

#### DENILSON PAULO DA ROSA MAVAIEIE

# METODOLOGIA DE GERMINAÇÃO, MORFOLOGIA POR ANÁLISE DE IMAGEM E CARACTERIZAÇÃO DE ESPÉCIES POR ESPECTROSCOPIA NO NIR DE SEMENTES DE AMARANTHUS

#### DENILSON PAULO DA ROSA MAVAIEIE

# METODOLOGIA DE GERMINAÇÃO, MORFOLOGIA POR ANÁLISE DE IMAGEM E CARACTERIZAÇÃO DE ESPÉCIES POR ESPECTROSCOPIA NO NIR DE SEMENTES DE AMARANTHUS

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares para a obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães Orientador

Profa. Dra. Luciane Vilela Rezende Coorientadora Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Mavaieie, Denilson Paulo da Rosa.

Metodologia de germinação, morfologia por análise de imagem e caracterização de espécies por espectroscopia no NIR de sementes de Amaranthus / Denilson Paulo da Rosa Mavaieie. - 2020.

66 p.: il.

Orientador(a): Renato Mendes Guimarães. Coorientador(a): Luciane Vilela Resende. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2020.

Bibliografia.

1. Plantas alimentícias não convencional. 2. Germinação. 3. Espectroscopia no infravermelho próximo. I. Guimarães, Renato Mendes. II. Resende, Luciane Vilela. III. Título.

#### DENILSON PAULO DA ROSA MAVAIEIE

#### METODOLOGIA DE GERMINAÇÃO, MORFOLOGIA POR ANÁLISE DE IMAGEM E CARACTERIZAÇÃO DE ESPÉCIES POR ESPECTROSCOPIA NO NIR DE SEMENTES DE *AMARANTHUS*

#### METHODOLOGY OF GERMINATION, MORPHOLOGY BY IMAGE ANALYSIS AND CHARACTERIZATION OF SPECIES BY SPECTROSCOPY IN THE NIR OF AMARANTHUS SEEDS

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares para a obtenção do título de Doutor.

#### APROVADO em 19 de março de 2020.

Dr. João Almir Oliveira UFLA

Dra. Fernanda Maria Guedes Ramalho UFLA

Dr. Everson Reis Carvalho UFLA

Dra. Fernanda Pereira Soares MAPA

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães Orientador

Profa. Dra. Luciane Vilela Rezende Coorientadora

> LAVRAS - MG 2020

Aos meus pais, Ana Rosa e Paulo, pelos ensinamentos, amor, confiança e apoio.

À Valquíria, minha esposa, pelo amor, carinho, apoio e incentivo. Ao meu filho Murilo que me fortalece a cada dia enchendo de esperança a cada dia.

Aos meus irmãos, Paulo Jr, Milena, Onésimo, Dórion, e Yúrica pelo amor, amizade e confiança.

**Dedico** 

#### **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por me conduzir e acompanhar.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Agricultura (DAG), pela oportunidade.

Ao programa de pós-graduação em Agronomia/Plantas medicinais aromáticas e condimentares.

Ao professor orientador Renato Mendes Guimarães, coorientadora Luciane Vilela Resende e ao professor Wilson Magela Gonçalves pela orientação, paciência, incentivo e amizade.

Ao Coordenador do Curso José Eduardo Brasil Pereira Pinto e a Professora Suzan Kelly Vilela Bertolucci pela paciência e ensinamentos nesses anos.

Aos professores do setor de sementes e das plantas medicinais aromáticas e condimentares que sempre estão disponíveis com paciência e dedicação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão da bolsa de doutorado.

Aos Laboratório Central de Sementes, Horto de Plantas Medicinais e Biodiesel por terem cedido todas as infraestruturas, juntamente com todos funcionários pela paciência e ensinamentos.

Aos Núcleos de estudos com ênfase em produção e tecnologia de sementes (NESem), Núcleo de estudos em plantas medicinais, aromáticas e condimentares (NEMAC) e Núcleo de estudos em produtos naturais (NEPRON), pela união e força de trabalho, liderança, cooperação e estimulo nas diversas atividades exercidas.

A toda equipe de trabalho de pós-graduandos, bolsistas pelo apoio, união, amizade e espirito de equipe.

A todos que de alguma forma contribuíram para esta conquista.



#### **RESUMO GERAL**

O gênero Amaranthus, é amplamente conhecido no Brasil como planta invasora competindo com culturas agrícolas, no entanto, contem múltiplas utilidades que podem contribuir para a segurança alimentar, nutricional, funcional e na alimentação animal. Diante disso, é interessante incentivar os conhecimentos relativos às diferentes espécies e o consumo dessas plantas que podem contribuir para as diversas necessidades no mundo. Vale ressaltar que o principal meio de propagação destas plantas é por sementes e que a produção de sementes dessas espécies continua sendo um dos grandes gargalos. São necessários esforços dos pesquisadores para ampliar os conhecimentos sobre essas sementes para que elas possam ser disponibilizadas com qualidade adequada em produções comerciais. A utilização de técnicas de análise de imagens (raio-X, GroundEye®) e outras tecnologias de inovação como a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR)) para a caraterização das espécies pode contribuir para menores tempos gastos nos estudos dessas espécies. No primeiro artigo, objetivou-se determinar a metodologia para o teste de germinação e morfometria de sementes de diferentes espécies de Amaranthus. As sementes foram submetidas ao teste de germinação disposto em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 2 x 6, constituído pelas combinações de quatro espécies (A. viridis L., A. retroflexus L., A. hybridus L. e Amaranthus sp.), dois substratos (papel e vermiculita) e seis temperaturas (15, 20, 25, 30, 15-25 e 20-30 °C). O teste de germinação pode ser conduzido à temperatura de 30 °C para as espécies A. viridis, A. hybridus, Amaranthus sp. e para o A. retroflexus à de 25 °C. O substrato de papel proporciona condições adequadas para a germinação das diferentes espécies de Amaranthus. A primeira contagem de germinação aos 5 dias e a contagem final do teste de germinação de sementes aos 12 dias. A morfometria de sementes varia entre as diferentes espécies do Amaranthus. Entretanto, as caraterísticas esferecidade e área proporcionam a diferenciação entre si. No segundo artigo, objetivou-se com este estudo realizar a distinção de sementes e óleos de diferentes espécies de Amaranthus, utilizando a espectroscopia no infravermelho próximo. Foram utilizadas três espécies: A. viridis L., A. hybridus L. e Amaranthus sp. (comercial). Os espectros adquiridos nas amostras utilizando a espectroscopia no infravermelho próximo foram submetidos à análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) e a análise de componentes principais (PCA). Por meio da PCA tanto para a semente quanto para o óleo foi possível diferenciar as diferentes espécies de Amaranthus. Pela PLS-DA foi possível à predição das classes das espécies com alto grau de classificação correta, sendo que obteve 96,67% de classificações corretas para as sementes e 98,89% para o óleo.

**Palavras-chave:** Plantas alimentícias não convencionais. Germinação. Espectroscopia no infravermelho próximo.

#### GENERAL ABSTRACT

The Amaranthus genus is widely known as an invasive plant competing with agricultural crops, however, it has multiple uses that can contribute to food and nutritional security, medicinal and animal feed. Therefore, it is interesting to encourage knowledge about species and the consumption of these plants that can contribute to the diverse needs in the world. It is worth mentioning that the production of seeds of these species remains one of the major bottlenecks. Researchers' efforts are needed to expand knowledge about these seeds so that they can be made available with adequate quality for commercial production. The use of image analysis techniques (X-ray, GroundEye) and other innovative technologies such as near infrared spectroscopy (NIR) for the characterization of the species can contribute in time and expense in the study of research of these species that are considered extremely potential. Article one the objective of the present study was to determine the methodology for the test germination and morphometry seed of different Amaranthus species. The seed was available in completely randomized a 4 x 2 x 6 factorial arrangement, consisting of the combinations of four species (A. viridis L., A. retroflexus L., A. hybridus L. and Amaranthus sp.), two substrates (paper and vermiculite) and six temperatures (15, 20, 25, 30, 15-25 and 20-30 °C). The germination test can be conducted at a temperature of 30 °C for A. viridis, A. hybridus, Amaranthus sp. and for Amaranthus retroflexus at 25 °C. The paper substrate provides adequate conditions for germination of different species of Amaranthus. The first germination counts at 5 days and the final seed germination test count at 12 days. Morphometry varies according to species. However, the characteristics of sphericality and area provide differentiation between them. Article two the aim of this study was to distinguish between seeds and oils of different species of Amaranthus, using near infrared spectroscopy. Three species were used: A. viridis L., A. hybridus L. and Amaranthus cf. (commercial). The samples were subjected to analysis using near infrared spectroscopy (NIR) and the spectra were generated using the FT-NIR spectrometer. The spectra were subjected to discriminant analysis by partial least squares (PLS-DA) and principal component analysis (PCA). Through PCA for both seed and oil it was possible to differentiate the species of Amaranthus. By PLS-DA it was possible to predict the classes of species with a high degree of correct classification, obtaining 96.67% of correct classifications for seeds and 98.89% for oil.

**Keyword:** Unconventional food plants. Germination. Near infrared spectroscopy.

#### SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	11
INTRODUÇÃO	11
1 REFERENCIAL TEÓRICO	13
1.1 Alimentos funcionais	13
1.2 Aspectos gerais e importância da cultura de Amaranthus	15
1.3 Germinação de sementes	18
1.4 Espectroscopia de infravermelho próximo	20
REFERÊNCIA	23
SEGUNDA PARTE – ARTIGOS	29
ARTIGO 1 - METODOLOGIA PARA O TESTE DE GERMINAÇÃO E	
MORFOMETRIA DE SEMENTES DE DIFERENTES ESPÉCIES	
AMARANTHUS	30
1 INTRODUÇÃO	32
2 MATERIAS E MÉTODOS	33
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4 CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	
ARTIGO 2 - CARACTERIZAÇÃO POR ESPECTROSCOPIA NO	75
INFRAVERMELHO PRÓXIMO DE SEMENTES E ÓLEO DE DIFERENTES	
ESPÉCIES DE AMARANTHUS EM FUNÇÃO DOS SISTEMAS DE	40
CULTIVOS	48
1 INTRODUÇÃO	50
2 MATERIAS E MÉTODOS	51
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4 CONCLUSÃO	63
REFERÊNCIAS	64

#### PRIMEIRA PARTE

#### INTRODUÇÃO

Culturas alternativas ou espécies subutilizadas para usos variados de interesses, considerados com os pseudo cereais, têm despertado consideravelmente devido ao excelente perfil nutricional, fenólico, fitoquímico e no uso em dietas, aumentando a diversidade alimentar e a manutenção da biodiversidade de plantas.

Nesse sentido o gênero Amaranthus destaca pela diversidade genética com diferentes espécies de Amaranthus e pelo seu alto valor nutricional e funcional na alimentação.

São vários os benefícios associados às plantas desse gênero: na saúde, na prevenção e redução do estresse oxidativo, anti-inflamatório, na prevenção de doenças cardiovasculares, desnutrição, obesidade, e ainda como alimento em alguns países em desenvolvimento, onde a espécie já é utilizada, de forma não comercial na alimentação humana.

O amaranto é uma cultura popular cultivada em diversas partes do mundo, como a África, Europa, Ásia e América, onde quase todas as partes da planta são utilizadas. Estudos com outras espécies do gênero que são adquiridos comercialmente revelam que a propagação é sexuada (semente), o que facilita nos programas de melhoramento.

Na busca de melhorar as pesquisas e o resgate no cultivo dessas plantas, para ganhos alimentícios e nutricionais, foram conduzidos alguns trabalhos com determinadas espécies, porém, pesquisas com *A. viridis* (caruru-de-mancha), *A. hybridus* (caruru roxo) e *A. retroflexus* (caruru gigante), com grandes potenciais produtivos são escassos.

Porém, poucos trabalhos são encontrados sobre metodologias para análise de sementes dessas espécies, fato que pode ser comprovado através das Regras para Análise de Sementes, onde só existe para o *Amaranthus hybridus*, e que, para as demais espécies não há recomendação para o teste de germinação. Contudo, o estudo da germinação de sementes permite conhecer o estabelecimento das demais espécies nas condições adversas e no conhecimento da qualidade fisiológica e vigor de sementes.

As espécies de Amaranthus oferecem diversas possibilidades no uso, sendo este, outro fator importante que deve ser mais explorado nesta cultura. Na literatura, existe poucas informações sobre a morfometria de sementes usando técnicas de análise de imagem. Nesse sentido é necessários estudos sobre as caraterísticas físicas e fisiológicas para a obtenção de informações que possam ser aplicadas para essas espécies.

Outros métodos alternativos para a análise rápida, como o NIR, podem auxiliar no controle de qualidade e ajudar a inferir determinada composição química do óleo e da semente.

Nesse sentido, o incentivo no cultivo destas plantas pode proporcionar o maior desenvolvimento de pequenos agricultores, ganhos na economia das populações de baixa renda, que também utilizam as espécies como hortaliça na alimentação, funcional com diversas funcionalidades no organismo e benefício na saúde com absorção de nutrientes, minerais, vitaminas e aminoácidos.

Entretanto, estas espécies não são totalmente conhecidas pela população em geral e até mesmo por órgãos de pesquisa, ensino e extensão.

Desta forma, o intuito desta pesquisa foi avaliar e distinguir as metodologias de germinação, morfologias por análise de imagem e caracterização de espécies por espectroscopia no NIR de sementes de Amaranthus.

#### 1 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 1.1 Alimento funcional e medicinal

Para que uma alimentação seja considerada adequada, precisa-se ir muito além do fornecimento de energia e nutrientes essenciais, deve-se considerar os não nutrientes, que associados são considerados benéficos, podendo retardar ou prevenir determinadas doenças.

