estas metodologias são eficazes para classificar lotes de sementes pelo seu vigor, por outro lado, são demoradas, destrutivas e precisam de pessoal treinado para conseguir resultados satisfatórios de acordo com os objetivos dos testes. Embora os testes convencionais continuem fornecendo importantes informações na pesquisa, tecnologia e produção de sementes, órgãos nacionais e internacionais de análise de sementes, hoje em dia existe uma forte demanda para o desenvolvimento e adaptação de metodologias de última geração.

O NIRS para estudo da qualidade de sementes tem sido utilizado por muitos pesquisadores e em várias culturas, assim como em outras áreas (farmacêutica, alimentar, solos, madeira, etc.). A principal tendência dessa tecnologia é a sua facilidade na preparação das amostras, pouco treinamento do operário, rapidez na obtenção de dados e baixo custo de operação. Além de sua capacidade de preservar a amostra intacta, que é imprescindível no caso de sementes, permitindo utilizá-las para outros fins (AMBROSE et al., 2016). O (NIRS) pode constituir uma ferramenta adequada e eficiente para fornecer valiosas informações.

NIRS baseia-se na absorção de energia por várias ligações, tais como C-H, C-C, C-C,

C- N e O-H. Na faixa espectral do infravermelho próximo (700-2500 nm). A composição mineral de uma matriz orgânica pode ser estimada por NIRS devido à associação entre minerais e grupos funcionais orgânicos ou a própria matriz orgânica (FASSIO; RESTAINO; COZZOLINO, 2015). A espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS) tem sido uma técnica extensamente estudada para sua aplicação na análise da qualidade de sementes pela sua rapidez na análise, baixas exigências na preparação e capacidade de conservar as amostras.

Estudos sobre grãos de milho concentraram-se principalmente em análises quantitativas de óleo, proteína e conteúdo de amido. Alguns estudos sobre NIRS também têm focado na detecção de viabilidade de sementes (JIA et al., 2016). Isso posto, a intenção desse trabalho foi avaliar a capacidade do NIRS para discriminar diferentes níveis de qualidade fisiológica em sementes de milho, paralelamente utilizaram-se testes convencionais de vigor.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

A pesquisa foi realizada no Laboratório Central de Análise de Sementes (LCAS) do Departamento de Agricultura na Universidade Federal de Lavras - UFLA, em Lavras - Minas Gerais (MG), no período de junho a novembro de 2017. Foi conduzido testes de vigor em condições controladas de laboratório, canteiros e câmara de crescimento vegetal.

### **2.1 Semente utilizada**

Utilizou-se sementes de milho híbrido simples do cultivar DKB 290, disponibilizado pelo LCAS da UFLA.

### **2.2 Caracterização dos lotes**

#### **2.2.1 Grau de umidade**

Tomando como base o lote principal 4 kg de sementes, determinou-se umidade inicial de 10,60%, utilizando o método da estufa a  $105 \pm 3$  °C por 24 horas (BRASIL, 2009).

#### **2.2.2 Teste de germinação**

Para avaliar a qualidade inicial do lote de semente em estudo realizou-se o Teste de Germinação, conduzido com quatro repetições de 50 sementes em rolos de papel-toalha umedecidos com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco, e mantido em germinador com temperatura constante de 25 °C. A contagem final ocorreu no sétimo dia após a semeadura (BRASIL, 2009). O lote de sementes apresentou 98% de germinação, valor bem acima do padrão mínimo (85%) recomendado pela Instrução Normativa 45/2013 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (MAPA, 2013).

### 2.2.3 Estratificação do lote

Para obter amostras com diferentes níveis de qualidade, as sementes foram submetidas ao estresse, baseado no método de envelhecimento acelerado (KRZYZANOWSKI; FRANÇA NETO; ROBERVAL DAITON, 1999) por diferentes tempos de envelhecimento 24, 48, 72, 96, 120 horas, mais a testemunha (0 horas) e temperatura constante de 43°C, para que todas as amostras coincidissem no dia da montagem do teste planejado, com intervalo de 24 horas entre as amostras. Começando pelo de maior tempo, 120 h, as colocaram na BOD sequencialmente descendente. Após o período de envelhecimento, as amostras foram deixadas sobre o papel-toalha durante 4 dias a temperatura ambiente na área de laboratório, com o propósito de atingir um equilíbrio higroscópico. As sementes, logo após o envelhecimento e secagem foram submetidas ao teste de umidade (TABELA 1).

Para o caso de avaliação pelo método NIRS, realizou-se uma uniformização do grau de umidade com a utilização de sílica gel, colocou-se 100 gramas de sílica gel em cada gerbox, contendo a tela de aço inox com 230 sementes das 200 requeridas da respectiva amostra, e deixadas em BOD com temperatura de 20° C durante um período de 48 horas. Em seguida, a sílica gel foi trocada, deixando as amostras na BOD sob as mesmas condições por mais 48 horas, até todas apresentarem um peso similar da testemunha. Logo após, elas foram colocadas em sacos de papel e deixadas a temperatura ambiente por 24 horas, até atingirem um equilíbrio de temperatura e umidade (TABELA 1). Durante o processo de obtenção de lotes pelo processo de envelhecimento acelerado, cada amostra, de acordo ao período de deterioração, alcançou graus de umidade distintos, que foi determinado pelo método da estufa  $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$  (BRASIL, 2009).

Tabela 1- Grau de umidade das amostras de sementes de milho

<b>Tratamentos</b>	<b>Umidade equilibrada para testes de vigor</b>	<b>Umidade para avaliação pelo NIRS</b>
T0 (0 horas)	10,63%	8,0%
T1 (24 horas)	15,50%	6,5%
T2 (48 horas)	16,10%	7,0%
T3 (72 horas)	17,11%	7,0%
T4 (96 horas)	17,90%	7,1%
T5 (120 horas)	18,60%	7,0%

Fonte: Do autor, 2017

Para a avaliação pelo NIRS, foi realizado a uniformização do grau de umidade das amostras, visando obter uma porcentagem mínima, baseado no antecedente da interferência do teor de água no espectro das sementes estudadas pelo NIR, fato que poderia ter influência em uma discriminação tendenciosa, visto que os lotes de sementes atingiram diferentes graus de umidade no processo de deterioração.

## **2.3 Testes fisiológicos em sementes de milho**

### **2.3.1 Teste de germinação (G) e primeira contagem (PC)**

Para cada tratamento, foram colocadas quatro repetições de 50 sementes entre três folhas de papel toalha e umedecidas com água destilada, 2,5 vezes o peso seco de papel toalha. Depois enroladas e levadas para um germinador a uma temperatura constante de 25 °C  $\pm$  2 °C. As avaliações foram realizadas ao quarto (primeira contagem) e sétimo dia após a montagem do teste (contagem final) (BRASIL, 2009).

### **2.3.2 Envelhecimento acelerado (EA)**

Foi conduzido pelo método descrito por (KRZYZANOWSKI; FRANÇA NETO; ROBERVAL DAITON, 1999). As sementes de cada lote foram distribuídas sobre a tela inox em camada única, de modo que cobriu completamente a tela e de forma uniforme. No fundo da gerbox, foi colocado 40 ml de água destilada. As caixas foram tampadas e mantidas em BOD regulada a  $42\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , durante 96 horas e posteriormente foi realizado o teste de germinação segundo RAS (BRASIL, 2009).

### **2.3.3 Teste de frio (TF)**

Foi realizado com quatro repetições de 50 sementes por lote, distribuídas uniformemente em bandejas (47 x 30 x 11 cm) preenchidas com substrato de areia e solo com relação (1-2), umedecidas com 60% capacidade de retenção de água. Após a semeadura, as bandejas foram mantidas em uma câmara a  $10^{\circ}\text{C}$  durante sete dias e depois colocadas em câmara de crescimento a  $25^{\circ}\text{C}$  por sete dias. Posteriormente, o total de plântulas emergidas foram contadas, considerando apenas plântulas com coleóptilo com pelo menos 1 cm acima da superfície do substrato, e os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas emergidas (KRZYZANOWSKI; FRANÇA NETO; ROBERVAL DAITON, 1999).

### **2.3.4 Índice de velocidade de emergência (IVE) e emergência em campo (EC)**

Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por amostra, que foram semeados em canteiro de 1 m de largura x 5 m de comprimento semeado a 3,0 cm de profundidade, perfurado com aparelho adequado para distribuir 50 sementes por repetição, em condições de campo. A umidade do substrato se manteve controlada com irrigação. Para o cálculo do IVE, as leituras foram realizadas diariamente, contando o número de plantas emergidas todos os dias até alcançar estabilização do estande (MAGUIRE, 1962). Já para o cálculo da emergência, o número de plântulas normais emergidas foi contada no décimo quinto dia após a semeadura e expressadas em porcentagem (MAGUIRE, 1962 apud CASTAN et al., 2018).

### 2.3.5 Espectroscopia do infravermelho próximo (NIRS)

No estudo por meio da Espectroscopia do Infravermelho Próximo (NIRS), avaliou-se a semente inteira colocando-as diretamente no feixe de luz, mediante a qual se capturou os espectros vibracionais das ligações C-H, N-H, O-H e S-H, na faixa espectral de 4000 a 10 000  $\text{cm}^{-1}$ , segundo (MACHO; LARRECHI, 2002 apud LI et al., 2017).

Para essa avaliação, 200 sementes de milho de cada amostra foram estudadas mediante a espectroscopia de infravermelho próximo, em um equipamento de marca *Bruker*, onde as sementes foram colocadas com o embrião focado diretamente no feixe de luz. Os espectros foram obtidos na região espectral de 10.000 a 4.000  $\text{cm}^{-1}$ , com o auxílio de uma esfera de integração. As leituras foram feitas com uma resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e com 64 repetições por semente. Posteriormente, os dados foram analisados pelo método de regressão multivariada PLS-DA, com o auxílio do software PIROUETTE. (HULIANG; FANGYUN; LIPING, 2016) e (TASSI BORILLE et al., 2017).

### 2.3.6 Delineamento estatístico

Foi usado um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com um esquema simples de seis tratamentos compostos por: T1, T2, T3, T4, T5 e uma testemunha T0. Com quatro repetições, utilizando 50 sementes por repetição. Realizou-se análise de variância dos dados à significância de 5% de probabilidade pelo teste F, utilizando o software estatístico Versão livre RStudio. As diferenças significativas foram discriminadas pelo teste de Scott-Knott, ao 5% de probabilidade.



### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### 3.1 Qualidade fisiológica de sementes de milho

Na execução de testes de vigor para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de milho, observou-se notáveis diferenças de vigor entre as amostras (TABELA 2). Os estudos basearam-se no manuseio e computo de plântulas normais, tanto nos testes fisiológicos: Germinação (G), Primeira Contagem de Germinação (PC), Índice de Velocidade de Emergência (IVE) e Emergência em campo (EC), quanto nos testes de resistência: Teste de Frio (TF) e Envelhecimento Acelerado (EA). (KRZYZANOWSKI; FRANÇA NETO; ROBERVAL DAITON, 1999). Os dados foram expressos em porcentagem.

Tabela 2 - Resultados médios da avaliação da qualidade fisiológica dos lotes de amostras de sementes de milho. Lavras, MG, 2017.

TRATAMENTOS	GERMINAÇÃO		EA%	TF%	IVE	EC%
	PC%	G%				
<b>T0 (0 h)</b>	72,5a	98,5a	88 a	94,5a	72,73a	97 a
<b>T1 (24 h)</b>	63b	97,5a	83 a	90,5a	70,73a	96,5a
<b>T2 (48 h)</b>	58b	93,5a	73,5a	88a	70,67a	94,5 a
<b>T3 (72 h)</b>	47 c	91,5a	59b	82a	64,00b	90 a
<b>T4 (96 h)</b>	37,5e	70b	42,5c	62b	47,87c	68b
<b>T5 (120 h)</b>	27,5 d	64,5b	29,5 d	50,5b	35,27d	49,5c
<b>CV%</b>	9,45	6,8	12,83	11,42	6,17	5,51

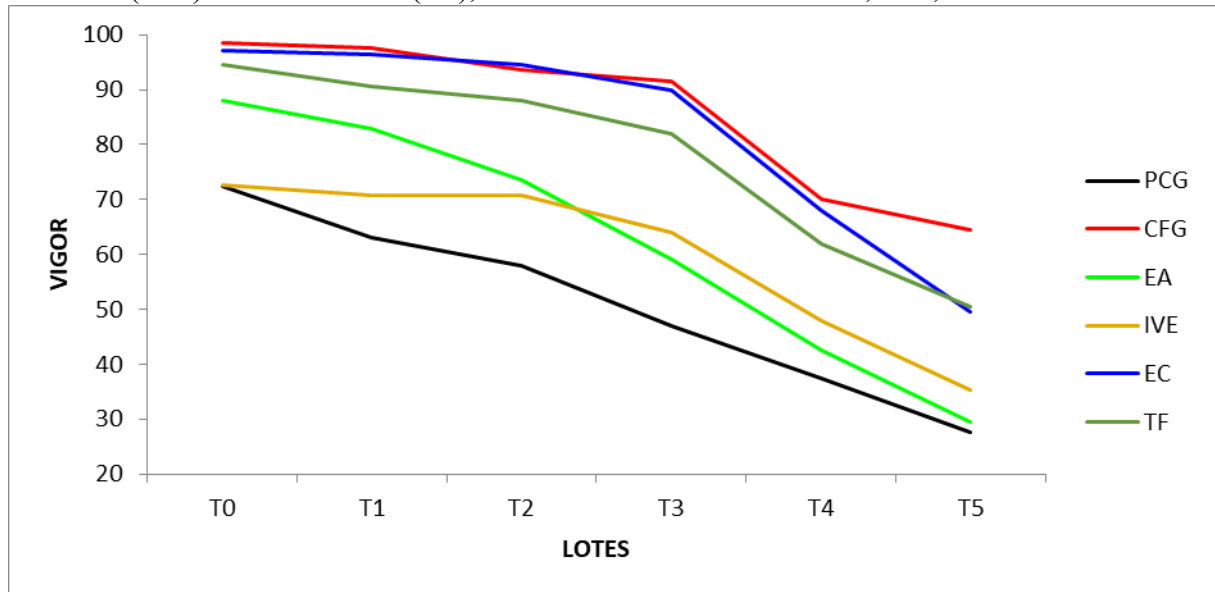
\*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, no nível de 5% de significância pelo teste de Scott-Knott.

Fonte: Do autor, 2017

Os diferentes níveis de qualidade fisiológica obtidos pelos testes de vigor; PC, IVE, EA, TF, EC, diferenciaram, efetivamente, as amostras em vários níveis (TABELA 2). Destacando os tratamentos T0, T1 e T2 com vigor superior no referido ao teste de EA e IVE, quando utilizado o teste de PC, somente o T0 apresentou um elevado nível de vigor. Mas na viabilidade pelo teste de G os T0, T1, T2 e T3, também compartilham o mesmo nível, enquanto aos testes de EC e TF manifestaram alto vigor nos T0, T1, T2 e T3. O expressado

anteriormente são iguais entre si pelo teste de Skott-Knott ao 5% de significância. Quando comparado com as amostras T4 e T5 que são as menos vigorosas em todos os testes. Embora, apresentaram vários níveis, dependendo do teste utilizado, foram de baixa estimação.

Figura 1- Resultados da avaliação da (QF) dos lotes, com os estudos das medias de germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), envelhecimento acelerado (EA), emergência de plântulas em campo (EC), índice de velocidade de emergência (IVE) e Teste de Frio (TF), de sementes de milho. Lavras, MG, 2017.

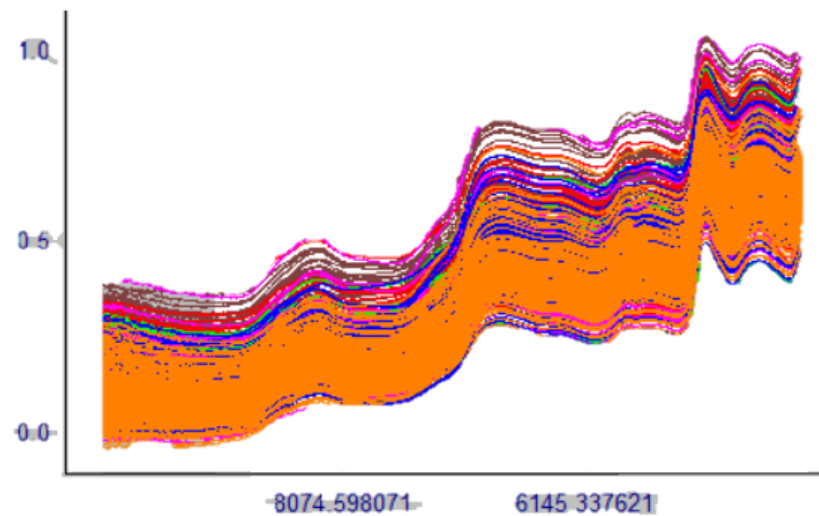


Fonte: Do autor, 2017

De acordo com Egli e Rucker (2012), as amostras de sementes com a mesma germinação, mas em diferentes níveis de vigor, muitas vezes produzirá igual emergência em condições de campo, mas os lotes de alto vigor terão uma vantagem quando as condições forem inferiores ao ideal. Por outro lado, o teste de germinação não é capaz de fornecer dados relacionados ao vigor das sementes (DIAS et al., 2015).

Na execução de análise por meio do NIRS, as seis amostras de sementes de milho apresentaram uma distribuição semelhante quanto a seus espectros NIR (FIGURA 2). Os dados obtidos foram tratados no software PIROUETTE pelo método PLS-DA para fazer a estimação de acordo com resultados dos testes de vigor.

Figura 2 - Espectros de seis amostras de sementes de milho submetidas ao infravermelho próximo, (Y) concentrações orgânicas; (X) comprimentos de ondas.



Fonte: Do autor, 2017

Observando a distribuição dos espectros pode inferir que, apresenta muita similitude na distribuição das bandas. Começou a purificar a região espectral no começo e no final dos espectros NIR (FIGURA 2) para eliminar os ruídos gerados durante o processo de leitura das amostras. Em seguida ocorreu a comparação dos seis lotes de sementes de milho pelo método PLS-DA, utilizando os dados obtidos pelo infravermelho próximo.

Aplicado o modelo de predição, observou-se que somente na amostra T0 com 102 sementes teve um acerto de 68%, T1 (49 ou 33%), T2 (34 ou 23%), T3 (70 ou 47%), T4 (53 ou 35%), T5 (60 ou 40%) quanto a qualidade fisiológica, referindo-se a sementes classificadas ou porcentagem de acertos. As 150 sementes restantes, foram classificadas como pertencentes às demais amostras ou não classificadas (TABELA 3).

Tabela 3 - Sementes de milho em estudo, classificadas quanto sua qualidade fisiológica, através da PLS-DA, como auxílio da técnica de infravermelho próximo.

	Classificação						Não classificadas/Total	
	T0	T1	T2	T3	T4	T5		
<b>LOTES</b>	T0	102	2	1	1	1	0	43/150
	T1	5	49	8	1	0	0	88/150
	T2	1	10	34	5	1	2	98/150
	T3	0	0	5	70	1	1	73/150
	T4	1	1	0	3	53	12	81/150
	T5	1	1	0	2	14	60	72/150

Fonte: Do autor, 2017

Analisando os níveis de classificação, pode se inferir que possivelmente teve a influência por ter utilizado amostras da mesma cultivar e que provavelmente manteve uma composição semelhante. Embora os períodos de deterioração tenham sido distintos, como conferidos pelos testes convencionais de vigor aplicados neste estudo. Também se pode estimar que pelo fato de ter utilizado sementes inteiras, tenha influenciado a obtenção de dados bem próximos entre amostras. Já que o milho, está composto, principalmente, por endosperma e só uma pequena parte ocupa o embrião, que é onde acontece a deterioração. Todavia, por se tratar da mesma cultivar, possivelmente a configuração das sementes não mudaram em demasia, impedindo assim uma melhor predição.

A tentativa de validação do modelo com a metodologia de reservar os dados espectrais de uma quantidade conhecida de sementes (50 sementes) deu como resultado a mesma tendência dos resultados expressos no modelo anterior, onde T0 classificou corretamente com 39 sementes. Certamente o T0 apresentou alto vigor em todos os testes fisiológicos, demonstrando assim que a espectroscopia NIR também conseguiu detectar as diferenças quanto a qualidade fisiológica de sementes para o lote T0. Já para os demais lotes, não foi capaz de detectar categoricamente, seguindo o mesmo esquema de interpretação do lote T0. (TABELA 4)

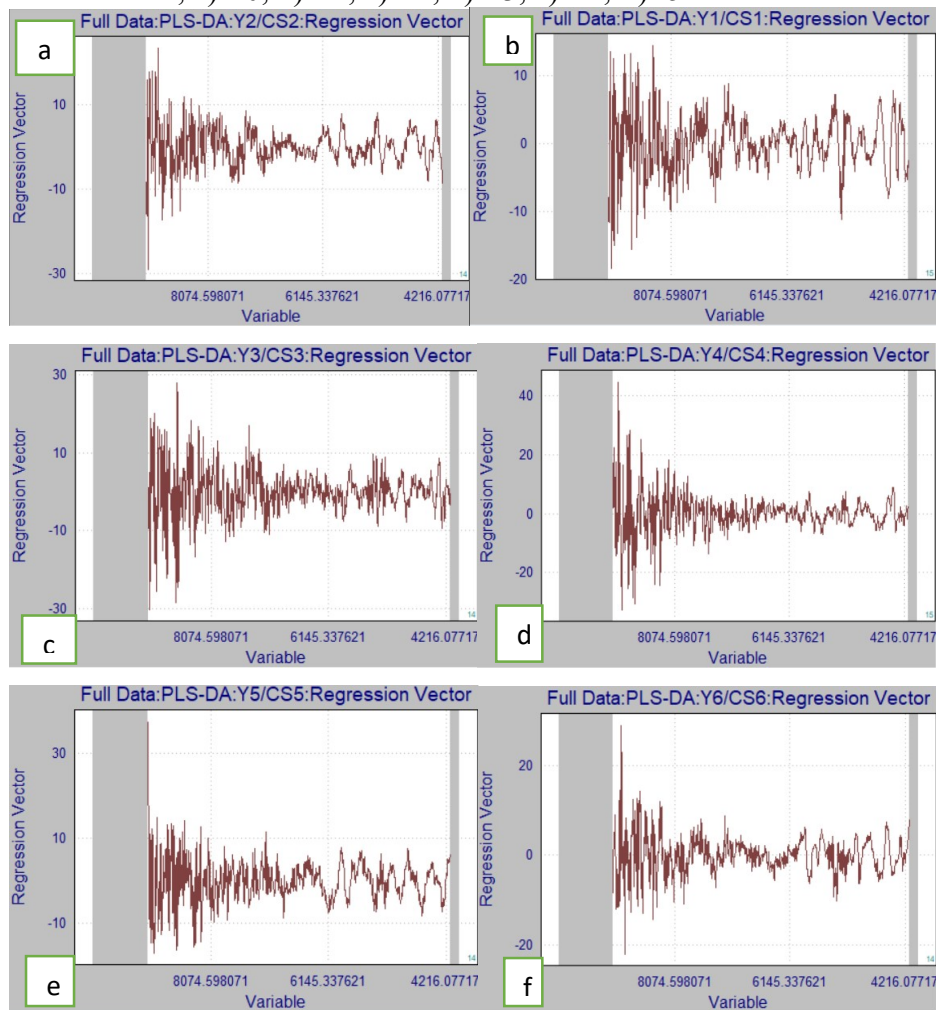
Tabela 4 - Sementes de milho em estudo, classificadas através da validação do modelo PLS-DA referente à sua qualidade fisiológica.

		Classificação						Não classificadas/ Total
		T0	T1	T2	T3	T4	T5	
LOTES	T0	39	0	1	0	0	0	10/50
	T1	4	6	0	1	1	0	38/50
	T2	4	1	9	2	2	0	32/50
	T3	2	1	0	11	0	2	34/50
	T4	2	0	0	0	11	4	33/50
	T5	0	1	1	1	1	17	29/50

Fonte: Do autor, 2017

É possível observar que os comprimentos de onda para detectar cada lote, não forneceram a clareza necessária (FIGURA 3), Na maioria dos casos os lotes apresentaram comprimentos de ondas semelhantes (FIGURA 3: b, c, d, e, f). Embora a (FIGURA 3a) correspondente a T0, tenha apresentado diferença na classificação, não apresentou uma característica predominante no espectro que se possa aferir com certeza o tipo de ligação que marcou a diferença no lote T0.

Figura 3 - Comprimentos de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) referentes às amostras de sementes de milho estudadas, a) T0, b) T1, c) T2, d) T3, e) T4, f) T5



Fonte: Do autor, 2017

Pela viabilidade de sementes de milho obtido pelo teste de germinação, realizou-se a PLS-DA dos espectros obtidos do NIRS, para prever a classificação das amostras quanto a sua qualidade fisiológica (TABELA 5).

Tabela 5 - Sementes de milho classificadas por meio do modelo PLS-DA com base no teste de Germinação.

		Classificação		Não classificadas/ Total
		T0, T1, T2, T3	T4, T5	
<b>LOTES</b>	T0	533	18	49/600
	T1			
	T2			
	T3	101	191	8/300
	T4			
	T5			

Fonte: Do autor, 2017

Quando se considerou o teste de médias da porcentagem de germinação e foi utilizada para criar o modelo de predição com 150 sementes por amostras, a metodologia NIRS classificou com alta precisão os lotes (T0, T1, T2 e T3) com 533 sementes acertadas (89%), 49 (8%) classificou como distintas as categorias envolvidas nesta avaliação e 18 (3%) sementes colocou como sendo dos lotes (T4 e T5) de um total de 600 sementes. Considera-se a mesma interpretação para as demais amostras.

Fazendo a relação com os resultados do Teste de Germinação, tem uma interpretação acertada, já que estatisticamente os lotes T0, T1, T2 e T3 são iguais, compartilhando uma mesma faixa de qualidade fisiológica. Assim como também os lotes T4 e T5 que apresentaram menor vigor quando avaliado pelo teste de germinação (TABELA 6).

Tabela 6 - Sementes de milho em estudo, classificadas por meio da validação do modelo PLS-DA, segundo o Teste de Germinação

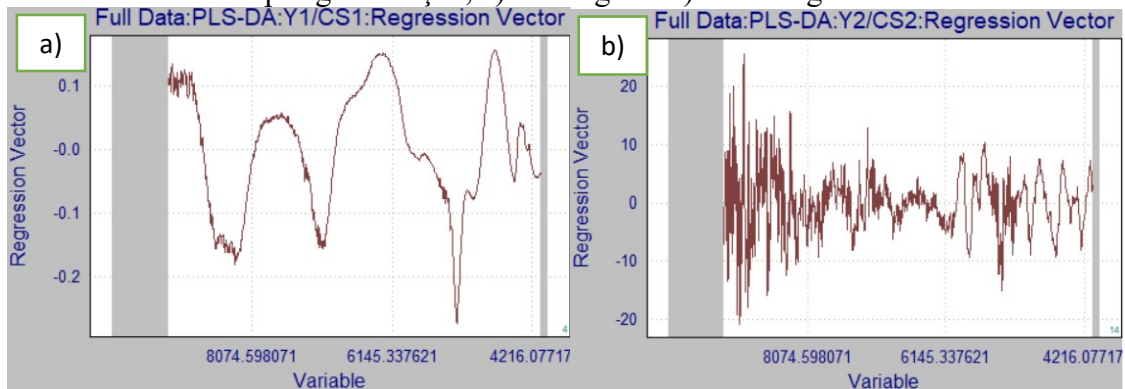
		Classificação		Não classificadas/ Total
		T0, T1, T2, T3	T4, T5	
<b>LOTES</b>	T0	153	12	35/200
	T1			
	T2			
	T3			
	T4	25	67	8/100
	T5			

Fonte: Do autor, 2017

Feito a validação do modelo, a tendência de classificação é a mesma com as particularidades de quantidade, já que para a validação do modelo utilizou-se 50 sementes na classificação das amostras de sementes de milho referente a sua viabilidade pelo teste de germinação.

Na figura 4, estão os comprimentos de onda que determinam claramente a classificação entre os dois grupos. Sendo bem definida para o primeiro caso, (FIGURA 4a), e para o caso do segundo grupo (FIGURA 4b), não apresenta um comprimento de onda chave para determinar uma ligação química que expresse sua classificação.

Figura 4 - Comprimentos de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) referente a duas qualidades fisiológicas de sementes de milho por germinação, a) alto vigor e b) baixo vigor.



Fonte: Do autor, 2017

Por outro lado, o teste de Primeira Contagem de Germinação é considerado um teste de vigor, pois fornece uma rápida percepção da qualidade do lote de semente, baseado na força de arranque na germinação das sementes, assim se pode observar que quando os lotes foram sometidos a esse teste, somente o T0 é mostrado como mais vigoroso (72,5%), os demais lotes apresentam inferioridade, embora revelaram várias categorias.

Tomando como base o teste de primeira contagem de germinação, realizou-se a PLS-DA dos espectros obtidos do NIRS para prever a classificação das amostras quanto a sua qualidade fisiológica (TABELA 7).

Tabela 7 - Sementes de milho em estudo, classificadas por meio do modelo PLS-DA com base no teste de Primeira Contagem de Germinação.

	Classificação						Não classificadas/ Total
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	
LOTES	T0	99	19	0	0	0	32/150
	T1	4	197	4	3	2	90/300
	T2	0	13	70	2	2	63/150
	T3	1	5	3	45	13	83/150
	T4	1	5	2	16	56	70/150
	T5	1	5	2	16	56	70/150

Fonte: Do autor, 2017

Como se pode observar, as predições para T0 acertou com 99 sementes, 32 não classificou e 19 agrupou como sendo das amostras T1 e T2 de 150 sementes testadas. Para a interpretação das demais amostras segue a mesma explicação da anterior, os acertos fazendo relação com o estudo das medias na qual apresenta uma sensibilidade muito grande na

avaliação do vigor. O NIRS não tem a mesma sensibilidade, assim como os demais testes utilizados (TABELA 8).

Tabela 8 - Sementes de milho em estudo, classificadas através da validação do modelo PLS-DA, referente ao Teste de Primeira contagem de Germinação.

	Classificação						Não classificadas/ Total
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	
LOTES	T0	40	2	0	0	0	8/50
	T1	13	27	2	2	0	56/100
	T2	1	6	5	0	2	36/50
	T3	3	0	0	5	10	32/50
	T4	0	0	0	6	13	31/50
	T5						

Fonte: Do autor, 2017

Feito a validação do modelo, a tendência de classificação é a mesma com as particularidades de quantidade. Uma vez que para a validação do modelo, foram utilizadas 50 sementes na classificação das amostras de sementes de milho, referente ao vigor pelo teste de primeira contagem de germinação.

Na figura 5, são mostrados os comprimentos de onda que exibem a classificação entre os cinco grupos, na qual apresentam características similares no comprimento de onda. E as mudanças que se consegue observar, não fornecem uma tendência chave para aferir uma característica específica que possa determinar cada grupo.