Alimentos funcionais são aqueles que provêm da oportunidade de combinar produtos comestíveis de alta flexibilidade com moléculas biologicamente ativas, como forma de melhorar distúrbios metabólicos, que contribuem na redução dos riscos de doenças e manutenção da saúde, além do valor nutritivo inerente à sua composição química (BERNARDES et al., 2010).

Alimentos funcionais possuem inúmeras definições, e defende a suposição que a dieta pode controlar e modular as variadas funções orgânicas, e demonstram determinados benefícios fisiológicos, contribuindo para a manutenção da saúde e reduzindo o risco de um ataque súbito (COSTA; ROSA 2016).

Para a International Food Information Council Foundation (IFIC), os alimentos funcionais são: frutas, hortaliças, grãos, alimentos fortificados e determinados suplementos alimentares (IFIC, 2020), que vem sendo desenvolvidos na obtenção de benefícios na regulação de funções corporais, com a finalidade de proteção contra algumas doenças. (ANJO, 2004).

Os alimentos funcionais têm sido associados a diversos estudos e comprovado os seus benefícios, assim, merecem destaque na alimentação por sua colaboração na melhoria do funcionamento do metabolismo e na prevenção de doenças.

Determinados alimentos têm o efeito abrangente não somente do enfoque nutricional, mas também ações promotoras para um amplo funcionamento do organismo, que integra ingredientes alimentares benéficos, fato este que podem ser encontrados no gênero Amaranthus.

O amaranto tem despertado interesse especial devido às suas características nutricionais, funcionais, agrícolas e potencial de aplicação na indústria de alimento. O gênero integra a lista das 36 culturas mais promissoras para alimentar a humanidade (ASTM, 2012), o seu cultivo em diversas áreas associado ao consumo, poderá aumentar a segurança alimentar de populações vulneráveis. As suas folhas, consumidas como hortaliça e as sementes como cereal, participam de diversas preparações culinárias, tais como pães, bolos, biscoitos, molhos de salada, bebidas, entre outros produtos (FERREIRA et al., 2007).

A cultura do Amaranthus é uma das fontes nutritivas que pode se tornar uma alternativa para consumidores de cereais com área de cultivo potencialmente crescente em diversas regiões, quando for estimulado.

Estudos atrelados à importância do amaranto aliados ao melhoramento da qualidade de vida, sugerem características favoráveis quanto na sua composição centesimal, tornando-se um grande potencial de aplicação no desenvolvimento de produtos enriquecidos (QUINI, 2013). O alto valor nutritivo da proteína faz com que o grão de amaranto seja aplicável, tanto na fortificação de farinhas de trigo, milho e tubérculos, como na elaboração de produtos farináceos isentos de glúten.

No Amaranthus os valores de ferro, cálcio, potássio e magnésio são geralmente mais elevados do que os encontrados em outros grãos, sendo que o seu uso como ingrediente na elaboração de formulações pode ajudar a melhorar o perfil mineral destes produtos (NASCIMENTO et al., 2014). O grão de amaranto tanto cru como processado apresenta potencial antioxidante, polifenóis, antocianinas, flavonoides, tocoferóis, vitamina C, assim como os compostos gerados na reação de Maillard podem estar associados à atividade antioxidante deste grão (QUEIROZ et al., 2009).

O grão de Amaranthus surge como uma das plantas promissoras do século XXI, selecionado pela NASA, para auxiliar na dieta de astronautas em vôos espaciais por seu valor nutricional (MONTESDEOCA; ESCOBAR, 2012). Brouns et al. (2013) e Santos et al., (2017) destacaram várias formas no uso do Amaranthus, observaram benefícios no uso da farinha de amaranto como alternativa para o desenvolvimento de produtos livres de glúten, uma vez que este vegetal não contém proteínas relacionadas ao glúten.

Para Silva et al. (2017), caracterizando os compostos nutricionais de interesse presentes em vegetais conhecidos como não convencionais de seguintes espécies *Amaranthus hybridus* L., e *Amaranthus viridis* L., no Brasil, observaram níveis nutricionais superiores as médias descritas para a constituição nutricional de vegetais comumente usados na alimentação humana.

O Amaranthus fornece uma composição de aminoácidos para a alimentação humana, composto por alto teor de lisina e também arginina, histidina o que possibilita uma alternativa para a nutrição infantil (GIMPLINGER et al., 2007). O alto valor nutricional das sementes de amaranto e a adaptabilidade a condições desfavoráveis de clima e solo, além do uso alimentar de toda a planta é o motivo para aumentar o interesse de pesquisa (POSPISIL et al., 2006; CAPRILES et al., 2008; PARVEEN et al., 2014).

#### 1.2 Aspectos gerais e importância da cultura de amaranthus

O amaranto (*Amaranthus* sp.) é uma dicotiledônea que apresenta uma inflorescência tipo panícula, classificada como falso cereal, possui diversas colorações, desde verde a roxo, as folhas e os grãos são alimentos no mundo e em algumas regiões no Brasil (AMAYA-FARFÁN et al., 2005; SPHEAR, 2007).

A espécie é do gênero Amaranthus, faz parte da família Amaranthaceae, e o seu cultivo é conhecido nas Américas há mais de 5000 anos. É uma planta de crescimento rápido, com sistema radicular profundo (pivotante), o que confere a planta condições favoráveis à absorção de nutrientes nas diversas partes do solo, o que permite desenvolver-se em diferentes condições agronômicas, com maior adaptabilidade a altas temperaturas e luminosidade nas condições do Brasil (AMAYA-FARFÁN et al., 2005; CARVALHO et al., 2008).

As espécies de Amaranthus pertencem a um gênero cosmopolita que inclui espécies ameaçadas, consideradas como plantas invasoras generalizadas, sendo esta difícil de caracterizar taxonomiacamente pelos sistematistas. Entretanto, essas espécies possuem alta variabilidade genética, com diversidade na forma de crescimento, altura de planta, número de inflorescências, cor de sementes, teor de proteína, rendimento de sementes, resistência a pragas e doenças e adaptação ao tipo de solo, pH e clima (ASSAD et al., 2017).

O amaranto é uma planta que possui diversas caraterísticas de adaptação, como, tolerância a deficiência hídrica, alta relação C/N, além disso, possui diversas utilidades na proteção do solo, forragem e no período de entressafras destina-se a alimentação animal (FERREIRA, et al., 2014).

O Amaranthus possui altos rendimentos de sementes em estandes de baixas populações de plantas. Entretanto, a combinação de plantas com densidade maior a 50 plantas/m², facilitam a colheita. As plantas de menor porte com caules finos e ramificações facilitam a colheita mecânica e reduz a perdas de sementes (MENDES, 2014).

O amaranto é uma planta bastante cultivada no mundo, países como a China, México, Equador, Peru, Bolívia, Argentina, Canada, Estados Unidos, Moçambique e Tanzânia são os que mais se destacam na sua plantação, assim são diversas as espécies de amaranto existentes no mundo.

Determinados estudos do gênero Amaranthus com as espécies. *A. hypochondriacus*, *A. cruentus* e *A. caudatus*, têm sido desenvolvidos e obtidos resultados promissores em relação ao elevado valor nutricional. Porém, fazendo um levantamento no Brasil são destacadas outras espécies de amarantos no mercado, demostrando uma competição com diversas culturas,

nomeadamente A. viridis (caruru-de-mancha), A. spinosus (caruru de espinho), A. deflexus (caruru rasteiro), A. hybridus (caruru roxo), A. retroflexus (caruru gigante) e A. lívidas (caruru folha-de-cuia) (CARVALHO; CHRISTOFFOLETI, 2007; CARVALHO et al., 2008).

Várias são as denominações desta cultura em alguns Países do Continente Africano, possui nomes populares como Tseke (Moçambique), Lenga Lenga (Tanzânia, Burundi) e no Brasil é conhecido como caruru.

O Amaranthus é uma cultura nutricionalmente rica, capaz de prevenir a desnutrição, identificada como uma cultura alternativa particularmente em regiões áridas e semiáridas do mundo em desenvolvimento (LIGHTFOOT et al., 2017).

Apesar do aumento da importância econômica, informações limitadas estão disponíveis sobre a variabilidade genética para as características agronômicas entre cultivares. As descobertas e o uso de novas espécies são importantes na composição da diversidade de sistemas de produção. Portanto, o amaranto necessita dos estudos por meio de programas de melhoramento devido ao seu grande potencial (PARVEEN et al., 2014).

Determinadas espécies do gênero Amaranthus possuem diversas utilidades em diferentes tratamentos, além de conter propriedades antialérgicas, anticancerígenas, antihipertensivas e antioxidantes (ASSAD et al., 2017).

Estudos realizados pelo Instituto Nacional Autônomo de Pesquisa Agrícola enumeram vários benefícios deste grão, como, por serem ricos em proteínas (lisina), vitaminas C, minerais (ferro, cálcio, fósforo), fibras, gorduras, compostos antioxidantes e prevenir de doenças como a osteoporose, diabetes mellitus, obesidade, hipertensão arterial, constipação e anemia (PINTO, 2016).

Além disso, o grão de amaranto contém níveis significativos de vitaminas, bem como componentes bioativos, como os fitossanitários, terol, esqualeno, fagopyritols, saponinas, flavonóides e compostos fenólicos ácidos, com propriedades antioxidantes. O esqualeno, por exemplo, é um precursor biossintético de todos os esteroides e um ingrediente importante em cosméticos para a pele, devido ao seu papel foto protetor e como lubrificante para discos de computador devido à sua estabilidade térmica (GENDY et al., 2018).

Segundo Xavier et al. (2018), o estudo de três espécies de Amaranthus, verificou que constituintes antinutricionais e o teor de nitrato presentes, não representam riscos à saúde, se consumido moderadamente e que o *A. hybridus* e *A. viridis* apresentam grande potencial para produção de grãos.

O cultivo de Amaranthus está se expandindo, porém existe uma escassez de metodologias para avaliação do potencial fisiológico de sementes, sendo esses de fundamental importância (ROSA et al., 2018) para entendimento desta cultura que apresenta qualidades agrícolas e nutricionais distintas das outras culturas, o que seria interessante o incentivo ao plantio e consumo no país. Por isso, outros componentes vitais no que se refere a padrões de produção e consumo, vêm se destacando em países em desenvolvimento nos aspectos sócioseconômicos, consumo de alimentos e sua conservação (HILOU et al., 2016).

Em contrapartida, o desenvolvimento destas espécies de *Amaranthus spp.*, está se tornando um problema enfrentado por produtores em áreas agrícolas do cerrado brasileiro devido ao difícil controle da planta em áreas cultiváveis com grandes culturas (SOUSA et al., 2016).

O Amaranto é tido como planta invasora, provocando graves prejuízos à produção agrícola, tanto em termos quantitativos como qualitativos, pois eles competem com as plantas cultivadas, limitando a quantidade disponível de nutrientes, luz e umidade (SCAVO et al., 2015), porque boa parte destas espécies existem no país e são conhecidos predominantemente como plantas daninhas o que entra em conflito com a produção das demais culturas.

O amaranto já foi adaptado ao clima brasileiro pela Embrapa, e pelas características agrícolas e nutricionais, seria duplamente benéfico para as populações rurais conhecerem e produzir o amaranto. A planta pode ser consumida desde as folhas até os grãos, e por ser de fácil cultivo e rápido crescimento, pode proporcionar um retorno financeiro em menor tempo, quando comparado a outras culturas (ALCARAZ; XAVIER, 2014).

Estas espécies também são denominadas hortaliças não convencionais, presentes em determinadas localidades ou regiões, mas que aos poucos foram esquecidas e desvalorizadas. Em virtude das mudanças no comportamento alimentar, o consumo destas hortaliças foi reduzido causando perdas econômicas, sociais e culturais (VIANA et al., 2015).

#### 1.3 Germinação de sementes

A germinação de sementes é o processo pelo qual a planta embrionária emerge de um período de dormência. Esta etapa do desenvolvimento das plantas depende de muitos fatores, entre os quais se incluem os de natureza genética e ambiental (COSTA; DANTAS, 2009).

A germinação envolve complexos mecanismos fisiológicos e bioquímicos Donazzolo et al. (2017), como, umidade, oxigênio, temperatura, luz e nutrientes Seo et al. (2009), e é uma

das fases mais importantes da vida da planta, que contribui para a capacidade de se tornar invasiva.

YE; WE, (2017), discorrem que a rápida germinação e o alto percentual de germinação sob condições de estresse, são excelentes características de sementes para as culturas e para muitas espécies invasoras.

A germinação de sementes é o passo chave para o estabelecimento bem-sucedido, crescimento e expansão da população, especialmente para plantas exóticas com ciclo de vida anual (HAO et al., 2017).

A velocidade de germinação de sementes proporciona alto potencial fisiológico, com capacidade de otimizar a uniformidade na germinação. A sincronia e a velocidade são importantes porque permitem reduzir o grau de exposição das sementes e das plântulas a fatores adversos (MARCOS FILHO, 2015).

A germinação de sementes ocorre dentro de determinados limites de temperaturas, entretanto, para determinadas espécies, o desempenho germinativo é favorecido por temperaturas constantes (GUEDES et al., 2010; PACHECO et al., 2010). Para a alternância de temperatura (PEREIRA et al., 2013) e para indiferença ao regime de temperatura utilizado (MARTINS; MACHADO; NAKAGAWA, 2008).

A temperatura pode afetar as reações bioquímicas que determinam o processo germinativo, sendo responsável por ativar sistemas enzimáticos específicos, além de exercer um importante fator na germinação, influência também na velocidade e uniformidade desse processo (MARCOS FILHO, 2015).

A luz também exerce um fator importante na germinação de sementes e é necessária para a germinação de espécies denominadas fotoblásticas positivas, enquanto as fotoblásticas negativas germinam melhor quando há limitação de luz, existindo ainda as indiferentes, que não apresentam sensibilidade à luz (TAIZ; ZEIGER, 2004).