Figura 5 - Comprimentos de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) referente ao Teste de Primeira Contagem de Germinação, a) alto vigor, b, c, d, e) baixo vigor. (Continua)

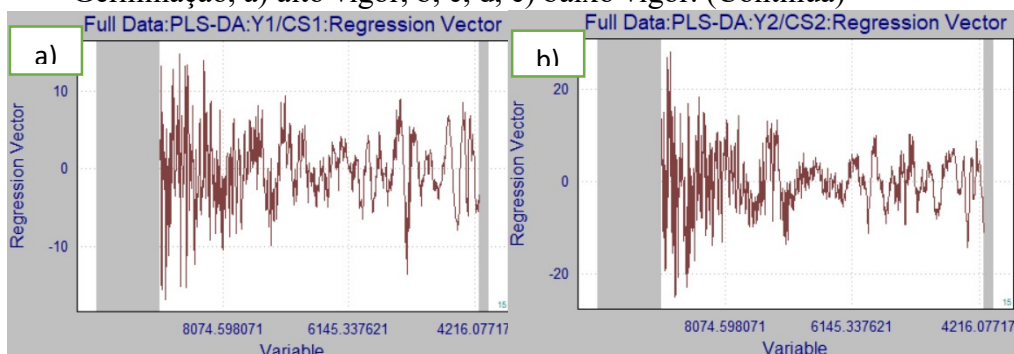
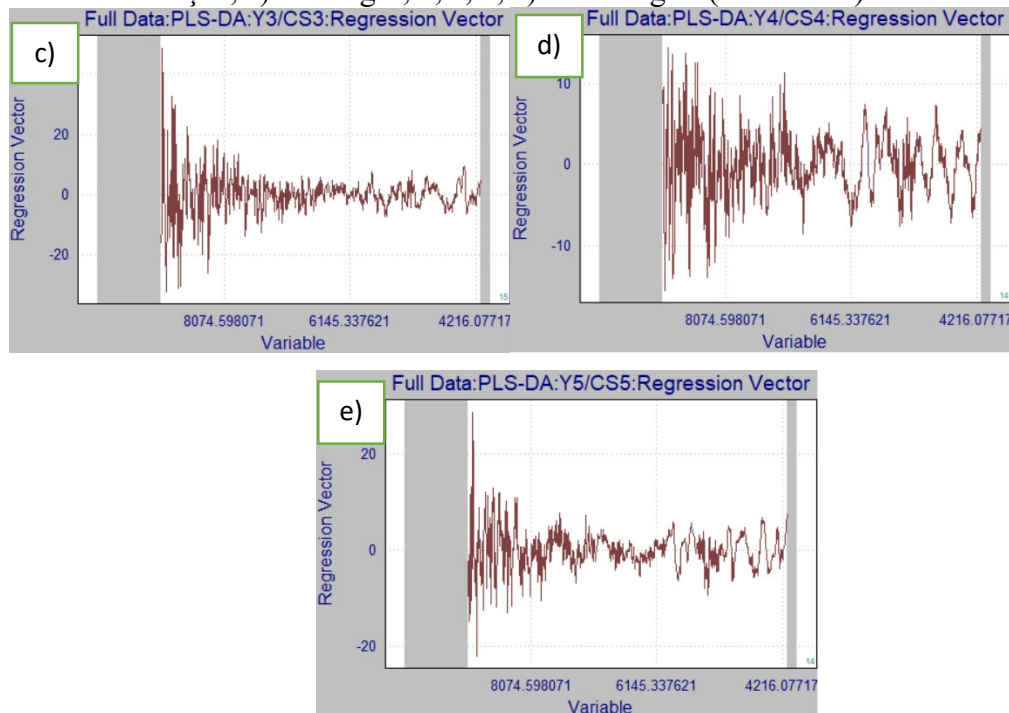




Figura 5 - Comprimentos de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) referente ao Teste de Primeira Contagem de Germinação, a) alto vigor, b, c, d, e) baixo vigor. (Conclusão)



Fonte: Do autor, 2017

Prever o desempenho do lote de semente em condições sub-ótimas de campo é o principal foco dos testes de vigor de sementes (TEKRONY et al., 1987). Nesse cenário, o teste de envelhecimento acelerado é considerado um dos testes de vigor mais sensíveis e eficientes para várias espécies (MARCOS-FILHO, 2005 apud DIAS et al. 2015).

Quando aplicado o Teste de Envelhecimento Acelerado, três lotes foram superiores T0 (88%), T1 (83%) e T2 (73,5%), os demais tratamentos T3 (59%), T4 (42,5%) e T5(29,5%) foram inferiores, demonstrando baixo vigor. Em uma pesquisa desenvolvida por Sena et al., (2017) para avaliar qualidade fisiológica de sementes de milho, utilizou esse teste para discriminar vigor de sementes. Fazendo menção a outras pesquisas de uso eficiente do teste em trabalhos desenvolvidos com sementes de arroz, sorgo e milho.

As empresas produtoras de sementes de milho híbrido, estão cada vez mais conscientes da necessidade de aumentar a qualidade das sementes que produzem. Sendo que o teste de Germinação, Teste de Frio e Envelhecimento acelerado são os três testes mais importantes para prever a qualidade da semente. (GU et al., 2017). Tomando como base o teste de envelhecimento acelerado, realizou-se a PLS-DA dos dados espectrais para prever a classificação dos lotes quanto a sua qualidade fisiológica (TABELA 9).

Tabela 9 - Sementes de milho em estudo, classificadas por meio do modelo PLS-DA com base no teste de envelhecimento acelerado.

		Classificação					Não classificadas/ Total	
		T0	T1	T2	T3	T4		T5
<b>LOTES</b>	T0							
	T1		396		3	1	1	49/450
	T2							
	T3		20		65	3	0	62/150
	T4		11		2	45	13	79/150
	T5		9		3	14	61	63/150

Fonte: Do autor, 2017

Fazendo relação com o estudo das médias do teste de envelhecimento acelerado as amostras T0, T1 e T2 são iguais, e quando agrupados por PLS-DA acertou com 396 sementes, 49 não classificou, 3 de T3, 1 de T4 e 1 de T5, utilizando 450 sementes para a predição. Para os demais tratamentos segue a mesma interpretação da descrição anterior de um total de 150 sementes avaliadas por cada amostra (TABELA 10).

Tabela 10 - Sementes de milho em estudo, classificadas por meio da validação do modelo PLS-DA, com base no Teste de Envelhecimento Acelerado.

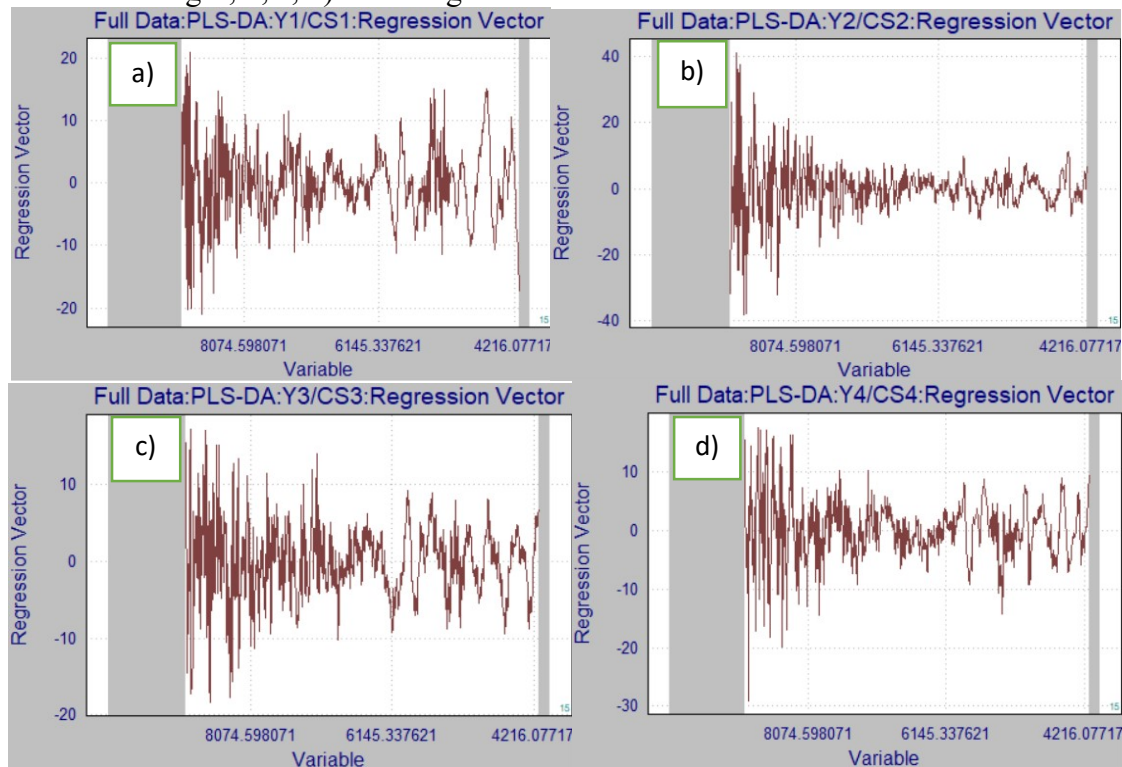
		Classificação					Não classificadas/ Total	
		T0	T1	T2	T3	T4		T5
<b>LOTES</b>	T0							
	T1		124		3	3	2	18/150
	T2							
	T3		12		4	0	5	29/50
	T4		4		1	4	8	33/50
	T5		6		0	3	13	28/50

Fonte: Do autor, 2017

Feito a validação do modelo, a tendência de classificação é a mesma com as particularidades de quantidade. Posto que para a validação do modelo utilizou-se 50 sementes na classificação dos lotes de sementes de milho referente ao vigor pelo teste de Envelhecimento Acelerado.

Na figura 6, se verifica que os comprimentos de onda não fornecem tendências particulares para cada grupo, embora a configuração própria para cada grupo possam ter arranjado as diferenças na predição.

. Figura 6 - Comprimentos de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) referente ao Teste de Envelhecimento Acelerado, a) alto vigor; b, c, d) baixo vigor



Fonte: Do autor, 2017

No Brasil, o teste de frio é amplamente utilizado para sementes de milho, principalmente nos Estados do Sul e Sudeste, onde lavouras de algodão, milho e soja podem ser semeadas no início do mês de setembro (CASEIRO; MARCOS FILHO 2002), sendo comum a ocorrência de frentes frias chuvosas (KRZYZANOWSKI et al., 1991). Semelhante ao teste de frio, a germinação sob baixa temperatura também é muito utilizada e tem como princípio o fato de que baixas temperaturas, principalmente nos estágios iniciais de embebição, têm efeitos prejudiciais na germinação e no desenvolvimento das plântulas (KRZYZANOWSKI et al., 1999 apud CESAR AUGUSTO GASPARETTO SBRUSSII; CLAUDEMIR ZUCARELI, 2015). Pelos resultados do teste de frio (TF) houve classificação de quatro amostras com vigor superiores: T0; T1; T2 e T3 que variam de 94,5% até 88%, e as amostras T4 e T5 apresentaram baixo vigor. Observando que essa discriminação também ocorre nos testes EC e G, embora a germinação não seja um teste de vigor, é um procedimento padrão de todo laboratório de análise de sementes.

De acordo com a *International Seed Testing Association* - ISTA (1981) e a *Association of Official Seed Analysts* - AOSA (1983), citado por Sena et al. (2017), teste frio é

considerado o mais importante para o vigor da semente de milho. Também destaca a utilização deste teste para avaliar qualidade fisiológica em outras espécies.

Na aplicação da PLS-DA para o Teste de Frio pode-se interpretar como sendo o mesmo do teste de Germinação já que no processo de inserir os níveis de classificação pelos testes de médias o TF teve a mesma discriminação que o Teste de germinação (TABELA 4), porém o PLS-DA pode ser interpretado de igual forma, tanto para o modelo quanto a validação do Teste de Germinação.

Um estudo realizado por Castan et al. (2018), para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de milho, utilizou, entre outros testes, o Índice de Velocidade de emergência e Emergência de Plântulas, os mesmos que ajudaram à diferenciar características de vigor nas sementes avaliadas. Já o estudo desenvolvido por Vieira et al. (2015), relatou que a velocidade de emergência (IVE) foi realizada junto com a emergência de plântulas em campo, anotando, diariamente, até o final (dez dias) as plântulas com o coleóptilo acima da superfície do solo. O índice de velocidade de germinação e emergência foi calculado empregando a fórmula proposta por Maguire (1962).

Pelos resultados do teste de IVE, houve separação de amostras com maior vigor T0 (72,73%), T1 (70,73%) e T2 (70,67%), e as amostras T3, T4 e T5 apresentaram resultados inferiores, considerados de baixo vigor, com discriminação semelhante ao teste de EA. Um estudo desenvolvido por Vieira et al. (2015), também utilizou este teste para avaliar vigor em vários lotes de sementes de milho.

No estudo dos dados obtidos pelo NIRS, fazendo as predições com base no estudo das médias de IVE, determinou-se que a interpretação é a mesma que os resultados obtidos nas análises PLS-DA do Envelhecimento Acelerado, tanto para o modelo quanto a validação. Essa afirmação fica bem clara quando são observadas no estudo de médias dos testes fisiológicos, onde os dois testes mostram o mesmo padrão de discriminação e cujos níveis são inseridos no PIROUTTE para executar as predições.

Com o propósito de simular qual seria o desempenho das sementes em campo utilizou-se o teste de Emergência em Campo. Pelos resultados as amostras T0, T1, T2 e T3 foram classificadas como de alto vigor, variando de 97% a 90%, semelhantes aos obtidos pelo Teste de Frio com 94,5% a 82% e G 98,5% a 91,5%, utilizando o mesmo nível, embora o teste de germinação não sirva para estimar o vigor de sementes. Como relataram os autores Vieira et al. (2015), o teste de emergência em campo é eficiente para avaliar vigor de sementes de

milho, destacando a sua aplicação em outras pesquisas desenvolvidas com sementes de feijão e trigo.

A análise dos dados NIRS, tomando como base o resultado da emergência em campo para prever a classificação dos lotes quanto a sua qualidade fisiológica utilizando a metodologia PLS-DA com o auxílio do software PIROUETTE, pode ser vista na tabela 11.

Tabela 11 - Sementes de milho em estudo, classificadas por meio do modelo PLS-DA com base no teste de emergência em campo.

	Classificação						Não classificadas/ Total
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	
T0							
T1							
T2	547				6	4	43/600
T3							
T4	35				47	12	56/150
T5	30				16	57	47/150

Fonte: Do autor, 2017

Nota-se que neste caso determinou que 547 (91%) de 600 sementes são de alto vigor, não classificou 43 e 6 agrupou no T4 e 4 no T5. Por outro lado, na classificação mais específica por cada lote torna-se deficiente como o caso de 47 acertos no T4, 56 não classificou, 35 colocou como pertencente ao primeiro grupo e 12 como T5, assim também no T5 acertou 57, não classificou 47, agrupou 16 como T4 e 30 determinou que é do primeiro grupo, isso utilizando os dados de 150 sementes avaliadas pelo NIRS.

Tabela 12 - Sementes de milho em estudo, classificadas por meio da validação do modelo de PLS-DA, com base no Teste de Emergência em campo.

	Classificação						Não classificadas/ Total
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	
T0							
T1							
T2	172				2	4	22/200
T3							
T4	10				6	8	26/50
T5	12				6	10	22/50

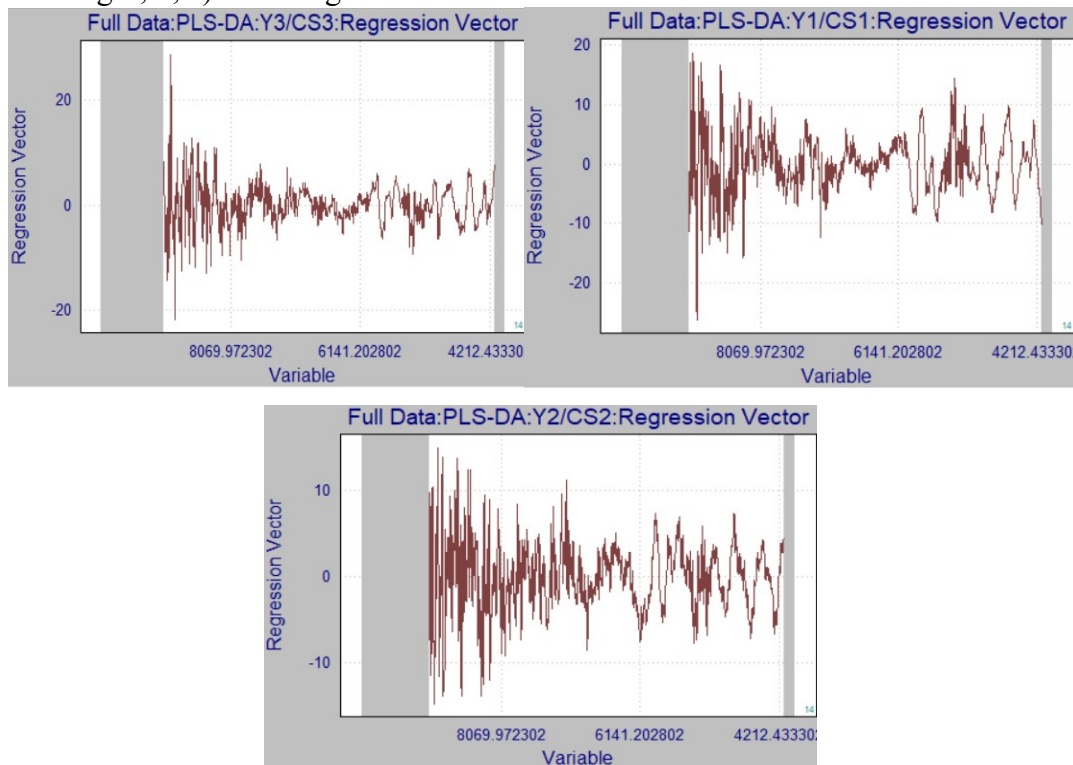
Fonte: Do autor, 2017

Feito a validação do modelo, a tendência de classificação é a mesma com as particularidades de quantidade, já que para a validação utilizou-se 50 sementes na

classificação dos lotes de sementes de milho, referente ao seu vigor pelo teste de Emergência em Campo.