A resposta à luz está associada ao fitocromo, que é o pigmento receptor responsável pela captação de sinais luminosos que podem ou não desencadear a germinação das sementes, de forma que a ação desse pigmento depende do tipo de radiação incidente (VÁZQUEZ-YANES; OROZCO-SEGOVIA, 1990).

Outro fator que influência a germinação, é o substrato, em função de sua estrutura, aeração, disponibilidade de água, propensão à proliferação de patógenos, dentre outros, podendo favorecer ou prejudicar a germinação das sementes. Constitui o suporte físico no qual

a semente é colocada e tem a função de proporcionar condições adequadas para a germinação e desenvolvimento das plântulas (MACHADO et al., 2002).

O tipo de substrato usado na germinação de sementes para as exigências fisiológicas, deve ser adequado para cada espécie, segundo as regras de análise de sementes (BRASIL, 2009).

Além disso, umidade do substrato é fundamental para desencadear o processo de germinação, pois a hidratação dos tecidos da semente amolece o tegumento e reativa o metabolismo do embrião e tecido de reserva, permitindo a difusão dos reguladores de crescimento e, consequentemente, a ativação dos sistemas enzimáticos (MARCOS FILHO, 2005).

Alguns fatores podem alterar a germinação das sementes, um deles é o processo de dormência. O impedimento estabelecido pela dormência é considerado pela natureza como uma estratégia benéfica, pela distribuição da germinação ao longo do tempo, permitindo uma maior probabilidade de sobrevivência da espécie.

A dormência de sementes é um fato comum, sendo esta, em condições naturais, de grande valor por ser um mecanismo de sobrevivência das espécies.

Contudo, o estudo das análises da morfometria de sementes é necessário devido à importância dessas estruturas na identificação botânica e na propagação da espécie (AQUINO et al., 2009), além de ser um parâmetro importante no processo de germinação de semente.

Todavia, a regra de análises de sementes (BRASIL, 2009), enumera algumas espécies do gênero Amaranthus de forma concreta a temperatura e o substrato necessário para a condução do teste de germinação. Espécies como *Amaranthus caudatus*, *cruentus*, *tricolor e hybridus*, o substrato indicado é o sobre areia e papel, as temperaturas é de 20-30, 20, sendo que também consideram a quebra de dormência outro ponto importante, com KNO<sub>3</sub>.

Segundo Costa e Dantas (2009) avaliando o efeito dos substratos de areia de praia, duna, rio, neossolo quartzarênico distrófico ou solo de arisco e neossolo Flúvico distrófico ou solo de aluvião na germinação de sementes amaranto (*Amaranthus* spp.), verificaram ótimos resultados eficientes com o solo de aluvião e com tempo médio de 11,68 dias para a germinação e os maiores ganhos no desenvolvimento inicial.

Para Donazzolo et al. (2017) avaliando o efeito da temperatura, da luz e de diferentes substratos sobre a germinação de sementes de amaranto, observaram melhores condições de

germinação de sementes na temperatura de 25 °C, na ausência de luz e em substrato rolo de papel.

Carvalho e Christoffoleti (2007) avaliando a influência da luz e da temperatura no fotoperiodo (8 horas de luz/16 horas de escuro) com alternância de temperatura (8 horas a 30 °C/16 horas a 20 °C), fotoperíodo com temperatura constante (25 °C), escuro com alternância de temperatura e escuro com temperatura constante na germinação de cinco espécies do gênero Amaranthus consideradas plantas daninhas, constatou-se que a luz e a temperatura interferem na germinação de todas as espécies, em que as maiores taxas e velocidades de germinação foram obtidas em condição de fotoperíodo com alternância de temperatura (8 horas de luz a 30 °C/16 horas de escuro a 20 °C).

#### 1.4 Espectroscopia no infravermelho próximo

A espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) é um método não destrutivo, reprodutível, preciso, que proporciona análises em amostras sólidas de forma rápida com o mínimo preparo de amostra.

A espectroscopia no NIR descreve à faixa do espectro eletromagnético em que as ondas (ou fótons) mostram o comprimento de onda que varia entre 750 nm e 2.500 nm, equivalente à faixa de número de onda entre 4.000 cm<sup>-1</sup> e 13.333 cm<sup>-1</sup>, na frequência entre 4,0 x 10<sup>14</sup> Hz e 1,2 x 10<sup>14</sup> Hz e no valor de energia entre 1,65 eV e 0,50 eV ou 160 kJ mol<sup>-1</sup> e 48 kJ mol<sup>-1</sup>, respectivamente (PASQUIM, 2003).

A espectroscopia mede a interação da luz com o material, essa luz pode ser absorvida ou transmitida da luz incidente na amostra, numa determinada região de comprimentos de onda (FIGUEIREDO, 2008), ou seja, não faz a medição do constituinte químico, mais sim, a interação da radiação com as ligações químicas da amostra.

No NIR a utilização do método analítico permite o uso de determinadas características do alto escalão de penetração do feixe de radiação, com o uso universal de qualquer molécula com determinadas ligações químicas (C-H, N-H, S-H ou O-H) após o preparo das amostras (WILLIAMS; NORRIS, 2001).

A relevância dos métodos analíticos qualitativos e quantitativos, utilizando a espectroscopia no infravermelho próximo, tem seu reconhecimento com a incorporação em diversas áreas do setor produtivo e pela publicação de normas oficiais elaboradas para auxiliar no desenvolvimento, validação e manutenção destes métodos (AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS, 2012).

A tecnologia do NIR passou a ser relacionada de forma rápida tendo em conta o suporte dos fundamentos da espectroscopia vibracional, a instrumentação espectrofotométrica do NIR e a quimiometria. A técnica de regressão por quadrados mínimos parciais é uma das formas mais utilizadas pelos métodos analíticos quando empregados em espectroscopia no NIR (PASQUIM, 2003).

A técnica de NIR não permite afirmar a composição química concreta da amostra em estudo, porém, é muito útil quando pretende se identificar prováveis alterações na composição, através de comparação de grupos funcionais, ou por outra, discriminar espécies (GONÇALVES et al., 2014).

O preparo das amostras para análise na espectroscopia no infravermelho próximo é mínimo, o que define umas das vantagens primordiais (SCHWANNINGER et al., 2011). Outras inúmeras vantagens têm destaque com o uso do NIR, é simples, não destrutiva, utilizado em amostras sólidas e líquidas, possibilita fazer análises rápidas e em tempo real garante uma boa reprodutibilidade (SCHWANNINGER et al., 2011; COOPER et al., 2011; VIA et al., 2014).

Em contrapartida, essa técnica depende de métodos quimiométricos, quando aplicados de forma indireta através da calibração multivariada, que demanda comparação com método de referência, o que determina a sua confiabilidade com a calibração e com erros analíticos. É considerada uma técnica de baixa sensibilidade, pois as suas análises restringem a determinação de componentes minoritários em concentrações reduzidas na fração de 0,1% a 0,5% em massa (LUYPAERT et al., 2007; SCHWANNINGER et al., 2011; JAMRÓGIEWICZ, 2012).

A utilização de ferramentas quimiométricas é feita no tratamento analítico de dados espectrais, como sendo uma alternativa aos métodos tradicionais existentes de predição quantitativa e qualitativa de propriedades físico-químicas (FERNÁNDEZ-ESPINOSA, 2016).

Os métodos quimiométricos complementam com o auxílio de análise de componentes principais (*Principal Component Analysis* - PCA), análise discriminante por mínimos quadrados parciais (*Partial Least Squares - discriminant Analysis* PLS- DA) Sandak et al. (2009).

Outras áreas como a química e a engenharia florestal vêm usando o NIR com resultados satisfatórios, mostrando que esta técnica pode ser utilizada quase em todas as áreas.

Segundo Frizon et al. (2015) a espectroscopia no infravermelho próximo, estabelece que a combinação de métodos estatísticos, pode ser aplicada como um método eficiente para a quantificação e classificação de amostras.

Para Costa et al. (2019) que a técnica de espectroscopia no NIR associado a análise multivariada, apresentou potencial de forma rápida e eficiente para a classificação do carvão. Contudo, Ramalho et al. (2019) provou que a espectroscopia no NIR pode ser eficiente na estimativa a composição química do carvão vegetal, exceto cinzas conteúdo.

Existem trabalhos com uso desta técnica em sementes que evidenciam ótimos resultados na diferença de cultivares de girassol, tanto por meio do óleo extraído de sementes com pericarpo e de sementes sem pericarpo, quanto na semente com e sem pericarpo (VASCONCELOS et al., 2018).

Segundo Grunvald et al. (2014) possibilitaram inferir que é possível estabelecer uma equação de calibração pela espectroscopia de NIR para a avaliação do teor de óleo em sementes de genótipos de girassol cultivados em condições ambientais brasileiras.

Para Mayrinck et al. (2020) o uso da espectroscopia no infravermelho próximo estabeleceu que o melhor preparo de amostra foi nas sementes maceradas, com 95% de predições corretas para sementes de alto vigor e 100% das de baixo vigor (com línter) e com 100% de predições corretas para sementes de alto vigor e 91,7% de baixo vigor (sem línter).

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). E1655-05: Standards practices for infrared multivariate quantitative analysis. West Conshohocken, Annual Book of ASTM Standards, 2012.

AHMED, M. J.; AKHTAR, T. Indigenous knowledge of the use of medicinal plants in Bheri, Muzaffarabad, Azad Kashmir, Pakistan. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 8, n. 4, p. 560-569, 2016.

ALCARAZ, A. P. B.; XAVIER, F. B. Amaranto e seus benefícios. **Revista UNINGÁ**, n.40, n.1, p. 149-157, 2014. ISSN 2318-0579.

AMAYA-FARFÁN, J.; MARCÍLIO, R.; SPEHAR, C. R. Deveria o Brasil investir em novos grãos para sua alimentação? A proposta do Amaranto (Amaranthus sp.). **Segurança Alimentar e Nutricional,** v. 12, n. 1, p. 47-56, 2005.

AMORNRIT, W.; SANTIYANONT, R. Effect of amaranthus on advanced glycation end-products induced cytotoxicity and proinflammatory cytokine gene expression in SH-SY5Y cells. **Molecules**, v. 20, n. 9, p. 17288-17308, 2015.

ANJO, D. F. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. Jornal Vascular Brasileiro, v. 3, p. 145-54, 2004.

AQUINO N. F.; AJALA, M. C.; DRANSKI, J. A.; IGNÁCIO, V. L.; MALAVASI, M. M.; MALAVASI, U. C. Morfometria de sementes de Jatropha curcas L. em função da procedência. **Revista de Ciências Agroveterinárias**; v. 8, n. 2, p. 142-145, 2009.

ASSAD, R.; RESHI, Z. A.; JAN, S.; RASHID, I. Biology of Amaranths. **Botanical Review**, v. 83, n. 4, p. 382-436, 2017.

BERNARDES; N. R.; PESSANHA; F. F.; OLIVEIRA; D. B.; Alimentos Funcionais: Uma breve revisão. **CIÊNCIA E CULTURA**, v. 6, nº 2, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ ACS, 2009. 395 p.

BROUNS, F. J. P. H.; VAN BUUL, V. J.; SHEWRY, P. R. Does wheat make us fat and sick? **Journal of Cereal Science**, v. 58, n. 2, p. 209-215, 2013.

CALIXTO, J. Biodiversidade como fonte de medicamentos. **Ciência e cultura**, v. 55, n. 3, p. 37–39, 2003.

CAPRILES, V. D.; COELHO, K. D.; GUERRA-MATIAS, A. C.; ARÊAS, J. A. G. Effects of processing methods on amaranth starch digestibility and predicted glycemic index. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 7, p. H160-H164, 2008.

- CARNEIRO, F. M.; SILVA, M. J. P.; BORGES, L. L.; ALBERNAZ, L. C.; COSTA, J. D. P. Tendências dos estudos com plantas medicinais no Brasil. **Revista Sapiência**: **sociedade**, **saberes e práticas educacionais**, v.3, n. 2, p.44-75, 2014.
- CARVALHO, S. J. P.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Influência da luz e da temperatura na germinação de cinco espécies de plantas daninhas do gênero Amaranthus. **Bragantia**, v. 66, n. 4, p. 527-533, 2007.
- CARVALHO, S. J. P.; LÓPEZ-OVEJERO, R. F.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Crescimento e desenvolvimento de cinco espécies de plantas daninhas do gênero Amaranthus. **Bragantia**, v. 67, n. 2, p. 317- 326, 2008.
- COSTA, D. M. A.; DANTAS, J. A. Effects of substrate on the germination of amaranth seeds (*Amaranthus* spp). **Revista Ciência Agronômica**, v. 40, n. 4, p. 498–504, 2009. ISSN 1806-6690.
- COSTA, N. M. B.; ROSA, C. O. B, Alimentos funcionais-compostos bioativos e efeitos fisiológicos, 2edição, Rio de janeiro 504 pp, 2016. ISBN:978-85-8411-054-4.
- COOPER, P. A.; JEREMIC, D.; RADIVOJEVIC, S.; UNG, Y. T.; LEBLON, B. Potential of near infrared spectroscopy to charaterize wood products. **Can. J. For. Res.**, v. 41, p.2150-2157. 2011.
- DINSSA, F. F.; YANG, R.Y.; LEDESMA, D. R.; MBWAMBO, O.; HANSON, P. Effect of leaf harvest on grain yield and nutrient content of diverse amaranth entries. **Scientia Horticulturae**, v. 236, p. 146-157, 2018.
- DONAZZOLO, J.; POSSENTI, J. C.; GUOLLO, K.; DANNER, M. A.; BELLE, I. C. Germination of amaranth seeds under influence of light, substrate and temperature. **Revista de Ciências Agroveterinarias**, v. 16, n. 2, p. 190-194, 2017.
- EL GENDY, A. N. G.; TAVARINI, S.; CONTE, G.; PISTELLI, L.; HENDAWY, S. F.; OMER, E. A.; ANGELINI, L. G. Yield and qualitative characterisation of seeds of Amaranthus hypochondriacus L. and Amaranthus cruentus L. grown in central Italy. **Italian Journal of Agronomy,** v. 13, n. 1, p. 63-73, 2018.
- FERNÁNDEZ-ESPINOSA, A. J. Combining PLS regression with portable NIR spectroscopy to on-line monitor quality parameters in intact olives for determining optimal harvesting time. **Talanta**, v. 148, p. 216–228, 2016.
- FERREIRA, C. C.; JÚNIOR, W. Q. R.; RAMOS, M. L. G.; SPEHAR, C. R.; FARIAS, T. R. R. Effect of different sowing densities and nitrogen doses in grain yield and biometry of amaranth, at savannah in central Brazil, **Bioscience Journal**, v. 30, n. 5, p. 534-546, 2014.
- FERREIRA, T.A.P. C.; MATIAS, A.C G.; ARÊAS, J.A.G. Características nutricionais e funcionais do Amaranto (Amaranthus spp.). **J. Brazilian Soc. Food Nutr**, v. 32, n. 2, p. 91-116, 2007.