Na figura 7, pode-se observar os comprimentos de ondas para cada grupo onde a figura 7 (a) destacou-se na classificação, diferindo das outras. Embora não apresente tendências específicas, ela tem várias regiões que provavelmente determinou a classificação das amostras de sementes de milho. Ao contrário, nas figuras 7 (b, c) verificam-se que são muito próximas, seja por causa da deterioração na amostra ou por se tratar de uma mesma cultivar, e que apresentaram baixa eficiência na classificação específica em quanto a qualidade de sementes.

Figura 7 - Comprimentos de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) referente ao Teste de Emergência em Campo, a) alto vigor; b, c) baixo vigor.



Fonte: Do autor, 2017

De modo geral, se pode interpretar que quando se realizou a predição utilizando aleatoriamente 150 sementes por amostras e considerando o agrupamento pelo estudo de medias, assim com base nos testes de: G e TF classificaram 533 (89%) de 600 para T0, T1, T2 e T3 considerados de alto vigor, de baixo T4 e T5 acertaram 101 (34%) de 300 sementes, enquanto EC classificou 547 (91%) de 600 sementes para T0, T1, T2 e T3 considerados de alto vigor, e como baixo vigor T4 e T5 acertaram 47 (31%) e 57 (38%) de 150 sementes respectivamente, da mesma forma IVE e EA classificaram 396 (88%) de 450 sementes para

T0, T1 e T2 considerados de alto vigor, enquanto os de baixo vigor T3, T4 e T5 acertaram 65 (43%), 45 (30%) e 61(41%) de 150 sementes respectivamente, no caso particular do teste de PC que apresentou 5 níveis de qualidade e quando foi aplicado a PLS-DA, acertou 99 (66%) de 150 sementes para T0 considerado de alto vigor e 197 (66%) de 300 sementes para T1 e T2 considerados de vigor médio e T3, T4 e T5 de baixo vigor acertaram 70 (47%), 45 (30%) e 56 (37%) respectivamente de 150 sementes tomadas para esta análise.

O estudo da qualidade fisiológica de sementes de milho vem sendo desenvolvido, utilizando os testes de vigor convencionais, sendo relatado em vários trabalhos como em: Sena et al. (2017), Vieira et al. (2015), Sbrussii; Zucarelli (2015), Gu et al. (2017). E apesar da premissa de desenvolver aparelhos, tecnologias e metodologias, seja cada vez mais promissora, como descrevem os trabalhos de Castan et al. (2018), Dranski et al. (2017), Jia et al. (2016) e Ambrose et al. (2016), os testes convencionais continuarão fazendo parte cotidiana do sucesso na produção de sementes e no desenvolvimento de cultivares por meio da pesquisa e correta utilização das mesmas.

#### **4 CONCLUSÃO**

Aplicando a técnica NIRS e realizado as predições pelo método PLS-DA, não conseguiu discriminar eficientemente a classificação individual das amostras, mas quando foi agrupada de acordo com as categorias obtidas pelo estudo de médias dos testes fisiológicos, a metodologia NIRS tornou-se mais eficiente na classificação de amostras de sementes de milho em função da qualidade fisiológica.

Todos os testes convencionais de vigor conseguiram separar as amostras de sementes em diferentes níveis de qualidade fisiológica, onde o teste de PC foi o mais sensível para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de milho utilizadas neste estudo.



## REFERÊNCIAS

- AMBROSE, A. et al. Comparative nondestructive measurement of corn seed viability using Fourier transform near-infrared (FT-NIR) and Raman spectroscopy. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 224, p. 500–506, 2016.
- BRASIL. **Regras Para Análise de Sementes**. 1a. ed. Brasília, DF: 2009, 2009.
- CASTAN, D. O. C. et al. Vigor-S, a new system for evaluating the physiological potential of maize seeds. **Scientia Agricola**, v. 75, n. 2, p. 167–172, abr. 2018.
- CESAR AUGUSTO GASPARETTO SBRUSSII; CLAUDEMIR ZUCARELI. Germinação sob altas temperaturas para avaliação do potencial fisiológico de sementes de milho. **Ciência Rural**, v. 45, n. 10, p. 1736–1741, 2015.
- DIAS, M. A. N. et al. VIGOR TESTS ASSOCIATION AS AN ALTERNATIVE FOR PRECISE AND EFFICIENT ASSESSMENT OF MAIZE SEED QUALITY. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 3, p. 93–99, set. 2015.
- DRANSKI, J. A. L. et al. Carbon dioxide quantified by the infrared in respiratory activity evaluation in corn seeds. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 3, p. 1115, 13 jun. 2017.
- FASSIO, A. S.; RESTAINO, E. A.; COZZOLINO, D. **Determination of oil content in whole corn (Zea mays L.) seeds by means of near infrared reflectance spectroscopy** *Computers and Electronics in Agriculture*. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016816991400297X>>. Acesso em: 6 abr. 2017.
- GU, R. et al. The ideal harvest time for seeds of hybrid maize (Zea mays L.) XY335 and ZD958 produced in multiple environments. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 17537, 13 dez. 2017.
- HULIANG, C.; FANGYUN, C.; LIPING, P. Determination of the Fatty Acid Composition in Tree Peony Seeds Using Near-Infrared Spectroscopy. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 93, n. 7, p. 943–952, 3 jul. 2016.
- JIA, S. et al. Feasibility of analyzing frost-damaged and non-viable maize kernels based on near infrared spectroscopy and chemometrics. 2016.
- KRZYŻANOWSKI, F.; FRANÇA NETO, J. DE B.; ROBERVAL DAITON, V. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina, PR: [s.n.].
- LI, C. et al. Determination of gossypol content in cottonseeds by near infrared spectroscopy based on Monte Carlo uninformative variable elimination and nonlinear calibration methods. **Food Chemistry**, v. 221, p. 990–996, 2017.
- MAGUIRE, J. D. **Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling**

**emergence and vigor.** [s.l: s.n.].

MAPA. **Instrução Normativa MAPA 45/2013**, Brasil, 2013. Disponível em: <[http://www.apassul.com.br/upload/legislacao/INSTRUCAO NORMATIVA N 45 DE 17 DE SETEMBRO DE 2013.pdf](http://www.apassul.com.br/upload/legislacao/INSTRUCAO_NORMATIVA_N_45_DE_17_DE_SETEMBRO_DE_2013.pdf)>. Acesso em: 9 fev. 2018

MARCOS-FILHO, J. et al. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia Agricola**, v. 72, n. 4, p. 363–374, ago. 2015.

SENA, D. V. DOS A. et al. Vigor tests to evaluate the physiological quality of corn seeds cv. “Sertanejo”. **Ciência Rural**, v. 47, n. 3, 2017.

TASSI BORILLE, B. et al. Near infrared spectroscopy combined with chemometrics for growth stage classification of cannabis cultivated in a greenhouse from seized seeds. **SAA**, v. 173, p. 318–323, 2017.

VIEIRA, D. et al. Vigor de sementes de milho cv. “Sertanejo” por testes baseados no desempenho de plântulas. **Ciência Rural**, v. 45, n. 11, p. 1910-1916, 2015.

## CAPÍTULO 3 – POTENCIAL DA TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA NIR PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA

### RESUMO

A soja é uma das oleaginosas mais importantes do mundo, no Brasil se destaca como o primeiro agronegócio de sucesso, é utilizado, principalmente, como alimento processado para animais, derivados alimentícios para o consumo humano e nos últimos anos tem sido prioridade da tecnologia de biocombustível, sua produção é completamente dependente de sementes, visando à obtenção de sementes de alta qualidade que beneficiem e gere renda em todas as etapas subsequentes, fato que têm demandado grandes investimentos no setor, apontando o desenvolvimento de novas cultivares, principalmente Organismos Geneticamente Modificados (OGM) e também tradicionais. Várias metodologias têm sido desenvolvidas ao longo do tempo e utilizadas rotineiramente para avaliar a qualidade fisiológica das sementes, sempre na busca de tecnologias capazes de, em menor tempo, obter o mesmo ou melhores resultados dos alvos de pesquisa, que as obtidas por metodologias convencionais. O objetivo neste trabalho foi avaliar a capacidade da tecnologia (NIRS) para detectar a qualidade fisiológica das sementes de soja, que foram submetidas a seis níveis de deterioração, característica que foi também estudada por métodos convencionais de vigor. Quando as sementes foram submetidas às leituras por meio do NIRS, colocaram-se com o cotilédono focado para a fonte de onda eletromagnética. Posteriormente os espectros obtidos foram tratados e analisados pelo software PIROUETTE. No estudo mediante a testes convencionais de vigor, conseguiu-se detectar eficientemente os níveis de vigor entre as amostras. Quando foi utilizada a tecnologia NIRS para estudar separadamente, não foi eficiente na classificação das amostras, mas quando foi agrupado os de alto vigor e de baixo vigor, obteve melhoria na classificação. Fato que permite concluir que a metodologia NIRS, não foi eficiente para avaliar a qualidade fisiológica das amostras de sementes de soja individualmente, e quando agrupados de acordo aos níveis de vigor obtidos pelo estudo de médias, conseguiu uma melhor classificação, mesmo assim não foi eficiente para discriminar acertadamente as categorias.

**Palavras-chave:** NIRS. Soja. Vigor. Sementes.

## ABSTRACT

Soybean is one of the most important oilseeds in the world, in Brazil it stands out as the first successful agribusiness, it is used mainly as food processed for animals, food derivatives for human consumption and in recent years has been a priority of biofuel technology, its production is completely dependent on seeds, aiming at obtaining high quality seeds that benefit and generate income in all subsequent stages, which have required large investments in the sector, pointing to the development of new cultivars, mainly Genetically Modified Organisms (GMOs) and also traditional. Several methodologies have been developed over time and routinely used to evaluate the physiological quality of the seeds, always in the search for technologies capable of obtaining the same or better results of the search goals in a shorter time than those obtained by conventional methodologies. The objective of this study was to evaluate the ability of the technology (NIRS) to detect the physiological quality of soybean seeds, which were submitted to six levels of deterioration, which was also studied by conventional methods of vigor. When the seeds were submitted to the readings through the NIRS, they were placed with the cotyledon focused to the electromagnetic wave source. Subsequently the obtained spectra were processed and analyzed by the software PIROUETTE. In the study by means of conventional tests of vigor it was possible to detect efficiently the levels of vigor among the samples. When NIRS technology was used to study separately, it was not efficient in the classification of the samples, but when it was grouped the ones of high vigor and of low vigor, it obtained improvement in the classification. This fact allows to conclude that the NIRS methodology was not efficient to evaluate the physiological quality of the individual soybean seed samples, and when grouped according to the levels of vigor obtained by the means study, it obtained a better classification, even though it was not efficient to discriminate the categories correctly.

**Keywords:** NIRS. Soybean. Vigor. Seeds.

## 1 INTRODUÇÃO

A cultura de soja (*Glicine max* (L.) Merrill.) é uma das maiores a nível global e coloca-se no primeiro item da importância no agronegócio brasileiro. O desenvolvimento da cultura da soja é completamente dependente de sementes para sua produção. E a obtenção de sementes de alta qualidade tem sido um alvo de constante interesse das empresas produtoras, Universidades e Centros de Pesquisas, para atender as principais exigências nesta área. A qualidade fisiológica é um dos atributos mais importantes de uma semente, por isso estudar o vigor é de grande valia, já que permite analisar a capacidade da semente para se desenvolver nas mais diversas condições edafoclimáticas.

Processos visando melhorar a qualidade das sementes e também outras características agronômicas, têm sido e continua a ser um dos principais objetivos dos programas de pesquisa da soja, incluindo os de melhoramento. A avaliação da qualidade para vários componentes de sementes é muitas vezes difícil e onerosa. (LEE; SHANNON; CHOUNG, 2011). Os testes convencionais de vigor como: Primeira Contagem de Germinação (PCG), Teste de Germinação (CFG), Teste de Tetrázólio (TZ), Índice de Velocidade de Emergência (IVE), Emergência em Campo (EC), Condutividade Elétrica (CE), além de outros utilizados em inúmeras pesquisas, tem contribuído grandemente no estudo da qualidade fisiológica de sementes de soja e outras culturas, são eficazes para classificar lotes de sementes pelo seu vigor, por outro lado são métodos demorados, destrutivos e que requerem de pessoal treinado para conseguir resultados satisfatórios de acordo com os objetivos dos testes. Embora os testes convencionais continuem fornecendo importantes informações na pesquisa, tecnologia de produção de sementes, órgãos nacionais e internacionais de análise de sementes, hoje em dia existe uma forte demanda para desenvolvimento e adaptação de novas metodologias baseadas em tecnologias de última geração.

A utilização do NIRS e softwares de gestão dessa informação para estudar a qualidade de sementes, têm sido utilizados por muitos pesquisadores e em várias culturas, a principal tendência por esta tecnologia é a sua facilidade na preparação das amostras, pouco treinamento do operário, rapidez na obtenção de dados e baixos custos de operação e com sua capacidade de preservar a amostra intacta, permitindo logo utilizar para outros objetivos de estudo (JIA et al., 2016). A espectroscopia de refletância de infravermelho próximo (NIRS) pode constituir uma ferramenta adequada e eficiente para fornecer valiosas informações. NIRS baseia-se na absorção de energia vibracional por várias ligações, tais como C-H, C-C,

C- N e O-H. Na faixa espectral do infravermelho próximo (700-2500 nm). A composição mineral de uma matriz orgânica pode ser estimada por NIRS devido a associação entre minerais e grupos funcionais orgânicos ou a própria matriz orgânica.

O objetivo neste estudo foi avaliar a capacidade do NIRS para discriminar diferentes níveis de qualidade fisiológica em sementes de soja inteiras, também foram realizados testes convencionais de vigor, para relacionar em quanto a classificação obtida em função da qualidade fisiológica das amostras.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

A pesquisa foi realizada no Laboratório Central de Análise de Sementes (LCAS) do Departamento de Agricultura na Universidade Federal de Lavras - UFLA, em Lavras - Minas Gerais (MG), no período de junho a novembro de 2017. Foram conduzidos testes de vigor em condições controladas de laboratório, campo (canteiros), câmara de crescimento controlado, equipamento e acessórios para análise NIRS.

### **2.1 Sementes utilizadas**

Utilizou-se sementes de soja do cultivar OGM, SYN-IPRO, disponibilizado pelo Laboratório Central de Análise de Sementes da UFLA.

### **2.2 Caracterização dos lotes**

#### **2.2.1 Grau de umidade**

Tomando como base o lote principal 3 kg de sementes, com umidade inicial de 9,8%, determinado pelo método da estufa a  $105 \pm 3$  °C por 24 horas (BRASIL, 2009).