- FIGUEIREDO, J. FT-NIR spectroscopy and Laser Diffraction particle sizing of APIs in Pharmaceutical formulations. **Dissertação** (Mestrado Integrado em Engenharia Química) Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior Técnico, Lisboa., 2008.
- FRIZON, C. N. T.; OLIVEIRA, G. A.; PERUSSELLO, C. A.; PERALTA-ZAMORA, P. G.; CAMLOFSKI, M. O.; ROSSA, U. B.; HOFFMANN-RIBANI, R. Determination of total phenolic compounds in yerba mate (Ilex paraguariensis) combining near infrared spectroscopy (NIR) and multivariate analysis. **Food Science. Technology**, v. 60, n. 2, p. 795-801. 2015.
- GHORBANI, A.; SAEEDI, Y.; DE BOER, H. J. Unidentifiable by morphology: DNA barcoding of plant material in local markets in Iran. **PLoS ONE**, v. 12, n. 4, e0175722, 2017.
- GIMPLINGER, D. M.; DOBOS, G.; SCHÖNLECHNER, R.; KAUL, H. P. Yield and quality of grain amaranth (Amaranthus sp.) in Eastern Austria. **Plant Soil and Environment,** v. 53, n. 3, p. 105-112, 2007.
- GONÇALVES, R. P.; MARÇO, P. H.; VALDERRAMA, P. Thermal edible oil evaluation by. UV-Vis spectroscopy and chemometrics. **Food Chemistry**, v.163, p.83-86, 2014.
- GUEDES, R. S.; ALVES, E. U.; GONÇALVES, E. P.; JÚNIOR, J. M. B.; VIANA, J. S.; COLARES, P. N. Q. Substratos e temperaturas para testes de germinação e vigor de sementes de Amburana cearensis (Allemao) A. C. Smith. **Revista Árvore**, v. 34, n. 1, p. 57-64, 2010.
- GURIB-FAKIM, A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 27, n. 1, p. 1–93, 2006.
- HAO, J. H.; LV, S. S.; BHATTACHARYA, S.; FU, J. G. Germination response of four alien congeneric Amaranthus species to environmental factors. **PLoS ONE**, v. 12, n. 1, 2017.
- HILOU, A.; OUEDRAOGO, I.; SOMBIÉ, P A E D, GUENNÉ, S.; PARÉ, D.; COMPAORÉ. M. Leafy Amaranthus consumption patterns in Ouagadougou, Burkina Faso. **African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development,** v. 16, n. 4, p. 11248-11264, 2016.
- INTERNATIONAL FOOD INFORMATION COUNCIL FOUNDATION IFIC. Functional Foods. 2020. Disponível em. www.foodinsight.org, acesso em: 15 de junho de 2020.
- JAMRÓGIEWICZ, M. Application of the near-infrared spectroscopy in the pharmaceutical technology. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 66, p. 1–10, 2012.
- KUMARI, S.; ELANCHERAN R.; KOTOKY, J.; DEVI, R. Rapid screening and identification of phenolic antioxidants in Hydrocotyle sibthorpioides Lam. by UPLC-ESI-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 203, p. 521-529, 2016.
- LESSA, F. C. R.; GRILLO, C. H. B.; PINTO, F. E.; LORENÇON, B. B.; MARTINS, J. D. L.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, J. E. B. P.; Endringer, D. C. Efficacy of guaco mouthwashes (*Mikania glomerata* and *Mikania laevigata*) on the disinfection of toothbrushes. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 22, n. 6, p. 1330-1337, 2012.
- LI, D. L.; XING, F. W. Ethnobotanical study on medicinal plants used by local Hoklos people on Hainan Island, China. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 194, p. 358-368, 2016.

- LIGHTFOOT, D. J.; JARVIS, D. E.; RAMARAJ, T.; LEE, R.; JELLEN, E. N.; MAUGHAN, P. J. Single-molecule sequencing and Hi-C-based proximity-guided assembly of amaranth (Amaranthus hypochondriacus) chromosomes provide insights into genome evolution. **BMC Biology**, v. 15, n. 74, 2017.
- LUYPAERT, J.; MASSART, D. L.; VANDER HEYDEN, Y. Near-infrared spectroscopy applications in pharmaceutical analysis. **Talanta**, v. 72, n. 3, p. 865–883, 2007.
- SILVA, L. F.; SOUZA, D. C.; RESENDE, L. V.; NASSUR, R. C. M. R.; SAMARTINI, C. Q.; GONÇALVES, W. M. Nutritional Evaluation of Non-Conventional Vegetables in Brazil, **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 2, p.1775-1787, 2018.
- MACHADO, C. F.; OLIVEIRA, J. A.; DAVIDE, A. C.; GUIMARÃES, R. M. Metodologia para a condução e teste de germinação em sementes de ipê-amarelo (Tabebuia serratifolia (Vahl) Nicholson). **Cerne**, v. 8, n. 2, p. 17-25, 2002. ISSN: 0104-7760
- MARCOS FILHO, J. Fisiologia de Sementes de Plantas Cultivadas. [S.l: s.n.], 2015.
- MARTINS, A. B. N.; COSTA, C. J.; XAVIER, F. M.; BRUNES, A. P.; DIAS, L. W.; RADKE, A. K.; ELBERHARDT, P. E. R.; CAVALCANTE, J. A.; VERA, M. J. G.; TUNES, L. V. M.; MORAES, D. M. Accelerated aging test in amaranth (*Amaranthus cruentus* L.) seeds. **Australian Journal of Crop Science**, v. 12, n. 3, p. 444-448, 2018. ISSN: 1835-2693
- MARTINS, C. C.; MACHADO, C. G.; NAKAGAWA, J. Temperatura e substrato para o teste de germinação de sementes de barbatimão (Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville (Leguminosae)). **Revista Árvore**, v. 32, n. 4, p. 633-639, 2008.
- MIR, N. A.; RIAR, C. S.; SINGH, S. Nutritional constituents of pseudo cereals and their potential use in food systems: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 75, p. 170-180. 2018.
- NASCIMENTO JÚNIOR, B. J.; TÍNEL L. O.; SILVA, E. S.; RODRIGUES, L. A.; FREITAS, T. O. N.; NUNES, X. P.; AMORIM, E. L. C. Avaliação do conhecimento e percepção dos profissionais da estratégia de saúde da família sobre o uso de plantas medicinais e fitoterapia em Petrolina-PE, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.18, n.1, p.57-66, 2016.
- NASCIMENTO, A. C.; MOTA, C.; COELHO, I.; GUEIFÃO, S.; SANTOS, M.; MATOS, A. S.; GIMENEZ, A.; LOBO, M.; SAMAM, N.; CASTANHEIRA, I. Characterisation of nutrient profile of quinoa (Chenopodium quinoa), amaranth (*Amaranthus caudatus*), and purple corn (*Zea mays* L.) consumed in the North of Argentina: Proximates, minerals and trace elements. **Food Chemistry**, v. 148, p. 420-426, 2014.
- PACHECO, M. V.; MATTEI, V. L.; MATOS, V. P.; SENA, L. H. M. Germination and vigour of Dimorphandra mollis Benth. seeds under different temperatures and substrates. **Revista Árvore**, v. 34, n. 2, p. 205-213, 2010.
- PARVEEN, M., CHATTOPADHYAY, N. C., AND TAH J. Strategy of biometric evaluation of vegetative yield attributes of amaranth cultivars. **Bioscience Discovery**, v. 5, n. 1, p. 70-73, 2014. ISSN: 2229-3469

- PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 198-219, 2003.
- PEREIRA, S. R.; KALIFE, C.; CONTREIRAS RODRIGUES, A. P. D.; LAURA, V. A. Influência da temperatura na germinação de sementes de Peltophorum dubium (Spreng.) Taub. **Informativo Abrates**, v. 23, n. 3, p. 52-55, 2013. ISSN 0103-667X.
- POSPIŠIL, A.; POSPIŠIL, M.; VARGA, B.; Svečnjak, Z. Grain yield and protein concentration of two amaranth species (Amaranthus spp.) as influenced by the nitrogen fertilization. **European Journal of Agronomy,** v. 25, n. 3, p. 250-253, 2006.
- QUEIROZ, Y.S.; SOARES, R. O. M.; CAPRILES, V. D.; TORRES, E. A. F. S.; ÁREAS, J. A. G. Efeito do processamento na atividade antioxidante do grão de amaranto (Amaranthus cruentus L. BRS-Alegria), **Archivos latinoamericanos de nutricion**, V. 59, N. 4, P. 419-424, 2009.
- QUINI, A. R.; DELAZARI, D. S.; FARINAZZI-MACHADO, F. M. V.; BARBALHO, S. M. Revisão de literatura: Importância nutricional de algumas espécies de Amaranthus sp. **Revista Eletrônica de Biologia**, V. 6, n.1, p. 69-81, 2013. ISSN 1983-7682.
- RANKOANA, S. A. Indigenous plant-derived medicine used by ordinary community members other than traditional health practitioners for preventive health care in Mohlaletsi community in. LIMPOPO PROVINCE, South Africa. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines,** v. 13, n. 3, p. 113-116, 2016.
- RJEIBI, I.; SAAD, A. B.; SDAYRIA, J.; FERIAN, A.; NCIB, S.; ALLAGUI, M. O.; HFAIEDH, N.; SOUID, S. HPLC–DAD identification of polyphenols from ethyl acetate extract of Amaranthus spinosus leaves and determination of their antioxidant and antinociceptive effects. **Inflammopharmacology**, v. 27, p. 975-984, 2018.
- ROSA, T. D.; NADAL, A. P.; MALDANER, H. R.; SOARES, V. N.; GADOTTI, G. I.; VILLELA, F. A. Electrical conductivity and accelerated aging in amaranth (*Amaranthus crueentus* L.) seeds. **Journal of Seed Science,** v. 40, n. 1, p. 44-51, 2018.
- SAMARTINI, C. Q.; RESEND, L. V.; TECHIO, V. H.; BRAZ, G. T.; SILVA, L. F. L.; RESENDE, K. F. M. Número cromossômico e conteúdo de DNA nuclear em espécies do gênero *Amaranthus* (Amaranthaceae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 8, p. 998–1001, 2016.
- SANTOS, E. M.; CAMPOS, L. C. B.; PAULO, B. M.; FELIPE, B. S.; HENRIQUES, B. O. UTILIZAÇÃO DE AMARANTO COMO SUBSTITUTO DO GLÚTEN. **Revista Acadêmica Conecta FASF**, v. 2, n. 1, p.393-402, 2017. ISSN: 2525-3158.
- SCAVO, A.; RESTUCCIA, A.; PANDINO, G.; ONOFRI, A.; MAUROMICALE, G. Allelopathic effects of Cynara cardunculus L. Leaf aqueous extracts on seed germination of some mediterranean weed species. **Italian Journal of Agronomy**, v. 13, n. 2, p. 119-125, 2018.

- SEO, M.; NAMBARA, EIJI.; CHOI, GILTSU.; YAMAGUCHI, SHINJIRO. Interaction of light and hormone signals in germinating seeds. **Plant Molecular Biology**, v.69, n.4, p.463-472, 2009.
- SHUKLA, A.; SRIVASTAVA, N.; SUNEJA, P.; YADAV, S. K.; HUSSAIN, Z.; RANA, J. C.; YADAV, S. Untapped amaranth (Amaranthus spp.) genetic diversity with potential for nutritional enhancement. **Genetic Resources and Crop Evolution,** v. 65, n. 1, p. 243-253, 2018.
- SILVA E. C.; CARLOS, L. A.; ARAÚJO, A. P.; FERRAZ, L. CL.; PEDROSA, M. W.; SILVA, L. S. Characterization of two types of azedinha in the region of Sete Lagoas, Brazil. Horticultura Brasileira, v.31, n. 2, p. 328-331, 2013.
- SILVA, M. I. G.; GONDIM, A. P. S.; NUNES, I. F. S.; SOUSA, F. C. F. Utilização de fitoterápicos nas unidades básicas de atenção à saúde da família no Município de Maracanaú (CE). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.4, p. 455-462, 2006.
- SOGBOHOSSOU, O. E. D.; ACHIGAN-DAKO, E. G.; KOMLAN, A. F.; AHANCHEDE, A. Diversity and Differential Utilization of Amaranthus spp. along the Urban-Rural Continuum of Southern Benin. **Economic Botany**, v. 69, n. 1, p. 9-25, 2015.
- SOUSA, T. O.; FONSECA, W. L.; SANTOS, A. S.; PACHECO, L. P.; CHAVES, D. V.; ZUFFO, A. M. Suppression effect of 'Crotalaria ochroleuca' cover crop on 'Amaranthus deflexus' emergence and development. **Australian Journal of Crop Science**, V. 10, N. 10, p. 1484-1488, 2016. ISSN: 1835-2693.
- SPHEAR, C. R. **Amaranto:** opção para diversificar a agricultura e os alimentos. Embrapa Cerrados, Planaltina, DF (Brasil), 2007. 136 p.
- SCHWANNINGER, M.; RODRIGUES, J. C.; FACKLER, K. A Review of Band Assignments in near Infrared Spectra of Wood and Wood Components. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 19, n. 5, p. 287-308, 2011.
- TOMAZ, C. A.; MARTINS, C. C.; CARVALHO, L. R.; NAKAGAWA, J. Duração do teste de germinação do capim-tanzânia, **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 32, n° 4, p. 080 087, 2010.
- UL QAMAR, M. T.; MUMTAZ, A.; ASHFAQ, U. A.; ADEEL, M. M.; FATIMA, T. Potential of plant alkaloids as dengue ns3 protease inhibitors: Molecular docking and simulation approach. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 9, n. 3, p. 262-267, 2014.
- VIA, B. K.; ZHOU, C.; ACQUAH, G.; JIANG, W.; ECKHARDT, L. Near Infrared Spectroscopy Calibration for Wood Chemistry: Which Chemometric Technique Is Best for Prediction and Interpretation. **Sensors**, v. 14, n. 8, p. 13532-13547, 2014.
- VIANA, M. M. S.; CARLOS, L. A.; SILVA, E. C.; PEREIRA, S. M. F.; OLIVEIRA, D. B.; ASSIS, M. L. V. Phytochemical composition and antioxidant potential of unconventional vegetables. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 4, p. 504-509, 2015.