#### **2.2.2 Teste de germinação**

Com o propósito de avaliar a qualidade inicial do lote de semente para o estudo, foi realizado o Teste de Germinação, conduzido com quatro repetições de 50 sementes por lote, em rolos de papel-toalha umedecidos com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes o peso do papel seco, e mantido em germinador com temperatura constante de 25 °C. A contagem final ocorreu no oitavo dia após a semeadura (BRASIL, 2009). O lote de sementes apresentou 94% de germinação, valor bem acima do padrão mínimo (80%) recomendado pela Instrução Normativa 45/2013 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (MAPA, 2013).

### 2.2.3 Estratificação do lote

Para obter amostras com diferentes níveis de qualidade, as sementes foram submetidas ao estresse baseado no método de envelhecimento acelerado (KRZYZANOWSKI; FRANÇA NETO; ROBERVAL DAITON, 1999) por diferentes tempos de envelhecimento 24, 36, 48, 60, 72 horas mais a testemunha (0 horas) e temperatura constante de 42°C. Para que todas as amostras coincidissem no dia da montagem do teste planejado, Houve um intervalo de 12 horas entre as amostras, começando pelo de maior tempo, 72 h e considerando a exceção do T1 que teve 24 h, colocando-as na BOD, sequencialmente descendente. Para o caso da testemunha, tirou-as 48 horas antes da câmara fria e manteve-se 24 h a temperatura ambiente, e mais 24 h em pré-imbibição, previa a montagem dos testes segundo a RAS (BRASIL, 2009).

É de extrema importância realizar a pré-imbibição em sementes de soja com baixos teores de água, a rápida imbibição em sementes com baixo grau de umidade pode causar uma hidratação diferencial nas proteínas componentes dos tecidos, resultando em pressões e até quebras nos cotilédones (OBENDORF & HOBBS, 1970 apud PEREIRA et al., 2007), podendo causar com isso uma redução na emergência das plântulas, e conseqüentemente redução do estande no campo. Assim sendo, as sementes logo após o envelhecimento e secagem foram submetidas ao teste de umidade (TABELA 13).

Para o caso de avaliação pelo método NIRS, realizou uma uniformização do grau de umidade com a utilização de sílica gel, colocando 100 gramas de sílica gel em cada gerbox. Contendo a tela de aço inox com 240 sementes das 200 requeridas da respectiva amostra e colocadas na BOD, com temperatura de 20° C durante um período de 48 horas. A partir desse tempo a sílica gel foi trocada, e as amostras foram deixadas na BOD sob as mesmas condições por mais 24 horas, até que todas as amostras apresentassem um peso similar da testemunha. Depois, foram colocadas em sacos de papel e deixadas a temperatura ambiente por 24 horas até atingirem um equilíbrio de temperatura e umidade (TABELA 13).

Durante o processo de obtenção de lotes pelo processo de envelhecimento acelerado, cada lote de acordo ao período de deterioração alcançaram diferentes graus de umidade e para cuja determinação utilizou-se o método da estufa  $105 \pm 3^{\circ}\text{C}$  (BRASIL, 2009).



Tabela 13 - Grau de umidade dos lotes de sementes de soja

<b>Tratamentos</b>	<b>Umidade equilibrada para testes de vigor</b>	<b>Umidade para avaliação pelo NIRS</b>
T0 (0 horas)	16,85%	8,2%
T1 (24 horas)	16,47%	8,6%
T2 (36 horas)	17,22%	7,9 %
T3 (48 horas)	18,41%	7,9%
T4 (60 horas)	18,61%	7,9%
T5 (72 horas)	18,82%	7,8%

Fonte: Do autor, 2017

Para a avaliação pelo NIRS procedeu-se a uniformização do grau de umidade das amostras visando obter uma porcentagem mínima, baseado no antecedente da interferência do teor de água no espectro das sementes estudadas pelo NIR, fato que poderia ter influência em uma discriminação tendenciosa já que os lotes de sementes atingiram diferentes graus de umidade no processo de deterioração.

## **2.3 Testes fisiológicos em sementes de soja**

### **2.3.1 Teste de germinação (G) e primeira contagem (PC)**

Para cada tratamento, foram colocadas quatro repetições de 50 sementes entre três folhas de papel toalha e umedecidas com água destilada, 2,5 vezes o peso seco de papel toalha. Depois enroladas e levadas para um germinador a uma temperatura constante de 25 °C  $\pm$  2 °C. As avaliações foram realizadas aos cinco (primeira contagem) e oito dias após a montagem do teste (contagem final) (BRASIL, 2009).

### **2.3.2 Teste de condutividade elétrica**

Quatro repetições de 50 sementes de cada lote foram usadas. As sementes foram pesadas e acondicionadas em copos descartáveis com 75 ml de água deionizada, os copos foram trasladados mantidos em BOD a uma temperatura de 25 °C por um período de 24 horas. Em seguida foi realizada uma homogeneização leve das amostras e as leituras da condutividade elétrica foram realizadas utilizando um condutivímetro e os resultados expressos em  $\mu\text{S cm g}^{-1}$  de sementes (KRZYZANOWSKI; FRANÇA NETO; ROBERVAL DAITON, 1999).

### **2.3.3 Teste de Tetrazólio**

Realizado com quatro repetições de 50 sementes por tratamento, que foram submetidas a imbibição no rolo de papel Germitest por 16 h e em uma BOD regulada a 25 °C. Após esse período, as sementes foram transferidas para copos de plástico, imersos em solução de tetrazólio na concentração de 0,075% e colocados na câmara BOD a 40 °C por 180 minutos. Depois, as sementes foram analisadas quanto aos níveis de vigor (classe TZ 1-3), viabilidade (classe TZ 1-5). Os resultados foram expressos em porcentagem (KRZYZANOWSKI; FRANÇA NETO; ROBERVAL DAITON, 1999).

### **2.3.4 Emergência de campo**

Foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes de cada tratamento, cada repetição foi semeada a uma profundidade de aproximadamente 2,0 cm, dispostas em 5 linhas de 0,5 m, colocadas 10 sementes por fileira, realizado em canteiro. Irrigações de manutenção foram feitas durante o teste, a contagem de plântulas ocorreu no 15º dia após a semeadura. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

### **2.3.5 Índice de velocidade de emergência (IVE)**

Foi realizado junto com o teste de emergência em campo, computou-se o número de plântulas emergidas diariamente e para sua análise utilizou-se a equação sugerida por

(MAGUIRE, 1962). Foi necessária a transformação dos resultados do IVE para adequação em porcentagem pela fórmula:

$$IVE \text{ Transformado} = \frac{X}{15} \times 100$$

Onde:

X= Valor original do IVE

15= Número máximo de dias para obter o IVE

100= Fator de conversão para porcentagem

O IVE transformado foi tomado de Bento (2017).

### 2.3.6 Espectroscopia do infravermelho próximo (NIR)

Na avaliação por meio da Espectroscopia do Infravermelho Próximo (NIRS) estudou-se a semente inteira colocando-as diretamente no feixe de luz, em um equipamento marca *Bruker*, os espectros foram obtidos na região espectral de 10.000 a 4.000  $\text{cm}^{-1}$ , com o auxílio de uma esfera de integração. 200 sementes de soja de cada amostra foram avaliadas. Segundo Macho e Larrechí (2002), citado por Li et al. (2017), mediante a refletância é possível capturar os espectros vibracionais das ligações C-H, N-H, O-H e S-H, na faixa espectral de 4000 a 10 000  $\text{cm}^{-1}$ . As leituras foram feitas com uma resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e com 64 repetições por semente. Posteriormente, os dados foram analisados pelo método de regressão multivariada PLS-DA com o auxílio do software PIROUETTE.

Em uma pesquisa com sementes de soja, os autores relataram que os espectros foram coletados separadamente das sementes viáveis e não viáveis na faixa de comprimento de onda entre 4000 a 10 000  $\text{cm}^{-1}$  (1000-2500nm) a intervalos de 4  $\text{cm}^{-1}$ . A média de 32 varreduras sucessivas de cada semente foi obtida. Os espectros médios foram usados para a análise (KUSUMANINGRUM et al., 2017).

Em outra pesquisa desenvolvida com sementes de girassol e soja, foram fixadas em um local liso e digitalizadas diretamente em um modo de refletância difusa por um acessório de porta de fibra inteligente NIR. Os espectros foram medidos na faixa de 10.000 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  com uma resolução de 8  $\text{cm}^{-1}$ . Foi configurado para serem 32 varreduras para cada espectro (FU et al., 2017)

### **2.3.7 Delineamento estatístico**

Foi empregado um delineamento inteiramente casualizado (DIC), com um esquema simples de seis tratamentos compostos por (T1, T2, T3, T4, T5 e uma testemunha T0), com quatro repetições utilizando 50 sementes por repetição, 200 sementes por lote de sementes de soja. Realizou-se análise de variância dos dados à significância de 5% de probabilidade pelo teste F, utilizando-se o software estatístico Versão livre RStudio. As diferenças significativas foram discriminadas, pelo teste de Scott-Knott, ao 5% de probabilidade.

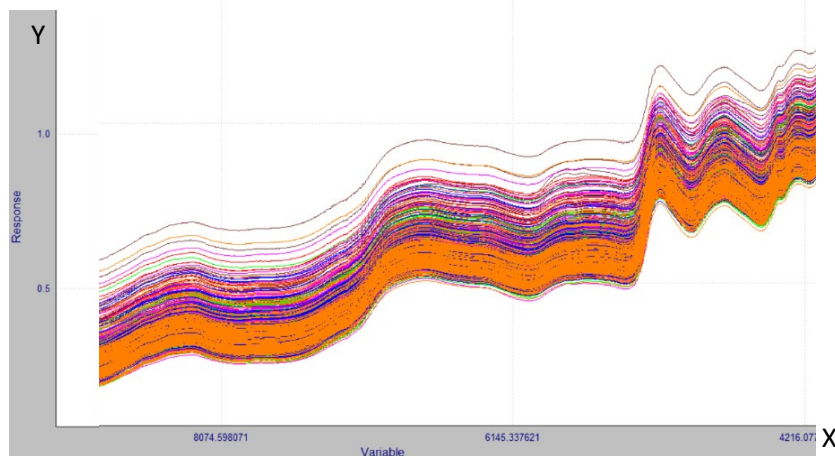
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### 3.1 Testes fisiológicos

Na execução de testes convencionais de vigor para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de soja, observaram-se notáveis diferenças de vigor entre os lotes (TABELA 14). Os estudos basearam-se nos resultados dos testes fisiológicos: Germinação (G), Primeira Contagem de Germinação (PC), Índice de Velocidade de Emergência (IVE) e Emergência em campo (EC), já para os testes bioquímicos: Teste de Tetrazólio (TZ) e Condutividade Elétrica (CE).

Na execução de análise por meio do NIRS, os seis lotes de sementes de soja apresentaram uma distribuição semelhante quanto a seus espectros NIR (FIGURA 8), os dados obtidos foram tratados no software PIROUETTE pelo método PLS-DA para fazer a estimativa de acordo com resultados dos testes convencionais de vigor.

Figura 8 - Espectros de seis amostras de sementes de soja submetidas ao infravermelho próximo (Y) concentrações orgânicas; (X) comprimentos de ondas.



Fonte: Do autor, 2017

Observando a distribuição dos espectros, pode-se inferir que possivelmente por se tratar de uma mesma cultivar, não tenha apresentado muita discrepância na distribuição das bandas. Por outro lado, começou a purificar a região espectral no início e no final dos espectros NIR (FIGURA 8), para eliminar os ruídos gerados durante o processo de leitura das amostras, em seguida, ocorreu a classificação das seis amostras de sementes de soja pelo método PLS-DA, utilizando os dados obtidos pelo infravermelho próximo.

Feito a análise, observou-se que somente a amostra T0 acertou com 75 (50%) de 150 sementes, uma como sementes do lote T5 e 74 (49%) classificou como diferente a todos os lotes, quanto à qualidade fisiológica das sementes. Assim para os demais lotes não apresentou eficiência na classificação, T1 (0 e 135), T2 (0 e 146), T3 (0 e 140), T4 (0 e 144), T5 (19 e 131), referido a sementes classificadas/não classificadas, as restantes de 150 sementes foram classificadas como pertencentes às demais amostras quanto a sua qualidade fisiológica (TABELA 14).

Tabela 14 - Sementes de soja em estudo, classificadas por meio do modelo PLS-DA com base na qualidade fisiológica.

	<b>Classificação</b>						<b>Não classificadas/ Total</b>	
	T0	T1	T2	T3	T4	T5		
<b>LOTES</b>	T0	75	0	0	0	0	1	74/150
	T1	16	0	0	0	0	0	135/150
	T2	3	0	0	0	0	1	144/150
	T3	2	0	0	0	0	8	140/150
	T4	4	0	0	0	0	2	144/150
	T5	0	0	0	0	0	19	132/150

Fonte: Do autor, 2017

Analisando o modelo de predição pode se inferir que possivelmente teve a influência por ter utilizado sementes da mesma cultivar, assim como também provavelmente os lotes mantiveram uma composição semelhante, embora os períodos de deterioração foram distintos como exibidos pelos testes convencionais de vigor aplicados neste estudo. Também se pode estimar que pelo fato de ter utilizado sementes inteiras isso tenha influenciado na obtenção de dados bem próximos entre amostras. Assim como por se tratar da mesma cultivar, provavelmente a configuração das sementes não mudaram consideravelmente durante o processo de deterioração, evitando assim uma melhor predição. (TABELA 15)

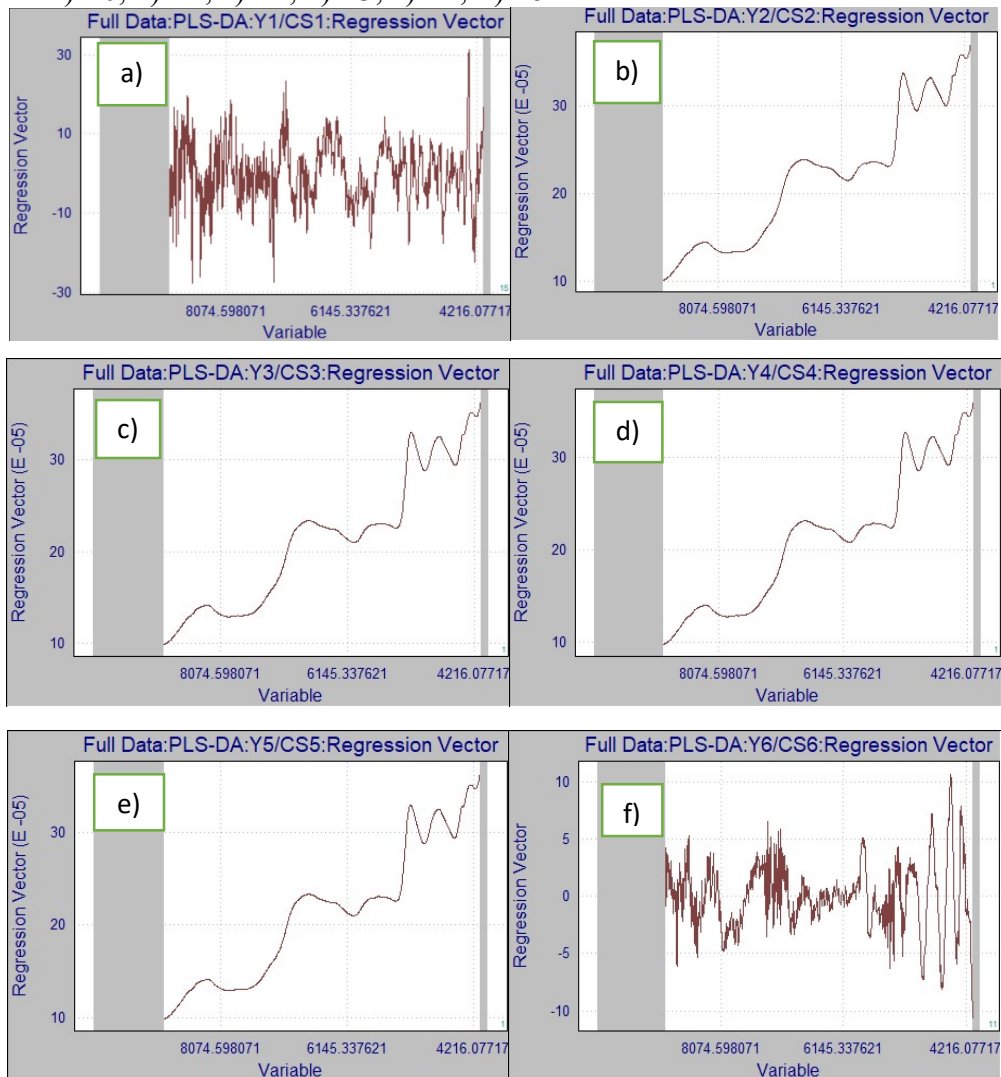
Tabela 15 - Sementes de soja em estudo, classificadas através da validação do modelo PLS-DA referente à sua qualidade fisiológica.