WILLIAMS, P. AND NORRIS, K. Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries. American Association of Cereal Chemists, USA, 2001.

XAVIER, J. B.; DE SOUZA, D. C.; DE SOUZA, L. C.; GUERRA, T. S.; RESENDE, L. V.; PEREIRA, J. Nutritive potential of amaranth weed grains. **African Journal of Agricultural Research**, v. 13, n. 22, p. 1140-1147, 2018.

YE, J.; WEN, B. Seed germination in relation to the invasiveness in spiny amaranth and edible amaranth in Xishuangbanna, SW China. **PLoS ONE**, v. 12, n. 4, e0175948, 2017.

#### **ARTIGO 1**

## METODOLOGIA PARA O TESTE DE GERMINAÇÃO E MORFOMETRIA DE SEMENTES DE DIFERENTES ESPÉCIES AMARANTHUS

## METHODOLOGY FOR THE GERMINATION TEST AND MORPHOMETRY OF DIFFERENT AMARANTHUS SEED SPECIES

Denilson Paulo da Rosa Mavaieie<sup>1\*</sup>, Douglas Correa de Souza<sup>1</sup>, Thaís Francielle Ferreira<sup>1</sup>, Valquíria de Fatima Ferreira<sup>1</sup>, Everson Reis Carvalho<sup>1</sup>, Renato Mendes Guimarães<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Agricultura, Campus universitário, 37200-000, Lavras, MG/Brasil. dmavaieie@gamil.com, douglascorrea@ymail.com, franthata@yahoo.com.br, ffval@yahoo.com.br, eversoncarvalho@ufla.br, renatomg@dag.ufla.br.

Versão preliminar com vista a submissão no periódico da Revista Brasileira de Ciências Agrarias

<sup>\*</sup> Author for correspondence: <u>dmavaieie@gmail.com</u>

#### **RESUMO:**

A germinação e a morfometria de sementes são aspectos importantes para a domesticação das espécies vegetais. Objetivou-se com o trabalho determinar a metodologia para o teste de germinação em diferentes temperaturas, substrato e morfometria de sementes de diferentes espécies de Amaranthus. As sementes foram submetidas ao teste de germinação disposto em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 2 x 6, constituído pelas combinações de quatro espécies (A. viridis L., A. retroflexus L., A. hybridus L. e Amaranthus sp.), dois substratos (papel e vermiculita) e seis temperaturas (15, 20, 25, 30, 15-25 e 20-30 °C). Foram avaliados os parâmetros: germinação, morfometria das sementes (GroundEye<sup>®</sup>, equipamento para captura e análise de imagem), peso de mil sementes, teor de água, análises por Raio-x e germinação acumulada. O teste de germinação pode ser conduzido à temperatura de 30 °C para as espécies A. viridis, A. hybridus, Amaranthus sp. e para o A. retroflexus à de 25 °C. O substrato de papel proporciona condições adequadas para a germinação das diferentes espécies de Amaranthus. A primeira contagem de germinação aos 5 dias e a contagem final do teste de germinação de sementes aos 12 dias. A morfometria de sementes varia entre as diferentes espécies do Amaranthus. Entretanto, as caraterísticas esferecidade e área proporcionam a diferenciação entre si.

Palavra - chaves: Caruru; Qualidade fisiológica; GroundEye<sup>®</sup>; PANC.

#### **ABSTRACT**

Germination and seed morphometry are important aspects for the domestication of plant species. The objective of the present study was to determine the methodology for the test germination at different temperatures, substrate and seed morphometry of different *Amaranthus* species. The seed was available in completely randomized a 4 x 2 x 6 factorial arrangement, consisting of the combinations of four species (*A. viridis* L., *A. retroflexus* L., *A. hybridus* L. and *Amaranthus* sp.), two substrates (paper and vermiculite) and six temperatures (15, 20, 25, 30, 15-25 and 20-30 °C). The following parameters were evaluated: germination, seeds morphometry (GroundEye<sup>®</sup>, equipment for image capture and analysis), weight of one thousand seeds, water content, x – ray analysis and accumulated germination. The germination test can

be conducted at a temperature of 30 °C for *A. viridis*, *A. hybridus*, *Amaranthus* sp. and for *Amaranthus retroflexus* at 25 °C. The paper substrate provides adequate conditions for germination of different species of *Amaranthus*. The first germination counts at 5 days and the final seed germination test count at 12 days Morphometry varies according to species. However, the characteristics of sphericality and area provide differentiation between them.

**Keywords**: Caruru; Physiological quality, GroundEye<sup>®</sup>, PANC.

#### INTRODUÇÃO

O gênero *Amaranthus* pertence à família Amarantaceae e contém cerca de 60 espécies, sendo dez nativas do Brasil. A característica mais marcante do gênero tem relação com as espécies que possuem potencial competitivo com diversas culturas (plantas invasoras), sendo comumente encontradas em áreas agricultáveis do Brasil, a exemplo do *A. viridis* (caruru-demancha), *A. spinosus* (caruru de espinho), *A. deflexus* (caruru rasteiro), *A. hybridus* (caruru roxo), *A. retroflexus* (caruru gigante) e *A. lividus* (caruru folha-de-cuia) (CARVALHO e CHRISTOFFOLETI, 2007; CARVALHO et al., 2008).

Atualmente esses vegetais se enquadram no grupo das hortaliças não convencionais (BRASIL, 2010; SILVA et al., 2018) e seu consumo ainda é incipiente. No entanto, o gênero é citado entre as 36 culturas mais promissoras para alimentar a humanidade (AMAYA-FARFÁN et al., 2005; FERREIRA et al., 2007; ZEHRING et al., 2015; JIMOH et al., 2018), e vem despertando interesse dos pesquisadores devido a suas propriedades nutricionais e funcional (COSTA; BORGES, 2005; CARVALHO; CHRISTOFFOLETI, 2007; SILVA et al., 2019).

Estudos têm sido realizado avaliando o conteúdo de DNA, número cromossômico, composição de aminoácidos, eficiência de absorção dos nutrientes, potencial nutricional, alimentar e econômico (SAMARTINI et al., 2016; SILVA et al., 2018; XAVIER et al., 2018; XAVIER et al., 2019), porém, existem poucos trabalhos na literatura sobre metodologias para a análise de sementes das espécies *A. viridis*, *A. retroflexus* e *Amaranthus* sp. (comercial), fato que pode ser comprovado através das Regras para Análise de Sementes, onde não há recomendação para o teste de germinação.

Para avaliação da qualidade de sementes o teste de germinação é de forma geral a mais empregada (BRASIL, 2009), sendo necessário que todas as condições sejam favoráveis, atendendo e considerando as características de cada espécie (GOMES et al., 2016).

Contudo, mesmo que pesquisas com tecnologia de semente continuam avançando, ainda existe muitos desafios a serem ultrapassados nestas diferentes espécies de *Amaranthus*, pois informações básicas como a caracterização morfológica, qualidade física, fisiológica e principalmente dificuldades na conservação e de germinação, são relevantes para auxiliar no conhecimento de sementes dessas espécies.

A análise de imagem vem se consolidando como uma técnica de método rápido e não destrutivo, empregando câmeras de alta precisão e eficiente na identificação da morfologia de sementes (ANDRADE et al., 2016).

O desenvolvimento de metodologias combinando as que já existem na regra para análise de sementes das diferentes espécies de Amaranthus pode proporcionar um avanço com as avaliações de substrato e temperaturas para cada, principalmente com a importância dessas espécies que podem ter um intenso cultivo.

As análises da morfometria são necessárias devido à importância dessas estruturas no processo de maturação fisiológica (AQUINO et al., 2009).

Considerando que o sucesso para o desenvolvimento de qualquer espécie com propagação sexuada depende principalmente da semente, pesquisas que estimulem a produção de sementes de qualidade para a completa domesticação do *Amaranthus*, são essenciais, principalmente quando se implementam novas metodologias de estudos que pretendem ajudar a complementares diferentes espécies para a regra para análise de sementes. Diante do exposto, objetivou-se com o trabalho determinar a metodologia para o teste de germinação em diferentes temperaturas, substratos e morfometria de sementes de diferentes espécies de *Amaranthus*.

#### MATERIAL E METÓDOS

As sementes foram obtidas da safra 2017/2018 da Coleção de Germoplasma de Hortaliças Não Convencionais da Universidade Federal de Lavras - UFLA, no Município de Lavras, em Minas Gerais (21°14'S, 45°00'W e altitude de 918 m). O clima da região é o Cwa (mesotérmico) com inverno seco e verão chuvoso, segundo a classificação de Köppen (ÁLVARES et al., 2013).

Para condução do experimento as sementes foram semeadas no campo em delineamento de blocos casualizados (DBC) com três repetições, sendo cada repetição um bloco. O efeito de bordadura foi considerado com finalidade de evitar a influência das parcelas vizinhas. Além disso, uma barreira física foi usada com a cultura do milho para evitar cruzamento entre

espécies, uma vez que podem ocorrer hibridizações interespecíficas nessas espécies, alterando suas características (OLUSANYA, 2017).

Foram utilizadas quatro espécies de *Amaranthus*: *A. viridis* L., *A. retroflexus* L., *A. hybridus* L. e *Amaranthus* sp. (espécie comercial). Os materiais foram identificados por meio de exsicatas pela EPAMIG (Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado de Minas Gerais), sendo gravado e incluído no Herbário EPAMIG de Minas Gerais (PAMG). O experimento foi semeado diretamente no campo, em um espaçamento de 0,5 m x 0,5 m, com uma densidade de 40.000 plantas por hectare, sem o uso de irrigação. Diante da análise do solo foi realizada a correção e adubação mineral, segundo recomendação de RIBEIRO et al. (1999) de *Amaranthaceas*.

O experimento foi conduzido nos períodos entre os meses de outubro a março. As colheitas foram realizadas de forma escalonadas de acordo com o ciclo de cada espécie, sendo que o *Amaranthus Hybridus* (106 dias), *Amaranthus viridis* (118 dias), *Amaranthus retroflexus* (120 dias) e *Amaranthus* comercial (137 dias) todos após a sementeira.

Após a colheita foi feita a secagem no secador e a debulha foi manual, para beneficiamento foi usado o soprador DeLeo<sup>®</sup> para a retirada de outras matérias inertes (Palha, pedra). Após isso, as sementes foram encaminhadas para o Laboratório Central de Sementes da UFLA e embaladas em papel kraft multifoliado e armazenadas em câmara fria (10 °C e 40% de umidade relativa do ar).

Após as avaliações laboratoriais os dados foram analisados em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com três repetições mantidas do experimento de campo, em esquema fatorial 4 x 6 x 2, sendo avaliado quatro espécies de *Amaranthus*; cinco temperaturas de germinação (15 °C, 20 °C, 25 °C, 30 °C, 20-30 °C, e 15-25 °C; e dois substratos (vermiculita e papel). As avaliações foram: teor de água, peso de mil sementes, teste de germinação, teste de análise de Raios-X e morfometria por análise de imagens utilizando o software GroundEye<sup>®</sup>.

O teor de água foi realizado pelo método da estufa em temperatura a 105 °C durante 24 horas de acordo com as Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009). Foram utilizadas duas repetições de 100 sementes, para cada tratamento acondicionadas em recipientes de alumínio. Os resultados foram expressos em porcentagem (%) média com base no peso úmido.

Para o peso de mil sementes foi separada uma amostra de trabalho com oito repetições de 100 sementes pesadas em balança de precisão. As sementes foram contadas manualmente e

as repetições foram pesadas em balança de precisão, sendo os resultados expressos em gramas (g) (BRASIL, 2009).

No teste de germinação foram utilizadas duas subamostras de 100 sementes para cada parcela de campo, conduzido em caixas gerbox sobre o papel mata borrão, umedecido com 2,5 vezes o peso do substrato em água destilada mantidas em câmara do tipo B.O.D, com fotoperíodo sob condições de luz e escuro de 12/12. Foram avaliadas quatro temperaturas constantes (15, 20, 25 e 30 °C) e duas temperaturas alternadas (15-25 °C e 20-30 °C), a porcentagem de plântulas normais foi contabilizada diariamente para calcular a velocidade de germinação conforme MAGUIRE (1962). Apesar de algumas espécies estudadas não estarem catalogada nas Regras para Análise de Sementes (2009), as avaliações das plântulas foram realizadas com base nas prescrições para as espécies do mesmo gênero, contidas nas Regras de Análise de sementes.