		Classificação					T5	Não classificadas/Total
		T0	T1	T2	T3	T4		
LOTES	T0	26	0	0	0	0	1	23/50
	T1	0	0	0	0	0	5	45/50
	T2	0	0	0	0	0	1	49/50
	T3	0	0	0	0	0	10	40/50
	T4	0	0	0	0	0	12	38/50
	T5	0	0	0	0	0	22	28/50

Fonte: Do autor, 2017

Aplicando a validação do modelo mediante PLS-DA observou-se a mesma tendência na classificação de seis amostras referente à qualidade fisiológica de sementes de soja utilizadas neste estudo. A tentativa de validação do modelo com a metodologia de reservar os espectros de uma quantidade conhecida de sementes (50 sementes) deu como resultado a mesma tendência dos resultados expressos no modelo, onde T0 classificou corretamente com 26 sementes, 23 classificaram como desconhecidas e 1 semente colocou como T5. O T0 apresentou alto vigor em todos os testes convencionais mas quando aplicado a espectroscopia NIR apresentou baixa eficiência, mas conseguiu classificar as diferenças quanto a qualidade fisiológica de sementes para o lote T0 (51%) e T5 (19%). Já para os demais lotes, não foi capaz de detectar no absoluto, seguindo o mesmo esquema de interpretação do lote T0 e T5 (TABELA 15). Também se pode observar que os comprimentos de onda para detectar cada lote, não forneceu a clareza necessária (FIGURA 9), as (FIGURAS 9: b, c, d, e) apresentaram comprimentos de ondas semelhantes pelo que se estima que não foi possível classificar quando aplicado a PLS-DA. Em contrapartida, as figuras 9 a) e 10 f) diferem das demais, mesmo não sendo similar entre elas. O que possivelmente tenha marcado a classificação para os dois lotes, mesmo assim, não apresentam uma característica predominante no espectro que se possa aferir com certeza o tipo de ligação que marcou a diferencia nestes lotes.

Figura 9 - Comprimentos de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) referentes aos lotes de sementes de milho estudados, a) T0, b) T1, c) T2, d) T3, e) T4, f) T5.



Fonte: Do autor, 2017

Os diferentes níveis de qualidade fisiológica obtidos pelos testes de vigor; PCG, TZ, EC, IVE e CE diferenciaram efetivamente os lotes em várias categorias (TABELA 16), destacando o tratamento T0 com vigor superior em todos os testes, mas quando aplicado o teste de PCG discriminou os demais tratamentos, embora o T1 também apresentou um alto vigor e foi confirmado quando utilizado os testes de TZ, IVE, EC e CE, onde apresentou alto vigor, compartilhando o mesmo nível, então pode-se aferir que são iguais entre si pelo teste de Skott-Knott ao 5% de significância.



Tabela 16 - Resultados da avaliação da qualidade fisiológica dos lotes, com os estudos de das medias de germinação (G), primeira contagem de germinação (PC), Teste de Tetrazólio (TZ), emergência de plântulas em campo (EC), Índice de velocidade de emergência (IVE) e Condutividade Elétrica (CE), de sementes de soja. Lavras, MG, 2017.

TRATAMENTOS	GERMINAÇÃO		TZ%	EC%	IVE %	CE ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )
	PC%	G%				
<b>T0 (0 h)</b>	91a	94,5a	84,5a	92a	68,20a	69,63a
<b>T1 (24 h)</b>	81b	93,5a	81a	89,5a	67,07 a	98,02b
<b>T2 (36 h)</b>	75b	79b	59,5 b	76b	55,00b	126,41c
<b>T3 (48 h)</b>	71,5 b	74,5b	47,5 b	70b	50,07c	155,42 d
<b>T4 (60 h)</b>	43,5c	53,5c	47b	55c	38,40d	182,12e
<b>T5 (72h)</b>	28d	41,5d	46 b	51c	34,87d	240,94f
<b>CV%</b>	12,32	6,17	13,41	11.24	11,84	11,91

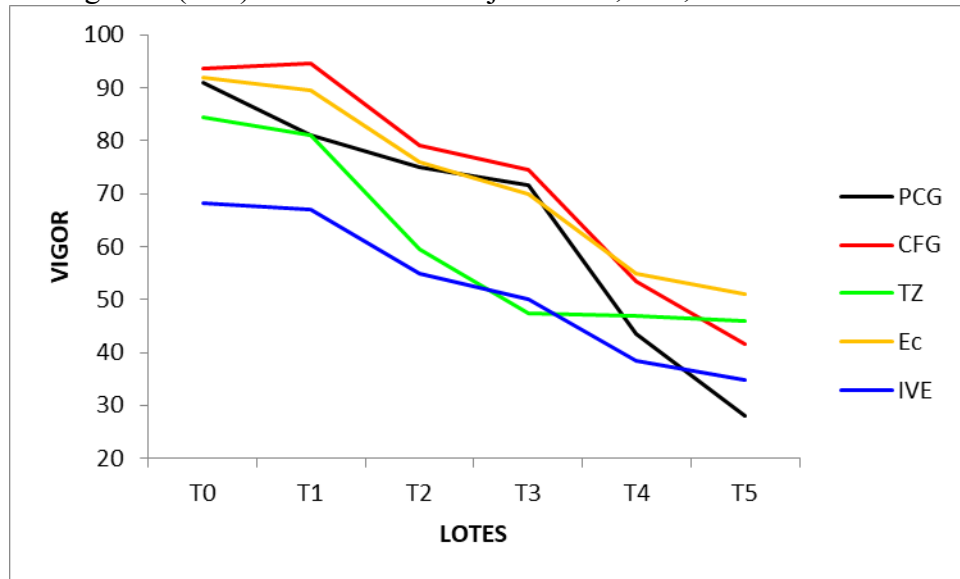
\*Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, no nível de 5% de significância pelo teste de Scott-Knott.

Fonte: Do autor, 2017

Quando comparado com os lotes T2, T3, T4 e T5 que são os menos vigorosos em todos os testes, embora apresentassem vários níveis dependendo do teste, foram de baixa estimação.

Quando observou-se a viabilidade pelo teste de germinação a partir do T2 a T5 o porcentagem de germinação caiu drasticamente do padrão permitido (80%) para comercialização (MAPA, 2013). Assim como, também existe um importante relato que quando é utilizado o teste de emergência de plântulas em campo, esse costuma ser considerado um teste de referência. Para que qualquer teste de vigor possa ser considerado eficiente na área de análise de sementes, precisa apresentar boa correlação com a emergência das plântulas em campo, tendo em vista que é nesse local, onde as condições climáticas são variadas; que o sucesso no estabelecimento inicial das plantas e, conseqüentemente, na implantação do campo de produção será analisado (COIMBRA et al., 2009; SILVA; MARTINS, 2009; VASCONCELOS et al., 2012 apud MARTINS et al., 2016).

Figura 10- Resultados da avaliação da (QF) dos lotes, com os estudos das medias de germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), Teste de tetrazólio (TZ), emergência de plântulas em campo (EC) e Índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de soja. Lavras, MG, 2017.



Fonte: Do autor, 2017

De acordo com Egli e Rucker (2012), citado por Dias et al. (2015), os lotes de sementes com a mesma germinação padrão e com uma faixa em níveis de vigor, poderá produzir igual emergência, mesmo em condições de campo ideais. Mas os lotes de alto vigor terão uma vantagem quando as condições forem inferiores ao ideal. Por outro lado, o teste de germinação não é capaz de fornecer dados relacionados ao vigor das sementes.

Com base na viabilidade de sementes de soja por germinação, realizou-se a PLS-DA dos espectros obtidos do NIRS para prever a classificação dos lotes quanto a sua qualidade fisiológica, gerando assim o modelo de classificação (TABELA 17).

Tabela 17 - Sementes de soja classificadas através do modelo PLS-DA com base no teste de Germinação.

LOTES	Classificação				Não classificadas/ Total
	T0, T1	T2, T3	T4	T5	
T0	194	14	0	1	91/300
T1	46	64	0	7	183/300
T2	11	21	0	15	103/150
T3	4	6	0	38	102/150

Fonte: Do autor, 2017

Quando se considerou o teste de médias da porcentagem de germinação e foi utilizada para criar modelo e fazer a predição com 150 sementes por amostras, a metodologia NIRS classificou com boa precisão os lotes (T0 e T1) com 194 (65%) sementes acertadas, 91 classificou como distintas às categorias envolvidas nesta avaliação e 14 sementes colocou como sendo dos lotes (T2 e T3) e uma no lote 5 de um total de 300 sementes. Já para avaliação dos lotes (T2 e T3) apresentou baixa eficiência na classificação com 64 (21%) acertos, 183 não classificadas, 46 colocou no grupo (T0 e T1) mais 7 no lote T5, também de 300 sementes, para T4 não acertou nenhuma, 103 não classificou, 11 agrupou no grupo (T0 e T1), 21 colocou no grupo (T2 e T3) mais 15 jogou no lote T5 de 150 sementes, enquanto a classificação para o lote T5 acertou 38 (25%), não classificou 102, agrupou 4 no grupo (T0 e T1) e 6 no grupo (T2 e T3) de 150 sementes avaliadas

Fazendo a relação com os resultados do Teste de Germinação, tem uma interpretação acertada, já que estatisticamente os lotes T0 e T1 quanto T2 e T3 são iguais em dois níveis de qualidade fisiológica, assim como os lotes T4 e T5 apresentaram inferioridade em níveis diferentes enquanto à viabilidade avaliada pelo teste de germinação, pelo contrário o NIRS não ofereceu clareza na classificação.

Tabela 18 - Sementes de soja em estudo, classificadas por meio da validação do modelo PLS-DA, com base no Teste de Germinação.

		Classificação				Não classificadas/ Total
		T0, T1	T2, T3	T4	T5	
<b>LOTES</b>	T0 T1	72	3	0	3	24/100
	T2 T3	15	6	0	10	72/100
	T4	3	2	0	15	32/50
	T5	0	1	0	31	19/50

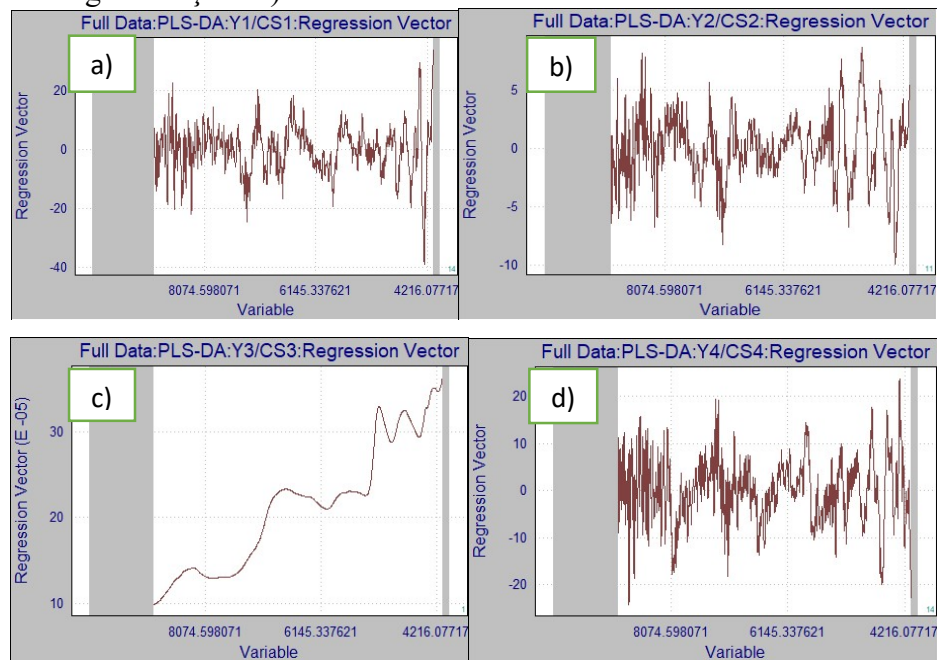
Fonte: Do autor, 2017

Feito a validação do modelo, a tendência de classificação é a mesma com as particularidades de quantidade, já que para a validação utilizou-se 50 sementes na classificação dos lotes de sementes de soja referente a sua viabilidade pelo teste de germinação.

Na figura 11 estão apresentados os comprimentos de onda que determinaram a classificação entre os grupos, a figura 11 a); b); d) apresentam similaridade porem não

apresentam uma tendência particular que diferencie com clareza os lotes, na Figura 11 c), embora seja diferente não apresentou um comprimento de onda chave para determinar sua classificação.

Figura 11 - Comprimentos de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) referente ao teste de germinação, a) alta germinação; b, d) baixa germinação e c) não classificado.



Fonte: Do autor, 2017

O Teste de Primeira Contagem de Germinação é considerado um teste de vigor já que fornece uma rápida percepção da qualidade do lote, baseado na força de arranque da germinação das sementes, então se pode observar que quando os lotes foram submetidos a esse teste, apenas o T0 mostrou-se como mais vigoroso (91%), seguido pelo T1 que também apresenta alto vigor (81%) embora não fossem estatisticamente similares, como foi o caso de T2 (75%) e T3 (71,5%), mas fazendo um balanço geral baseado nos outros testes apresentam inferioridade assim como T4 e T5. O teste de PC mostrou eficiência quando foi utilizado para diferenciar qualidade fisiológica de sementes de 8 cultivares de soja e 3 fases de colheita (DINIZ et al., 2013).

Entre outros testes, este também foi eficiente para avaliar a qualidade de sementes e auxiliar na seleção de progênies avançadas de soja (MARTINS et al., 2016). Em outro estudo desenvolvido para avaliar qualidade de sementes de soja durante a colheita, beneficiamento e armazenamento, o teste de primeira contagem foi utilizado para discriminar níveis de vigor por injúrias nas sementes (NEVES et al., 2016).

Tomando como base o teste de primeira contagem de germinação, realizou-se a criação do modelo por meio da PLS-DA utilizando os espectros NIRS e prever a classificação dos lotes quanto a sua qualidade fisiológica (TABELA 19).

Tabela 19 - Sementes de soja em estudo, classificadas por meio do modelo PLS-DA com base no teste de Primeira Contagem de Germinação.

	Classificação				Não classificadas/ Total	
	T0	T1, T2, T3	T4	T5		
LOTES	T0	58	59	1	0	32/150
	T1					
	T2	10	277	0	8	155/450
	T3					
	T4	3	61	0	14	72/150
	T5	0	35	0	36	79/150

Fonte: Do autor, 2017

Como pode-se observar as predições para T0 acertou com 58 (39%) sementes, 32 não classificou e 59 agrupou como sendo das amostras T1, T2, T3 e uma do lote T4 de 150 sementes avaliadas, para o caso de grupo T1, T2, T3 teve um acerto de 277 (62%) sementes, 155 não classificou, também detectou 10 como T0, 3 como T4 e 8 como T5 de 450 sementes avaliadas, já para a predição de T4 não acertou nenhuma não classificou 72 jogou 3 no lote T0, agrupou 61 como T1, T2, T3 como T4 e 14 como T5 de 150 sementes enquanto para T5 acertou 36 (24%) não classificou 79 e jogou 35 no grupo T1, T2, T3, enquanto aos acertos fazendo relação com o estudo das medias, apresenta uma tendência similar mas não é conclusiva na hora de determinar a classificação das amostras de sementes de soja.