Para a melhor temperatura de germinação, aplicou-se a análise de regressão aos dados acumulados de plântulas normais das quatro espécies estudadas, visando obter o número de dias necessário para a primeira contagem (t<sub>0</sub>) e contagem final para o teste de germinação (TOMAZ et al., 2016; AFFONSO et al., 2018), definida neste trabalho como o tempo necessário para obtenção da máxima porcentagem de germinação. Para descrever a relação entre a germinação (%G) e o tempo de germinação (t) foi aplicada a equação 1.

$$G(\%) = G_0 + \frac{a}{1 + e^{\left(-\frac{t - t_0}{b}\right)}}$$
 (1)

em que: G (%) - porcentagem de germinação no tempo t; % $G_0$  - porcentagem inicial de germinação; a - porcentagem máxima de germinação; t - número de dias após a montagem do teste de germinação;  $t_0$  - número de dias para atingir a metade da porcentagem máxima germinação; b - descreve uma constante de tempo.

As análises de Raios-X foram utilizadas para verificar a proporção de sementes cheias, sementes vazias, além de poder detectar danos na formação da semente. O procedimento foi realizado utilizando quatro repetições com 50 sementes, e as sementes foram classificadas em cheias e vazias, sendo os dados apresentados em porcentagem.

As características biométricas, circularidade, diâmetro, perímetro e espessura das sementes foram aferidas por meio da captura de imagem semi - automatizada do GroundEye<sup>®</sup> S800. Para essa análise foram utilizadas quatro repetições com 50 sementes cada. Para a captura das imagens foi utilizada a versão S120, composta por um módulo de captação que possui uma bandeja de acrílico e uma câmera de alta resolução e um software integrado para avaliação. As

sementes foram inseridas na bandeja do módulo de captação para a obtenção de imagens de alta resolução. Na configuração da análise para a calibração da cor de fundo foi utilizado o modelo de cor CIELab com índice de luminosidade de 0 a 100, dimensão "a" -13,9 a 46,1 e dimensão "b" de -57,1 a -40,6. Depois da calibração da cor do fundo foi realizada a análise das imagens.

Após a transformação dos dados  $\sqrt{x+1}$ , os resultados foram analisados com observações de médias e desvio padrão, e as médias foram submetidas à análise de variância (ANAVA). As médias foram comparadas pelo teste de Scott e Knott (1974) com auxílio do software SISVAR  $^{\otimes}$  a 5% de probabilidade (FERREIRA, 2019).

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise de variância (ANAVA) não houve diferença significativa entre as espécies para variável teor de água das sementes, com média de 12,81 (± 0,48) %, conforme apresentado na Tabela 1. De acordo com Carvalho e Nakagawa (2012), o menor teor de água na semente favorece a conservação de sua viabilidade durante o armazenamento.

Tabela 1. Teor de água inicial em porcentagem (%) e peso de mil sementes em gramas (g) das diferentes espécies de *Amaranthus*.

Espécies	Teor de água (%)	Peso de mil sementes (g)
Amaranthus viridis	13,02 a	0,33 c
Amaranthus hybridus	12,38 a	0,39 b
Amaranthus sp.	12,45 a	0,62 a
Amaranthus retroflexus	13,40 a	0,30 d
CV (%)	21,14	7,51

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott (p < 0.05).

O teor de água das sementes está diretamente ligado a qualidade fisiológica, por isso é importante a determinação do teor de água do lote de sementes, assim como diversos outros aspectos relacionados à qualidade de sementes são influenciados pelo teor de água.

Para a variável peso de mil sementes houve diferença entre espécies, sendo que *Amaranthus* sp. (comercial) apresenta maior peso com 0,62 g, o que permite afirmar que 1 grama contém aproximadamente 1.600 sementes, enquanto que *Amaranthus retroflexus* apresenta o menor tamanho de sementes entre as espécies estudadas (0,30 g), ou seja, aproximadamente 3.300 sementes a cada 1 grama (Tabela 1).

As diferentes espécies de sementes de Amaranthus possuem tamanhos distintos e, consequentemente, diferenças no peso. Vale ressaltar que as espécies comerciais oriundas de programas de melhoramento genético, geralmente, apresentam sementes de maior tamanho e coloração clara, como observado por Costa e Dantas (2009) ao trabalhar com a variedade BRS Alegria, um híbrido originado do *A. cruentus* AM 5189, com peso de 0,70 g para mil sementes.

Por meio do GroundEye® (Figura 1) foi possível caracterizar a biometria das diferentes espécies de sementes de Amaranthus, sendo que para a caraterística circularidade (*A. Viridis*), diâmetro máximo (*A. hybridus*), diâmetro mínimo (Amaranthus sp.) estas espécies diferiram das demais. Assim, para a variável o perímetro não foi possível distinguir as espécies entre si e que os parâmetros esferecidade e área foram as que apresentaram maior variação entre as espécies.

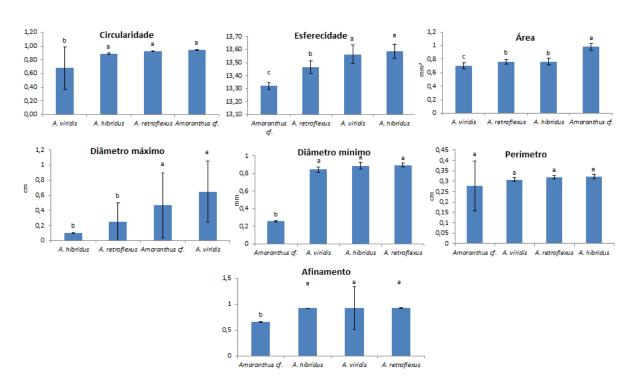


Figura1. Geometria das sementes de diferentes espécies *Amaranthus*, mensurado pelo GroundEye®.

\*Médias seguidas de mesmas letras não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott e Knott (p<0,05)

Com relação à característica esferecidade (Figura 1), as espécies *A. viridis* e *A. hybridus* não apresentaram diferenças significativa entre si. No entanto, as médias obtidas foram muito próximas, os quais diferiram das demais espécies. Não houve diferença

significativa no perímetro para ambas as espécies, o que evidencia a semelhança dessa característica quando comparada as outras.

Pinto et al. (2003) destacam que a caracterização de sementes por biometria tem importância na taxonomia, para a identificação de variedades bem como a ocorrência de variações fenotípicas.

Mendes (2014) avaliando a biometria das sementes de *Amaranthus cruentus* cv. BRS Alegria verificou uma variação nos parâmetros avaliados, pois as medições foram realizadas com o auxílio de paquímetro e houve dificuldade na padronização das medidas do tamanho das menores sementes, ou seja, possíveis erros

Com relação a característica de área (Figura 1), o Amaranthus sp., apresentou médias que foram diferenciadas nas demais espécies. Por outro lado, para o *Amaranthus retroflexus* e *hybridus* apresentaram médias iguais. Assim, observou-se um comportamento diferente entre as espécies devido a algumas particularidades no desenvolvimento da cor da inflorescência, ao mesmo tempo que, devido a essa variação é possível inferir a dominância da coloração, e também demonstrou se ser suficiente para a distinção das mesmas.

Andrade (2007) utilizando lupa (Leica EZ4 HD) observou o formato e as semelhanças nas espécies de *A. cruentus*, *A. viridis* e *A. spinosus*, fato este observado na figura 1 com as espécies *A. viridis*, *A. hybridus* e *A. retroflexus* para os parâmetros afinamento, diâmetro mínimo e circularidade, que as médias não diferiram entre si.

Lima et al. (2018) caracterizando a qualidade de sementes de *Bowdichia virgilioides*, com auxílio da lupa e software Groundeye®, observaram resultados eficientes usando a técnica de análise de imagens (Groundeye®), inferindo que para sementes menores esta técnica pode ser uma boa ferramenta.

Contudo, o equipamento GroundEye® pode ser utilizado na distinção de espécies de diferentes sementes de Amaranthus dependendo dos parâmetros área, esferecidade.

Com relação à germinação das sementes, constata-se efeito significativo da interação entre os fatores estudados (espécies x substratos x temperatura), sendo apresentado o desdobramento na Tabela 2.

A espécie *A. viridis* no substrato de papel apresenta as maiores porcentagens de germinação nas temperaturas de 30 ° C e nas faixas de 15 - 20 ° C e 20 - 30 ° C, com média de 51,77 (±5,09) %; no substrato vermiculita não houve diferença de germinação entre as temperaturas avaliadas, com média de 41,63 (±7,54) %.

Tabela 2. Germinação de sementes de diferentes espécies de Amaranthus avaliados em diferentes temperaturas (15; 20; 25; 30; 15-20; 20-30°C) e substratos (papel e vermiculita).

Temp.	Espécies											
	A. •	viridis	A. h	ybridus	Amara	inthus sp.	A. retroflexus					
	Substratos											
	Papel Vermiculita		Papel	Vermiculita	Papel Vermiculita		Papel	Vermiculita				
15	38,83aB <sup>a</sup>	33,50aA <sup>a</sup>	45,50aB <sup>a</sup>	39,16aB <sup>a</sup>	6,33bC <sup>a</sup>	2,66bB <sup>a</sup>	44,00aA <sup>a</sup>	21,83aA <sup>b</sup>				
20	30,83aB <sup>a</sup>	38,00aA <sup>a</sup>	41,16aB <sup>a</sup>	47,16aB <sup>a</sup>	11,50bC <sup>a</sup>	18,00bB <sup>a</sup>	42,50aA <sup>a</sup>	22,33bA <sup>b</sup>				
25	32,83bB <sup>a</sup>	34,33bA <sup>a</sup>	56,16aB <sup>a</sup>	55,50aB <sup>a</sup>	40,00bB <sup>a</sup>	15,16cB <sup>b</sup>	50,00aA <sup>a</sup>	7,16cB <sup>b</sup>				
30	56,66cA <sup>a</sup>	48,16aA <sup>a</sup>	94,66aA <sup>a</sup>	54,00aB <sup>b</sup>	71,66bA <sup>a</sup>	52,33aA <sup>a</sup>	31,83dB <sup>a</sup>	26,83bA <sup>a</sup>				
15-25	52,16bA <sup>a</sup>	51,83bA <sup>a</sup>	91,00aA <sup>a</sup>	82,16aA <sup>a</sup>	14,66cC <sup>b</sup>	58,83bA <sup>a</sup>	26,33cB <sup>a</sup>	31,66cA <sup>a</sup>				
20-30	46,50cA <sup>a</sup>	44,00bA <sup>a</sup>	87,00aA <sup>a</sup>	66,16aA <sup>b</sup>	62,66bA <sup>a</sup>	70,16aA <sup>a</sup>	31,16cB <sup>a</sup>	24,83cA <sup>a</sup>				

Letras minúsculas nos mesmos substratos nas linhas; Letras maiúsculas dentro de cada substrato nas colunas; Letras minúsculas sobrescrita nas mesmas temperaturas e espécies; não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott e Knott (p<0,05).

Em *A. hybridus* a germinação no substrato de papel também foi maior na temperatura de 30 ° C, e as faixas de 15 - 25 ° C e 20 - 30 ° C, com média de 90,88 (±3,83) %; já no substrato com vermiculita as faixas de 15 - 25 ° C e 20 - 30 ° C apresentaram maior desempenho de germinação e não diferem entre si, com média de 74,16 (± 11,31) %. Enquanto que, entre os substratos e nas mesmas temperaturas não houve diferenças de germinação, exceto para temperatura de 30 ° C e a faixa de 20 - 30 ° C, onde no papel, houve aumento de germinação de 42,95% e 23,95% respectivamente em relação à vermiculita.

Na espécie comercial (*Amaranthus* sp.) no substrato de papel observa-se os maiores valores de germinação nas temperaturas de 30 ° C e 20 - 30 ° C, que não diferiram entre si com média de 67,16 (±6,36) %; na vermiculita a maior germinação ocorreu nas temperaturas de 30 ° C e nas faixas de 15-20 ° C e 20 - 30 ° C, com média 60,44 (±9,02) %. Entre substratos nas mesmas temperaturas foi observado que houve diferença em 25 ° C, sendo que no substrato de papel houve acréscimo de germinação de 62,10% em relação ao substrato vermiculita, no entanto, na faixa de 15 -20 ° C no substrato com vermiculita houve aumento de 75,08% de geminação, comparado ao substrato em papel.

O comportamento em *A. retroflexus* foi diferente das demais espécies estudadas, sendo que no substrato de papel as maiores porcentagens de germinação foram observadas nas temperaturas de 15 ° C, 20 ° C e 25 ° C com média de 45,50 (±3,96) %. No substrato com vermiculita foi observado que em 25 ° C houve baixa germinação (7,16%), enquanto que não

houve diferença nas demais temperaturas avaliadas, com média de 25,49 (±3,99) %. Entre substratos nas mesmas temperaturas houve diferença em 15 ° C, 20 ° C e 25 ° C sendo que no substrato de papel aumentou 50,38, 47,45 e 85,68% respectivamente, comparado a vermiculita.

Comparando as espécies entre substratos e nas diferentes temperaturas inferiu-se que em 15 ° C, independente do substrato, em *Amaranthus* sp. observou-se a menor germinação, média de 4,49 (±2,59) %. Em 20 ° C em substrato de papel *Amaranthus* cf. também apresentou a menor germinação, 69,86% inferior às demais espécies, entretanto, no substrato com vermiculita, além do *Amaranthus* cf. a espécie *A. retroflexus* também teve a menor germinação.

Na temperatura de 25 ° C, independente do substrato, *A. hybridus* apresentou o melhor desempenho germinativo, com média de 55,16 (±0,46) %, e no substrato de papel em 30 ° C, 15-20 ° C e 20-30 ° C essa espécie também germinou em maior porcentagem, comparado às demais espécies.

Entretanto na temperatura 30 ° C o substrato de vermiculita a germinação no *A. viridis*, *A. hybridus* e *Amaranthus* sp. não diferiram entre si com maior germinação, média de 51,49 (±3,00) %. Na faixa de temperatura entre 15 - 20 ° C *A. hybridus* teve maior germinação (82,16%), seguido das espécies *Amaranthus* sp. e *A. viridis* 55,33 (±4,94) %. Já na faixa de 20 - 30 ° C, *Amaranthus* sp. e *A. hybridus* foram às espécies com maior germinação 68,16 (±2,82) %.

Nas regras para a análise se sementes (Brasil, 2009) vigentes no Brasil observaram que as espécies usadas corroboram com o presente trabalho, em que as espécies *Amaranthus* cruentus, A. tricolor, A. caudatus e A. hybridus apresentaram bom desempenho de germinativo na temperatura com faixa de 20 - 30 e 20 °C, e no substrato de papel. Segundo Bewley et al. (2013), a faixa ideal ou ótima da temperatura proporcionam melhores valores da porcentagem de germinação.

Barros et al. (2017), verificaram que temperaturas mais altas ou mais baixas do que as ideais tendem a reduzir a velocidade do processo de germinação, expondo as sementes a fatores climáticos adversos por um período mais longo, fato este que foi verificado neste trabalho, nas temperaturas de 15, 20 e 25 °C, com exceção da espécie *Amaranthus retroflexus*.

Na análise de imagem usando o teste de Raios-x (Tabela 3) dentre as combinações de potência testadas, foi selecionada a combinação de 30kv, que proporcionou melhor visualização das diferentes espécies de sementes de Amaranthus. Devido à semelhança morfológica entre as sementes das espécies a combinação 30kv foi eficiente para a verificação das estruturas internas

da formação de sementes e dos danos. A análise do Raios-x, identifica dentro da semente as estruturas da semente cheia, danos mecânicos e sementes malformadas ou imaturas.

As sementes de *Amaranthus viridis*, *hybridus* e *sp.*, apresentaram maior porcentagem de sementes cheias da categoria sem danos, que proporcionaram em maior porcentagem de plântulas normais e menor porcentagem de sementes vazias. Entretanto, para o *Amaranthus retroflexus* foi observado maior quantidade de sementes vazias (37,18 g), o que pode ser associado com a germinação de sementes, onde foi observada baixa germinação nessa espécie (Tabela 3).

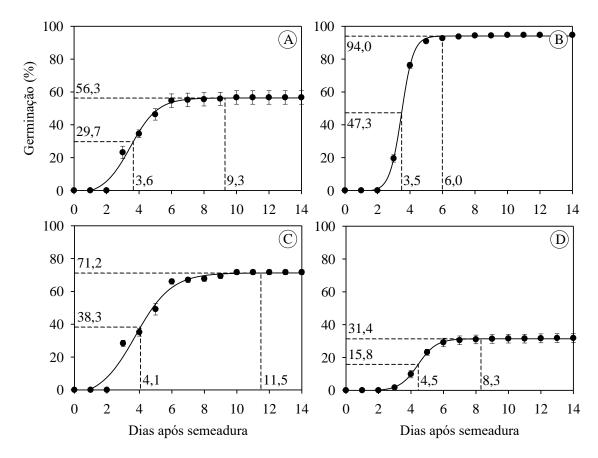
**Tabela 3**: Sementes das espécies de *Amaranthus* spp., avaliadas pelo teste de Raios-X.

Espécies	Sementes cheias (%)	Sementes vazias (%)
A. viridis	96,50 a	3,50 b
A. hybridus	99,32 a	0,68 b
Amaranthus sp.	99,50 a	0,50 b
A. retroflexus	62,82 b	37,18 a
CV (%)	9,65	22,63

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott (p < 0.05).

Para as espécies *A. viridis* e *A. retroflexus* foi observada pela análise de raio-x sementes presença de sementes vazias. O teste de raio-x permite mostrar a eficácia da análise para auxiliar na identificação da qualidade do lote e na detecção de sementes infestadas, para contribuir na tomada de decisão e conservação das sementes (Carvalho et al., 2009).

Em relação à velocidade de germinação para determinação da primeira contagem e contagem final, de acordo com a Figura 2, foi observado que a estabilização do período de germinação varia para cada espécie, sendo que ocorrem entre 6,0; 8,3; 9,3; e 11,5 dias após a semeadura em *A. hybridus*, *A. retroflexus*, *A. viridis* e *Amaranthus* cf. (comercial), respetivamente. Esses resultados foram diferentes das prescrições das regras para análise de sementes - RAS, (Brasil, 2009), para determinadas espécie de *Amaranthus* que determina o período de 14 dias para contagem final.



**Figura 2:** Ponto de estabilização da germinação das sementes das diferentes espécies de *Amaranthus* submetidos a diferentes temperaturas (A) *A. viridis*, (B) *A. hybridus*, (C) *Amaranthus* cf. (comercial) e (D) *A. retroflexus*.

Em relação à contagem final do número de dias prescritas no teste de germinação para espécies descritas nas regras para a análise de sementes (Brasil, 2009), é estabelecido um valor aproximado de 14 dias, a exemplo das seguintes espécies: *A. caudatus*, *A. cruentus*, *A. paniculatus* e *A. tricolor*, entretanto, de acordo com o presente trabalho (Figura 2), sugere que para as diferentes espécies de sementes de Amaranthus, a contagem final seja feita em 12 dias logo após a semeadura, independentemente do substrato ou temperatura.

Costa e Dantas (2009) trabalhando com sementes de *Amaranthus* spp., relataram que os resultados do teste padrão de germinação das espécies podem ser reduzidos, para 11 e 12 dias, corroborando com este estudo.

Segundo Tomaz et al. (2016), a ocorrência da diminuição de estabilização do teste de germinação pelo período recomendado nas regras para a análise de sementes (Brasil, 2009), teria impacto positivo econômico, o que significa uma menor redução do tempo necessário para

a avaliação do teste de germinação em laboratórios e para a tomada de decisões das empresas produtoras de sementes.

A primeira contagem de germinação aos 4 e 5 dias, corrobora com os resultados recomendados para as outras espécies de *Amaranthus*, aos 5 dias nas regras para a análise de sementes (BRASIL, 2009). Para a primeira contagem das sementes das diferentes espécies, observa-se que a assimetria da distribuição, pode mostrar que a heterogeneidade é devida a grande maioria das sementes que demoram para germinar ou a uma minoria de sementes que germinam rapidamente (ou devida a ambos os casos), dependendo da temperatura ou substrato para cada espécie. Fato semelhante foi observado por Lopes e Franke (2011) trabalhando com *Lotus corniculatus* L. que apresentam pequenas sementes, com características similares ao *Amaranthus* spp.

A velocidade de germinação e a contagem final do teste de germinação não foram afetadas para todas as espécies de sementes e regimes de temperatura, como mostrado pela não significância dos valores dos parâmetros mostrados na Tabela 4 e pela semelhança entre as curvas quanto à sua inclinação (Figura 2).

**Tabela 4:** Coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e parâmetros ( $G_0$ , a,  $t_0$  e b) do modelo ajustado na germinação média acumulada de sementes de diferentes espécies de *Amaranthus*.

Espécie	$\mathbb{R}^2$	$G_0$	a	$t_0$	b
A. viridis	0,765	-3,130 <sup>ns</sup>	59,475 **	3,473 **	0,836 *
A. hybridus	0,993	-0,550 <sup>ns</sup>	94,642 **	3,478 **	0,364 **
Amaranthus cf.	0,922	-5,323 ns	76,596 **	3,761 **	1,106 **
A. retroflexus	0,781	-0,251 <sup>ns</sup>	31,665 **	4,433 **	0,561 *

<sup>\*\*</sup> Significativo pelo teste t (p < 0,01); <sup>ns</sup> Não significativo; % $G_0$  - porcentagem inicial de germinação; a - porcentagem máxima de germinação; t - número de dias após a montagem do teste de germinação; t<sub>0</sub> - número de dias para atingir a metade da porcentagem máxima germinação; b - descreve uma constante de tempo.

Com base no coeficiente de determinação (Tabela 4), verificou-se que as espécies *Amaranthus retroflexus* e *Amaranthus viridis*, ambas as funções tiveram R<sup>2</sup> abaixo de 0,90 e *Amaranthus hybridus* e *Amaranthus* sp. (comercial) acima de 0,90, ou seja, mais de 90% da variável resposta é explicada pelo modelo.

Para a modelagem (Tabela 4) foi observado que a temperatura de 30 °C pela germinação acumulada das diferentes espécies de *Amaranthus* culminou com uma rápida germinação em relação as demais espécies, permitindo a redução da contagem final das espécies (Figura 2), sendo este um fator de ganho de tempo para pesquisa.

O modelo ajustado verificou significância na correlação dos dados quando as diferentes espécies atingirem a máxima porcentagem de germinação.

## CONCLUSÃO

O teste de germinação pode ser conduzido à temperatura de 30 °C para as espécies *A. viridis*, *A. hybridus*, *Amaranthus* cf (Amaranthus sp.) e para o *A. retroflexus* a de 25 °C.

O substrato de papel proporciona condições adequadas para a germinação das diferentes espécies de sementes de Amaranthus.

A primeira contagem de germinação aos 5 dias e contagem final do teste de germinação de sementes aos 12 dias para as diferentes espécies de Amaranthus.

A morfometria de sementes varia consoante as diferentes espécies do *Amaranthus*. Entretanto, as caraterísticas esferecidade e área proporcionam a diferenciação entre si.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFFONSO, C. E; SILVA, G. Z; JEROMINI, T. S; MARTINS, C. C; Germination test of *Eucalyptus phaeotricha* seeds. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental.** v.22, n.9, p.653-657, 2018.

ÁLVARES, C.A.; STAPE, J.L.; SENTELHAS, P.C.; GONÇALVES, J.L.M.; SPAROVEK, G. Koppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n.6, p.711-728. 2013.

AMAYA-FARFÁN, J.; MARCÍLIO, R.; SPEHAR, C. R. Deveria o Brasil investir em novos grãos para sua alimentação? A proposta do Amaranto (*Amaranthus* sp.). **Segurança Alimentar e Nutricional,** v. 12, n. 1, p. 47-56, 2005.

ANDRADE, D. B.; OLIVEIRA, A. S.; PINTO, C. A. G.; PIRES, R. M. O.; OLIVEIRA, A. S. O.; SILVA, M. A.; CARVALHO, M. L. M. Detection of green seeds in soybean lots by the seed analysis system (SAS). **International Journal of Current Research**, vol. 8, p. 26462-26465. 2016.

AQUINO N. F. Morfometria de sementes de Jatropha curcas L. em função da procedência. **Revista de Ciências Agroveterinárias**; v. 8, n. 2, p. 142-145, 2009.

BARROS, R. T.; MARTINS, C. C.; SILVA, G. Z.; MARTINS, D. Origin and temperature on the germination of beggartick seeds. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.21, p.448-453, 2017.

BEWLEY, J. D., BRADFORD, K. J., HILHORST, H. W. M., AND NONOGAKI, H. Seeds: Physiology of Development, Germination and Dormancy. New York, NY: **Springer**. P. 392. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Hortaliças Não Convencionais** (Tradicionais). Brasília, 54 p.8. 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, p.399. 2009.

BURG, W. J.; ARTESE, J.W.; ZOWL, R. A.; JALINK, H.; BINO, R. J. Predicting tomato seedling morphology by X-ray analysis of seeds. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 119, n. 2, p. 258-263, 1994.

CARVALHO, L. R; CARVALHO, M. L. M; DAVID, A. C. Utilização do teste de Raios-X na avaliação da qualidade de sementes de espécies florestais de lauraceae. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 4, p. 057-066, 2009.

CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 5.edição. Jaboticabal: FUNEP. p. 590. 2012.

- CARVALHO, S. J. P.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Estimativa da área foliar de cinco espécies do gênero Amaranthus usando dimensões lineares do limbo foliar. **Planta Daninha**, v. 25, p. 317-324. 2007.
- CARVALHO, S. J. P.; LÓPEZ-OVEJERO, R. F.; CHRISTOFFOLETI, P. J. Crescimento e desenvolvimento de cinco espécies de plantas daninhas do gênero Amaranthus. **Bragantia**, v. 67, n. 2, p. 317- 326, 2008.
- COSTA, D. M. A.; DANTAS, J. Efeitos do substrato na germinação de sementes de amaranto (Amaranthus spp). **Revista Ciência Agronômica**, v. 40, n. 4, p. 498–504, 2009.
- COSTA, D. M. A.; BORGES, A. S. Avaliação da produção agrícola do Amaranto (Amaranthus hypochondriacus). **Holos,** v. 21, p. 97-111, 2005.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects Split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v.37, n. 4, p.529-535, 2019.
- FERREIRA, T.A.P. C.; MATIAS, A.C G.; ARÊAS, J.A.G. Características nutricionais e funcionais do Amaranto (Amaranthus spp.). **Nutrire: revista da Sociedade Brasileira alimentação e Nutrição**, v. 32, n. 2, p. 91-116, 2007.
- JIMOH, M. O.; AFOLAYAN, A. J.; LEWU, F. B. Suitability of Amaranthus species for alleviating human dietary deficiencies. **South African Journal of Botany**, v. 115, p. 65-73, 2018.
- LIMA, J. M. E; SMIDERLE, O. J; OLIVEIRA, J. A; CARVALHO, M. L. M. Técnicas de análise de imagem para caracterização da qualidade de sementes de paricarana (Bowdichia virgilioides Kunth). **Ciência Florestal**, v. 28, n. 3, p. 1202-1216, 2018.
- LOPES, R. R; FRANKE, L. B. Aspectos térmico-biológicos da germinação de sementes de cornichão anual sob diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.40, n.10, p.2091-2096, 2011.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seeding emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.2, p.76-177, 1962.
- MENDES, L. D. Maturação fisiológica em amaranto (Amaranthus cruentus L.). 2014.
- OLUSANYA AC. A multi-species assessment of genetic variability in Nigerian Amaranthus accessions: potential for improving intra-and interspecies hybridization breeding. **Archives of Agronomy and Soil Science**. v. 64, n. 5, P. 612-625, 2017.
- PINTO, W. S.; DANTAS, A. C. V. L.; FONSECA, A. A. O.; LEDO, C. A. S.; JESUS, S. C.; CALAFANGE, P. L. P.; ANDRADE, E. M. Caracterização física, físico-química e química de frutos de genótipos de cajazeiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 9, p. 1059-1066, 2003.
- RIBEIRO, A. C.; GUIMARÃES, P. T. G.; ALVAREZ, V. H. Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5º Aproximação. Comissão de fertilidade do solo do estado de Minas Gerais, p. 322, 1999.