Tabela 20 - Sementes de soja em estudo, classificadas por meio da validação do modelo PLS-DA com base no Teste de Primeira contagem de Germinação.

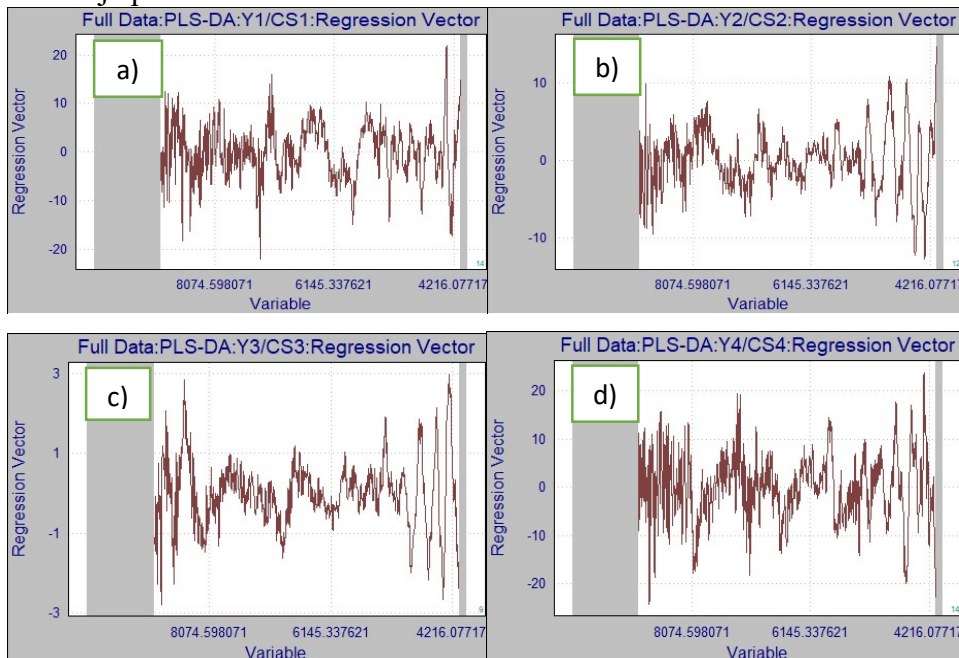
	Classificação				Não classificadas/ Total	
	T0	T1, T2, T3	T4	T5		
LOTES	T0	23	9	0	3	15/50
	T1					
	T2	2	54	0	12	82/150
	T3					
	T4	0	15	0	14	21/50
	T5	0	2	0	30	18/50

Fonte: Do autor, 2017

Feito a validação do modelo à tendência de classificação, o mesmo é realizado com as particularidades de quantidade. Posto que, para a validação do modelo foram utilizadas 50 sementes na classificação dos lotes de sementes de soja, referente ao seu vigor pelo teste de primeira contagem de germinação.

Na figura 12, estão apresentados os comprimentos de onda que determina a classificação entre os grupos, em todas as figuras mostram similaridade tornando-as inapreciáveis qualquer diferença, o que foi impossível classificar eficientemente e mais complicado ainda para determinar uma ligação química que expresse sua classificação.

Figura 12 - Comprimentos de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) referente as qualidades fisiológicas de sementes de soja pelo teste de PC.



Fonte: Do autor, 2017

Quando aplicado o teste de tetrazólio (TZ 1-3) o T0 (84,5%) e T1 (81%) são os mais vigorosos, os demais tratamentos revelaram baixo vigor e compartilham os mesmos níveis estatisticamente, o que permite claramente observar o estado dos lotes em estudo.

Esse teste tem sido muito utilizado para estudar a qualidade fisiológica e produtividade de sementes de soja (SCHEEREN et al., 2010), tanto para estimar vigor quanto viabilidade, assim como para a qualidade de sementes de soja por dano mecânico, processamento e armazenamento (NEVES et al., 2016), esse teste mostrou-se como um teste eficiente no estudo de sementes de soja.

Tomando como base o teste de Tetrazólio criou-se o modelo por meio da PLS-DA utilizando os dados espectrais e predizer a classificação dos lotes quanto a sua qualidade fisiológica (TABELA 21).

Tabela 21 - Sementes de soja em estudo, classificadas por meio do modelo PLS-DA com base no teste de tetrazólio.

		Classificação		Não classificadas/ Total
		T0, T1	T2, T3, T4, T5	
<b>LOTES</b>	T0	194	104	2/300
	T1			
	T2	66	527	1/600
	T3			
	T4			
T5				

Fonte: Do autor, 2017

Neste caso revelou que 194 (65%) de 300 sementes são de alto vigor, não classificou 2 e 104 agrupou como pertencentes ao segundo grupo, quando comparado com o teste convencional apresenta bom nível de acerto mas errou consideravelmente com o segundo lote de menor vigor, por outro lado na classificação do segundo lote de menor vigor utilizando os dados de 600 sementes provenientes do agrupamento de lotes tornou-se mais eficiente com 527 (88%) acertos, classificou 66 para o primeiro grupo e não classificou uma semente.

Essa dinâmica apresentada na classificação individual com alta incerteza e quando agrupado entre lotes de similar qualidade, torna-se mais eficiente pode ser devido às características semelhantes dos lotes por se tratar da mesma cultivar.

Tabela 22 - Sementes de soja em estudo, classificadas por meio da validação do modelo PLS-DA, com base no Teste de Tetrazólio.

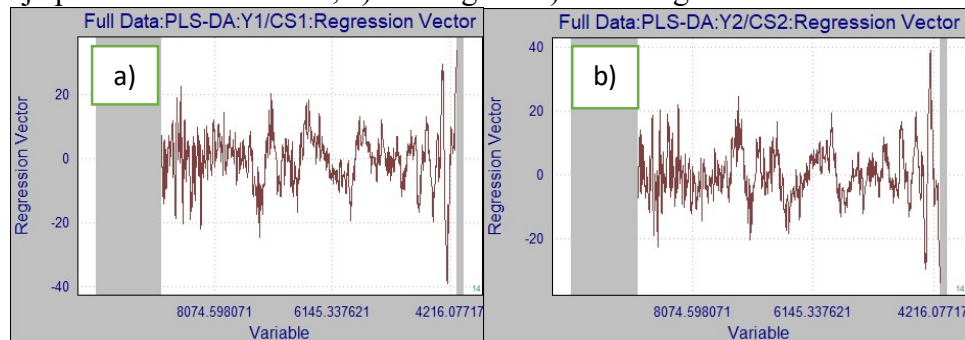
		Classificação		Não classificadas/ Total
		T0, T1	T2, T3, T4, T5	
<b>LOTES</b>	T0	75	23	2/100
	T1			
	T2	15	183	2/200
	T3			
	T4			
T5				

Fonte: Do autor, 2017

Feito a validação do modelo, a tendência de classificação é a mesma com as particularidades de quantidade, já que para a validação do modelo utilizou-se 50 sementes na classificação dos lotes de sementes de soja referente ao seu vigor pelo teste de tetrazólio.

Na figura 13, estão apresentados os comprimentos de onda que determina a classificação entre os dois grupos, ambas as figuras expressam similaridade, com variâncias próprias para cada grupo que provavelmente ajudaram na separação dos lotes, mas especificamente não mostram uma tendência chave para determinar uma ligação química que afirme sua classificação.

Figura 13 - Comprimentos de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) referente à qualidade fisiológica de sementes de soja por teste de tetrazólio, a) alto vigor e b) baixo vigor.



Fonte: Do autor, 2017

O teste de emergência em campo revelou que os lotes mais vigorosos correspondem T0 (92%) e T1 (89,5%) e em contraste com o IVE o T0 (68,2%) e T1 (67,07%) que é executado utilizando o mesmo teste, os dois tratamentos são contundentes quando comparados entre os testes de G, TZ, EC e IVE compartilham a mesma categoria e T0 e T1 são superiores em todos os testes.

Considerando as médias do teste de Emergência em Campo e utilizadas os dados espectrais de 150 sementes por lote para criar o modelo de predição com a PLS-DA e classificar quanto a sua qualidade fisiológica (TABELA 23).



Tabela 23 - Sementes de soja em estudo, classificadas por meio do modelo PLS-DA com base no teste de emergência em campo.

		Classificação			Não classificadas/ Total
		T0, T1	T2, T3	T4, T5	
LOTES	T0 T1	246	0	7	47/300
	T2 T3	70	94	24	112/300
	T4 T5	60	32	114	94/300

Fonte: Do autor, 2017

Como pode-se observar as predições para T0,T1 acertou com 246 (82%) sementes, 47 não classificou e 7 agrupou como sendo dos lotes T4, T5 de 300 sementes avaliadas, para o caso de grupo T2, T3 teve um acerto de 94 (31%) sementes, 112 não classificou, também detectou 70 como T0,T1 e 24 como T4,T5 de 300 sementes avaliadas, já para a predição de T4,T5 acertou 114 (38%), não classificou 94, colocou 60 no lote T0,T1 e agrupou 32 como T2, T3 de 300 sementes, enquanto aos acertos fazendo relação com o estudo das medias, apresenta uma tendência similar mas não é conclusiva na hora de determinar a classificação dos lotes de sementes de soja.

Tabela 24 - Sementes de soja em estudo, classificadas através da validação do modelo PLS-DA, segundo o Teste de emergência em campo.

		Classificação			Não classificadas/ Total
		T0, T1	T2, T3	T4, T5	
LOTES	T0 T1	82	0	2	16/100
	T2 T3	23	31	8	38/100
	T4 T5	20	11	38	31/100

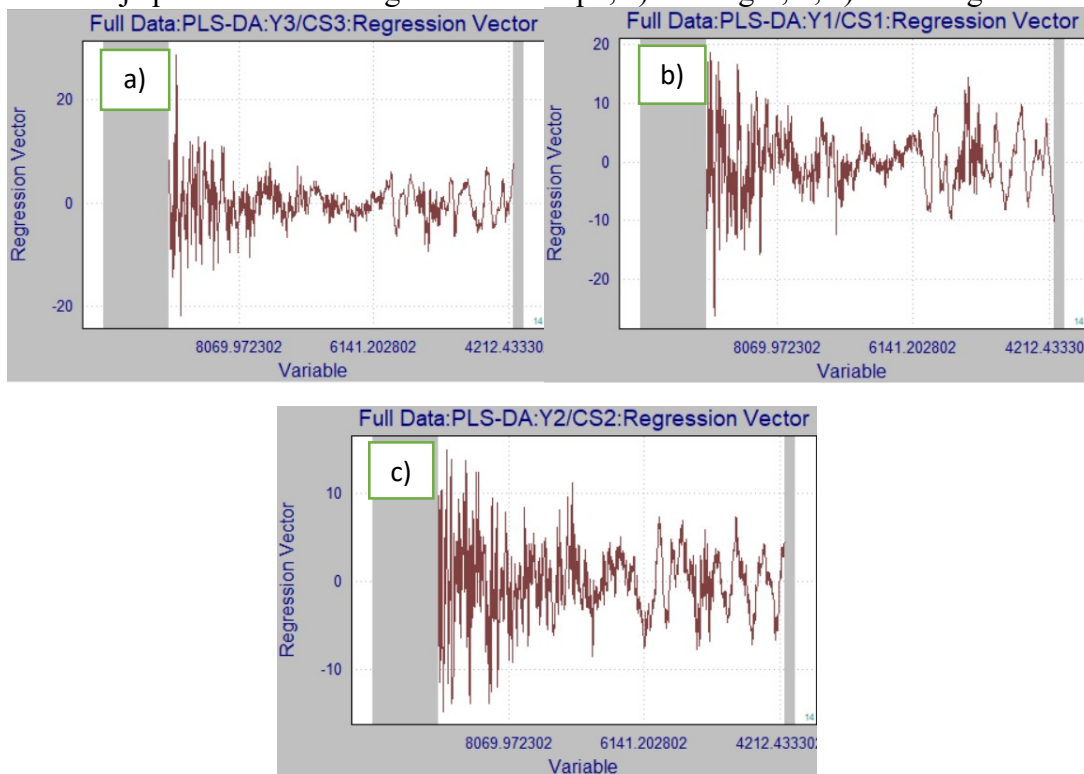
Fonte: Do autor, 2017

Feito a validação do modelo, a tendência de classificação é a mesma com as particularidades de quantidade, já que para a validação do modelo utilizou-se 50 sementes por lotes na classificação de sementes de soja referente ao seu vigor pelo teste de emergência em campo.

Na figura 14, estão apresentados os comprimentos de onda que determina a classificação entre os grupos, todas as figuras expressam similaridade, com variâncias

próprias para cada grupo que provavelmente ajudaram na separação dos lotes, mas especificamente não mostram uma tendência chave para determinar uma ligação química que afirme sua classificação.

Figura 14 - Comprimentos de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) referente às qualidades fisiológicas de sementes de soja pelo teste de emergência em campo, a) alto vigor; b, c) baixo vigor.



Fonte: Do autor, 2017

O teste de IVE e EC foi aplicado para avaliar sementes de soja condicionadas para desempenho em condições de estresse hídrico (LANGEROODI; NOORA, 2017).

Considerando as medias do teste de Índice de Velocidade de Emergência e utilizadas os dados espectrais de 150 sementes por lote para criar o modelo de predição com a PLS-DA e classificar quanto a sua qualidade fisiológica (TABELA 25).

Tabela 25 - Sementes de soja em estudo, classificadas por meio do modelo PLS-DA com base no teste de Índice de Velocidade de Emergência.

		Classificação				Não classificadas/ Total
		T0, T1	T2	T3	T4, T5	
LOTES	T0	193	0	0	14	93/300
	T1					
	T2	30	0	0	17	103/150
	T3	18	0	0	32	100/150
	T4	15	0	0	162	123/300
	T5					

Fonte: Do autor, 2017

Pode-se observar que a metodologia NIRS, classificou com boa precisão os lotes T0, T1 com 193 (64%) sementes acertadas, não classificou 93 e colocou 14 no lote T4, T5 de um total de 300 sementes. Já para avaliação dos lotes T2 e T3 não detectou nenhuma para esse grupo, classificou 103 e 100 como diferente a todos os lotes, 30 e 18 pertencentes ao grupo T0, T1 assim como 17 e 32 sementes no grupo T4, T5 de 150 sementes avaliadas, na classificação do grupo T4, T5 acertou com estimável precisão 162 sementes, não classificou 123 e jogou 15 sementes no grupo T0, T1.

Fazendo a relação com os resultados do Teste de IVE, tem uma interpretação aceitável quanto aos grupos T0, T1 de alto vigor, já que estatisticamente esses lotes são iguais compartilhando uma mesma faixa de qualidade fisiológica, assim como também os lotes e T4, T5 de baixo vigor quando avaliados pelo teste de IVE.

Tabela 26 - Sementes de soja em estudo, classificadas através da validação do modelo PLS-DA, segundo o Teste de Índice de Velocidade de Emergência.

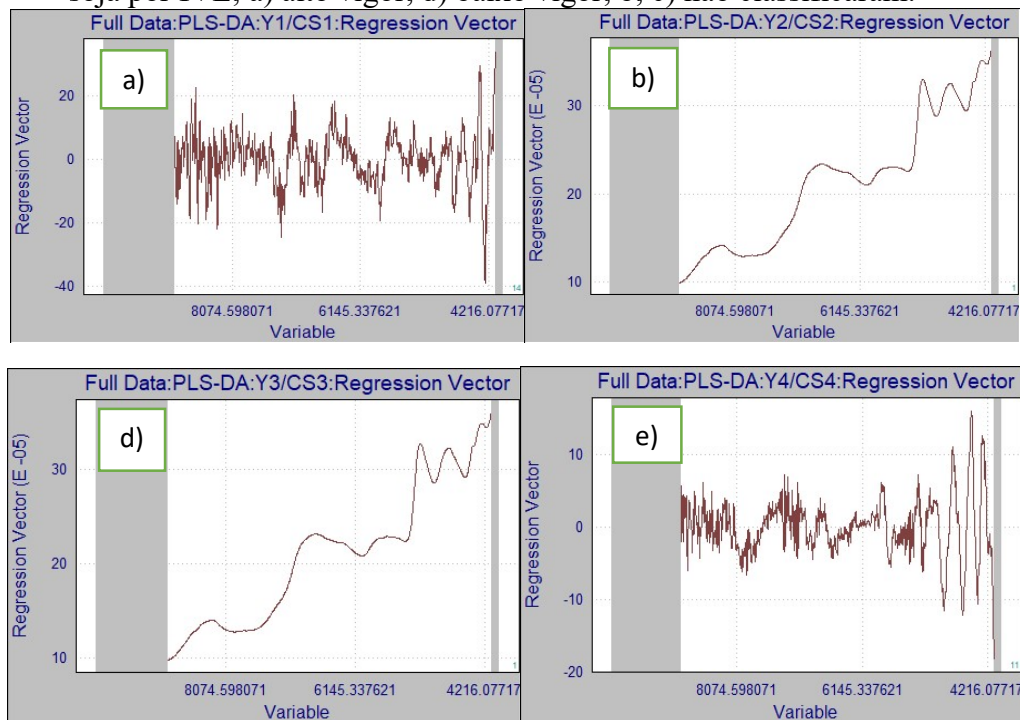
		Classificação				Não classificadas/ Total
		T0, T1	T2	T3	T4, T5	
LOTES	T0	73	0	0	7	20/100
	T1					
	T2	8	0	0	18	24/50
	T3	5	0	0	32	15/50
	T4	3	0	0	69	28/100
	T5					

Fonte: Do autor, 2017

Feito a validação do modelo, a tendência de classificação é a mesma com as particularidades de quantidade, já que para a validação do modelo utilizou-se 50 sementes na classificação dos lotes de sementes de milho referente ao seu vigor pelo teste de IVE.

Na figura 15 estão apresentados os comprimentos de onda que determinam a classificação entre os grupos, as figuras 15 a) e d) são similares, mas com várias características envolvidas que possivelmente ajudou na classificação mais acertada desses lotes. Por outro lado, as Figuras 15 b) e c) são idênticas e não mostram um comprimento de onda específico o que possivelmente provocou a distorção na classificação.

Figura 15 - Comprimentos de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) referente as qualidades fisiológicas de sementes de soja por IVE; a) alto vigor, d) baixo vigor; b, c) não classificaram.

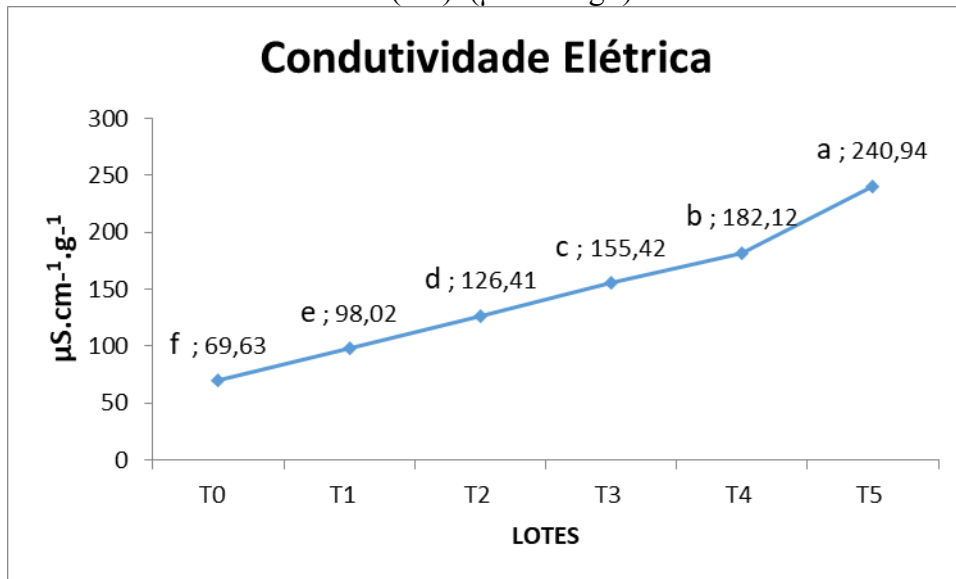


Fonte: Do autor, 2017

Neste experimento o teste de CE revelou seis níveis diferentes de vigor o T0 ( $69,63 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ) é o tratamento mais vigoroso, seguido de T1 ( $98,02 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ) Figura 17, que para sementes de soja consideram-se resultados aceitáveis. É importante lembrar que as sementes com alta qualidade fisiológica, menor condutividade elétrica ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ) elas apresentaram e vice-versa, é por isso a partir do T2 a T5 claramente expressam deterioração, porem são classificados como lotes de baixa qualidade fisiológica.

O teste de condutividade elétrica é um teste muito utilizado para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de soja em função da deterioração das membranas, mesmas que podem ter ocorrido danos físicos em qualquer etapa da sua produção assim como também causado por tratamento de sementes, insetos, microrganismos, condições e tempo de armazenamento.

Figura 16 - Resultados da avaliação da (QF) dos lotes, com os estudos de medias da Condutividade Elétrica (CE). ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )



Fonte: Do autor, 2017

Citações feitas por Krzyzanowski, França Neto e Roberval Daiton (1999), Relatam que no caso de sementes de soja, que a condutividade elétrica pode estimar, com alto grau de precisão, o desempenho das mesmas no campo, dependendo das condições climáticas predominantes por ocasião da semeadura. Podem-se determinar valores ou faixas de valores de condutividade para sementes de soja, no sentido de inferir sob que condições de campo, devem ser utilizadas com possibilidade de maior ou menor sucesso. Outro relato verificou que se pode obter alta emergência de sementes de soja no campo, com condutividade de até  $110 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ , desde que as condições de campo sejam adequadas a germinação e a emergência das mesmas. Por outro lado, sob pequenas limitações para a germinação, a condutividade não pode ser superior a  $90 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ . Contrastando assim os resultados nesta pesquisa onde os lotes T0 apresentou características ótimas de vigor e o T1 embora supera ( $98,02 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ) à faixa recomendada ( $90 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ) pelo mesmo autor, situa-se por embaixo de ( $110 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ) que é o tolerado para sementes de soja.

Já para o caso de avaliar pelo método NIRS, utilizando o modelo PLS-DA de predição com base no estudo de medias do Teste de Condutividade Elétrica, não resulta estimável, já que sua unidade de medida está expressa em ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ ) por outra parte o modelo e validação dos demais testes foi executado para estimar quantidades de sementes por amostra estudada.

## **4 CONCLUSÃO**

Quando utilizado a técnica NIRS e realizado as predições pelo modelo PLS-DA, a classificação individual dos lotes não foi eficiente, mas quando agrupada, de acordo com as categorias obtidas pelo teste de medias dos testes fisiológicos, a técnica NIRS melhorou na classificação das amostras de sementes de soja em função da qualidade fisiológica. Entretanto, não foi categoricamente apreciável.

Todos os testes convencionais de vigor foram eficientes para classificar as amostras de sementes de soja em diferentes níveis de qualidades fisiológicas, onde o teste de condutividade elétrica apresentou a maior sensibilidade.

### **4.1 Considerações finais**

Para trabalhos futuros, deveriam incluir mais de uma cultivar da espécie que se for estudar. Pois, quando for partir de uma amostra principal para realizar estratificação de amostras de uma mesma cultivar, recomenda-se utilizar mais de um método para inviabilizar pelo menos uma amostra de semente. Recomenda-se, ainda, avaliar os mesmos lotes de sementes mas com um processo de trituração (moagem).

Quanto mais específica a classificação, menos eficiente a metodologia NIRS aplicando o modelo PLS-DA, se torna. E quando agrupou-se as amostras de igual qualidade com base no estudo de medias dos testes fisiológicos, a técnica apresentou maior eficiência.

## REFERÊNCIAS

AN, D. et al. Effects of Varieties, Producing Areas, Ears, and Ear Positions of Single Maize Kernels on Near-Infrared Spectra for Identification and Traceability. **PLOS ONE**, v. 11, n. 9, p. e0161489, 6 set. 2016.

BENTO, A. M. Á. **ANÁLISE DE IMAGEM NA AVALIAÇÃO DO POTENCIAL FISIOLÓGICO DE SEMENTES DE SOJA**. [s.l: s.n.].

BRASIL. **Regras Para Análise de Sementes**. 1a. ed. Brasília, DF: 2009, 2009.

CASTAN, D. O. C. et al. Vigor-S, a new system for evaluating the physiological potential of maize seeds. **Scientia Agricola**, v. 75, n. 2, p. 167–172, abr. 2018.

CESAR AUGUSTO GASPARETTO SBRUSSII; CLAUDEMIR ZUCARELI. Germinação sob altas temperaturas para avaliação do potencial fisiológico de sementes de milho. **Ciência Rural**, v. 45, n. 10, p. 1736–1741, 2015.

CONCEIÇÃO, G. M. et al. Desempenho de plântulas e produtividade de soja submetida a diferentes tratamentos químicos nas sementes. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 6, p. 1711–1720, 2014.

DIAS, M. A. N. et al. VIGOR TESTS ASSOCIATION AS AN ALTERNATIVE FOR PRECISE AND EFFICIENT ASSESSMENT OF MAIZE SEED QUALITY. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 3, p. 93–99, set. 2015.

DINIZ, F. O. et al. Physiological quality of soybean seeds of cultivars submitted to harvesting delay and its association with seedling emergence in the field. **Journal of Seed Science**, v. 35, n. 2, p. 147–152, 2013.

DRANSKI, J. A. L. et al. Carbon dioxide quantified by the infrared in respiratory activity evaluation in corn seeds. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 3, p. 1115, 13 jun. 2017.

ESTEVE AGELET, L.; HURBURGH, C. R. Limitations and current applications of Near Infrared Spectroscopy for single seed analysis. **Talanta**, v. 121, p. 288–299, 2014.

FU, H. et al. Predicting Mildew Contamination and Shelf-Life of Sunflower Seeds and Soybeans by Fourier Transform Near-Infrared Spectroscopy and Chemometric Data Analysis. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 5, p. 1597–1608, 18 maio 2017.

GU, R. et al. The ideal harvest time for seeds of hybrid maize (*Zea mays* L.) XY335 and ZD958 produced in multiple environments. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 17537, 13 dez. 2017.

HULIANG, C.; FANGYUN, C.; LIPING, P. Determination of the Fatty Acid Composition in Tree Peony Seeds Using Near-Infrared Spectroscopy. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 93, n. 7, p. 943–952, 3 jul. 2016.

JIA, S. et al. Feasibility of analyzing frost-damaged and non-viable maize kernels based on near infrared spectroscopy and chemometrics. 2016.

KAUR, B.; SANGHA, M. K.; KAUR, G. Development of Near-Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) Calibration Model for Estimation of Oil Content in Brassica juncea and Brassica napus. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 1, p. 227–233, 18 jan. 2017.

KRZYŻANOWSKI, F.; FRANÇA NETO, J. DE B.; ROBERVAL DAITON, V. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina, PR: [s.n.].

KUSUMANINGRUM, D. et al. Nondestructive Technique for Determining the Viability of Soybean (*Glycine max*) Seeds Using FT-NIR Spectroscopy. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, n. October 2016, 2017.

L. PALIWAL, R. **EL MAÍZ EN LOS TRÓPICOS: Mejoramiento y producción**. [s.l.] FAO, 2001.

LANGEROODI, A. R. S.; NOORA, R. . SEED PRIMING IMPROVES THE GERMINATION AND FIELD PERFORMANCE OF SOYBEAN UNDER DROUGHT STRESS. 2017.

LEE, J.-D.; SHANNON, J. G.; CHOUNG, M.-G. Application of Nondestructive Measurement to Improve Soybean Quality by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. v. 3, 2011.

LI, C. et al. Determination of gossypol content in cottonseeds by near infrared spectroscopy based on Monte Carlo uninformative variable elimination and nonlinear calibration methods. **Food Chemistry**, v. 221, p. 990–996, 2017.

MAGUIRE, J. D. **Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor**. [s.l.: s.n.].

MAPA. **Instrução Normativa MAPA 45/2013** Brasil, 2013. Disponível em: <[http://www.apassul.com.br/upload/legislacao/INSTRUCAO NORMATIVA N 45 DE 17 DE SETEMBRO DE 2013.pdf](http://www.apassul.com.br/upload/legislacao/INSTRUCAO%20NORMATIVA%20N%2045%20DE%2017%20DE%20SETEMBRO%20DE%202013.pdf)>. Acesso em: 9 fev. 2018

MARTINS, C. C. et al. Metodologia para seleção de linhagens de soja visando germinação, vigor e emergência em campo1. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 47, n. 3, p. 455–461, 2016.

NEVES, J. M. G. et al. Quality of soybean seeds with high mechanical damage index after processing and storage. **Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v. 2020, n. 1111, p. 1025–1030, 2016.

OLIVEIRA, A. C. S. et al. Testes De Vigor Em Sementes Baseados No Desempenho De Plântulas. **Revista Científica Internacional**, v. 2, p. 1–21, 2009.

PAIXÃO, C. S. S. et al. Physical and physiological quality of soybean seeds at three speeds of the harvester. **Bras. Eng. Agríc. Ambiental**, v. 2121, n. 33, 2017.

PATHI, K. M. et al. An efficient and rapid regeneration via multiple shoot induction from mature seed derived embryogenic and organogenic callus of Indian maize (*Zea mays* L.).



**Plant signaling & behavior**, v. 8, n. 10, p. doi: 10.4161/psb.25891, 2013.

PEREIRA, C. E. et al. DESEMPENHO DE SEMENTES DE SOJA PELICULIZADAS EM SOLO COM DIFERENTES TEORES DE ÁGUA. **Ciência e Agrotecnologia**, n. August 2007, 2007.

PH ZAIDE ET AL. **11th Asian Maize Conference**. 11th. ed. PR China: [s.n.]. v. 1

PHUANGSOMBUT, K.; SUTTIWIJITPUKDEE, N.; TERDWONGWORAKUL, A. Nondestructive classification of mung bean seeds by single kernel near-infrared spectroscopy. 2016.

QUENTIN, A. G. et al. Application of near-infrared spectroscopy for estimation of non-structural carbohydrates in foliar samples of *Eucalyptus globulus* Labillardière. **Tree Physiology**, v. 37, p. 131–141, 2016.

QUIGLEY, K. M.; ALTHOFF, A. G.; DONATI, G. L. Inductively coupled plasma optical emission spectrometry as a reference method for silicon estimation by near infrared spectroscopy and potential application to global-scale studies of plant chemistry. 2016.

REDAELLI, R.; ALFIERI, M.; CABASSI, G. Development of a NIRS calibration for total antioxidant capacity in maize germplasm. **Talanta**, v. 154, p. 164–168, 2016.

SCHEEREN, B. R. et al. Qualidade fisiológica e produtividade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 3, p. 35–41, 2010.

TAMBURINI, E. et al. Quantitative Determination of *Fusarium proliferatum* Concentration in Intact Garlic Cloves Using Near-Infrared Spectroscopy. **Sensors**, v. 16, n. 7, p. 1099, 15 jul. 2016.

TASSI BORILLE, B. et al. Near infrared spectroscopy combined with chemometrics for growth stage classification of cannabis cultivated in a greenhouse from seized seeds. **SAA**, v. 173, p. 318–323, 2017.

VERZEGNAZZI, A. L. **Comparação dos métodos genealógicos e duplo haploides para a seleção de genótipos elites e estudo da herança genética de altura de planta e espiga em milho**. [s.l.] UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO, 2011.

VIEIRA, D. et al. Vigor de sementes de milho cv. “Sertanejo” por testes baseados no desempenho de plântulas. **Ciência Rural**, v. 45, n. 11, p. p.1910-1916, 2015.

WEE, C.-D. et al. Evaluation of seed components of wild soybean (*Glycine soja*) collected in Japan using near-infrared reflectance spectroscopy. 2017.