- SAMARTINI, C. Q.; Resende, L. V.; TECHIO, V. H.; BRAZ, G. T.; SILVA, L. F. L.; RESENDE, K. F. M. Número cromossômico e conteúdo de DNA nuclear em espécies do gênero Amaranthus (Amaranthaceae). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 8, p. 998-1001, 2016.
- SCOTT, A.; KNOTT, M. Cluster-analysis method for grouping means in analysis of variance. **Biometrics**, v. 30, n.3, p. 507-512, 1974.
- SILVA, L. F.; SOUZA, D. C.; RESENDE, L. V.; NASSUR, R. C. M. R.; SAMARTINI, C. Q.; GONÇALVES, W. M. Nutritional Evaluation of Non-Conventional Vegetables in Brazil, **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 2, p.1775-1787, 2018.
- SILVA L. F.; SOUZA, D. C.; XAVIER, J. B.; SAMARTINI, C. Q.; RESENDE, L. V. Avaliação nutricional de caruru (*Amaranthus* spp). **Agrarian**, v. 12, n. 45, p. 411-417, 2019.
- TOMAZ, C. A; MARTINS, C. C; SILVA, G. Z.; VIEIRA, R. D. Period of time taken by *Brachiaria humidicola* (Rendle) Scheweick seed to complete germination. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 2, p. 693-700, 2016.
- XAVIER, J. B.; SOUZA, D. C.; DE SOUZA, L. C.; GUERRA, T. S.; RESENDE, L. V.; PEREIRA, J. Nutritive potential of amaranth weed grains. **African Journal of Agricultural Research**, v. 13, n. 22, p. 1140-1147, 2018.
- XAVIER, J. B; CASTRO, D. G; SILVA, D. M; ABREU, R. A. A; SOUZA, D. C; SILVA, M. L. S. Eficiência de absorção de nutrientes em *Amaranthus* spp, **Magistra**, n. 30, n.1, p. 199 210, 2019. ISSN 2236 4420.
- ZEHRING, J.; REIM, V.; SCHRÖTER, D.; NEUGART, S.; SCHREINER, M.; ROHN, S.; MAUL, R. Identification of novel saponins in vegetable amaranth and characterization of their hemolytic activity. **Food Research International**, v. 78, p. 361-368, 2015.

#### **ARTIGO 2**

# CARACTERIZAÇÃO POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO DE SEMENTES E ÓLEO DE DIFERENTES ESPÉCIES DE *AMARANTHUS* EM FUNÇÃO DOS SISTEMAS DE CULTIVOS.

# CHARACTERIZATION BY NEAR INFRARED SPECTROSCOPY OF SEEDS AND OILS OF DIFFERENT SPECIES OF AMARANTHUS AS A FUNCTION OF CROPPING SYSTEMS.

Denilson Paulo da Rosa Mavaieie<sup>1\*</sup>, Fernanda Maria Guedes Ramalho<sup>1</sup>, Luciane Vilela Resende<sup>1</sup>, Thaís Francielle Ferreira<sup>1</sup>, Douglas Correa de Souza<sup>1</sup>, Valquiria de Fatima Ferreira<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Agricultura, Campus universitário, 37200-000, Lavras, MG/Brasil. dmavaieie@gmail.com, fernandaguedesrm@hotmail.com, luciane.vilela@dag.ufla.br, franthata@yahoo.com.br, douglascorrea@ymail.com, ffval@yahoo.br

\* Author for correspondence: dmavaieie@gmail.com

Versão preliminar com vista a submissão no periódico da Revista Ciência Agronômica

#### **RESUMO**

Espécies do gênero Amaranthus possuem inúmeras versatilidades e potencial de aplicação no desenvolvimento de produtos comerciais. A espectroscopia no infravermelho próximo é uma ferramenta eficiente que pode auxiliar no controle de qualidade dos produtos e na identificação correta das espécies, de forma rápida. Objetivou-se com o presente estudo, realizar a distinção de sementes e óleos de diferentes espécies de Amaranthus, utilizando a espectroscopia no infravermelho próximo. Foram utilizadas três espécies: A. viridis L., A. hybridus L. e Amaranthus sp. (comercial). Os espectros adquiridos nas amostras utilizando a espectroscopia no infravermelho próximo foram submetidos à análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) e a análise de componentes principais (PCA). Por meio da PCA tanto para a semente, quanto para o óleo, foi possível diferenciar as diferentes espécies de Amaranthus. Pela PLS-DA foi possível à predição das classes das espécies com alto grau de classificação correta, sendo que obteve 96,67% de classificações corretas para as sementes e 98,89% para o óleo. Portanto, conclui-se que com a utilização da espectroscopia no infravermelho próximo associada à análise estatística multivariada é possível classificar as diferentes espécies de Amaranthus, principalmente ao utilizar o óleo.

Palavras-chaves: Hortaliça não convencional, NIR, PLS-DA, PCA.

#### **ABSTRACT**

Species of the genus *Amaranthus* genus have numerous versatility and potential for application in the development of commercial products. Near-infrared spectroscopy is an efficient tool that can assist in quality control of products and in the correct identification of species, quickly. The aim of this study was to distinguish between seeds and oils of different species of *Amaranthus*, using near infrared spectroscopy. Three species were used: *A. viridis* L., *A. hybridus* L. and Amaranthus sp. (commercial). The spectra acquired in the samples using near infrared spectroscopy were subjected to discriminant analysis by partial least squares (PLS-DA) and principal component analysis (PCA). Through PCA for both seed and oil it was possible to differentiate the different species of Amaranthus. By PLS-DA it was possible to predict the classes of species with a high degree of correct classification, obtaining 96.67% of correct classifications for seeds and 98.89% for oil. Therefore, it is concluded that with the use of

spectroscopy in the near infrared associated with multivariate statistical analysis it is possible to classify the different species of Amaranthus, mainly when using the oil.

**Keywords**: unconventional vegetables, NIR, PLS-DA, PCA.

# INTRODUÇÃO

O gênero *Amaranthus* contém cerca de 70 espécies (Singh, 2017), apresenta características favoráveis para alimentação humana (Quini, 2013), além de boa adaptabilidade a condições climáticas adversas (PARVEEN *et al.*, 2014).

O alto valor nutricional das sementes de *Amaranthus* spp., o seu benefício nutricional e funcional (SILVA *et al.*, 2018; XAVIER *et al.*, 2018; XAVIER *et al.*, 2019a), o potencial para prevenção de doenças (MIR *et al.*, 2018), e para a alimentação em alguns países em desenvolvimento (SHUKLA. *et al.*, 2018), faz com que aumente o interesse das pesquisas com o gênero.

Pesquisas vêm surgindo com novas tecnologias e ferramentas para auxiliar no controle da qualidade dos produtos, por exemplo, a espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) que é uma ferramenta usada na análise qualitativa e quantitativa desses materiais (LIMA; BAKKER, 2011).

Pela técnica NIR realiza-se análise não destrutiva de múltiplas características num tempo relativamente curto (AGELET et al., 2012), com ampla aceitação em diferentes campos, a ferramenta tem capacidade de gravar espectros de amostras sólidas e líquidas, com pouco prétratamento ou nenhum, permite que várias estimativas de qualidade sejam executadas dentro de um ciclo de produção (XIAOBO et al., 2010).

O cultivo de diferentes espécies de *Amaranthus* pode proporcionar a comunidade em países de baixa renda, ganhos na economia, saúde e conservação das áreas de pastagens (prevenção da erosão). Sendo que existem espécies com caraterísticas interessantes, resistências ao estresse hídrico, plantas rusticas, sementes com diferentes colorações e produtividade.

A escolha do sistema de cultivo pode proporcionar melhores características químicas nos óleos e sementes de diferentes espécies de *Amaranthus*, com a finalidade de contribuir de forma direta na prevenção de doenças (farmacêutica) e na alimentação humana (nutricional). Determinados trabalhos vêm sendo desenvolvidos mostrando que é viável utilizar o NIR, associado à análise multivariada, propondo novas metodologias para identificar ou classificar variedades de sementes, óleos, carvões e predizer a composição química de amostras.

O uso desta técnica permitiu a distinção entre óleos vegetais de canola, azeite e soja (SOUZA & POPPI, 2012), discriminação de frutos intactos de açaí e juçara (TEIXEIRA *et al.* (2015), diferenciação de sementes e óleo da cultivar de girassol (VASCONCELOS et al., 2018), potencial da espectrometria no infravermelho próximo para analisar a qualidade de sementes de algodão em função de diferentes níveis de vigor (MAYRINCK et al., 2020), apresentação do potencial de forma rápida e eficiente para a classificação do carvão (COSTA et al., 2019), provou que o NIR pode ser eficiente na estimativa da composição do carvão vegetal, exceto cinzas (RAMALHO et al., 2019) e possibilitaram inferir que é possível estabelecer uma equação de calibração pela espectroscopia de NIR para a avaliação do teor de óleo em sementes de genótipos de girassol cultivados em condições ambientais brasileiras (GRUNVALD et al., 2014).

Com isso, objetivou-se no presente estudo realizar a classificação de diferentes espécies de *Amaranthus*, oriundas de plantio convencional ou orgânico, por meio de sementes e óleos, utilizando a espectroscopia no infravermelho próximo.

#### MATERIAL E MÉTODOS

#### **Material vegetal**

As sementes de *Amaranthus* avaliadas foram obtidas na safra 2017/2018 da Coleção de Germoplasma de Hortaliças Não Convencionais da Universidade Federal de Lavras - UFLA, Município de Lavras, Minas Gerais (21°14'S, 45°00'W e altitude de 918 m). O clima da região é o Cwa (mesotérmico) com inverno seco e verão chuvoso, segundo a classificação de Köppen (ÁLVARES et al., 2013).

O experimento foi plantado no setor de olericultura da UFLA, no campo foram conduzidos em delineamento de blocos casualizados (DBC) com três repetições, sendo cada repetição um bloco. As sementes foram semeadas diretamente no campo com desbaste em um espaçamento de 0,5 m x 0,5 m, numa densidade de 40.000 plantas por hectare, sem o uso de irrigação. Diante da análise do solo foi realizada a correção e adubação mineral, segundo a recomendação de Ribeiro et al. (1999) de Amaranthaceas.

No sistema de cultivo orgânico foi utilizado (1 t de dolomítico calcário ha<sup>-1</sup>, 15 t de estrume de aves de galinha ha<sup>-1</sup>) (antes da semeadura) e 15 t de composto orgânico ha<sup>-1</sup> (após 40 dias de semeadura) o controle fitossanitário foi realizado com extratos vegetais de *Ricinus communis* L. com princípios inseticidas e fungicidas (Xavier *et al.*, 2018). No sistema de

cultivo convencional foi conduzido com (1 t de dolomítico de calcário) com ureia, superfosfato simples e cloreto de potássio seguindo as recomendações para a necessidade da cultura da família Amaranthaceae.

O efeito de bordadura foi considerado com finalidade de evitar a influência das parcelas vizinhas. Além disso, uma barreira física foi usada com a cultura do milho para evitar cruzamento entre espécies, uma vez que a poliploidia com hibridizações interespecíficas é comum nessas espécies, mascarando suas características (Olusanya, 2017).

Foram utilizadas três espécies de *Amaranthus*: *A. viridis* L., *A. hybridus* L. e *Amaranthus* sp. (espécie comercial). Os materiais foram identificados através de exsicatas pela EPAMIG (Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado de Minas Gerais), sendo gravado e incluído no Herbário EPAMIG de Minas Gerais (PAMG) coleção de herbário com a numeração 58002, 58003 e 57999, respetivamente.

Após a colheita foi feita a secagem, o beneficiamento de sementes de forma manual e em seguida encaminhadas para o Laboratório central de sementes da UFLA e embaladas em papel Kraft multifoliado e armazenadas em câmara fria (10°C e 40% de umidade relativa do ar).

#### Extração de óleo

Para obtenção e quantificação do óleo foram empregadas quatro repetições por tratamento, sendo esse extraído das diferentes espécies de sementes de *Amaranthus* spp. Foram utilizadas 150 gramas de sementes secas e trituradas, as quais foram depositadas em balão de fundo redondo e boca esmerilada de 500 mL. Foram adicionados 200 mL de hexano até cobrir as sementes e levados para refluxar. Após 24 horas, o material foi filtrado, descartando o sólido e a fase líquida foi evaporada em um evaporador rotatório 26 Buchi-144, sob pressão reduzida. O óleo obtido de cada tratamento foi colocado em estufa a aproximadamente 35 °C por 24 horas, para a completa evaporação do solvente, e em seguida realizou-se a pesagem em gramas de óleo por grama de sementes secas e trituradas.

#### Aquisição dos espectros no infravermelho próximo.

Os espectros foram adquiridos no infravermelho próximo (NIR), utilizando um espectrômetro baseado em transformada de Fourier (Marca Bruker, modelo MPA) em conjunto com o programa *OPUS\_Spectroscopy* versão 7.0, do fabricante. Os espectros foram coletados na faixa de 9995 cm<sup>-1</sup> a 4.000 cm<sup>-1</sup> diretamente na superfície de cada porção das amostras das

sementes por meio da fibra ótica e o óleo em cubeta. Os espectros no NIR foram registrados em modo de reflexão difusa com resolução espectral de 8 cm<sup>-1</sup>, utilizando 32 varreduras para o background (espectro de referência) e 16 varreduras por amostra. Assim, um espectro foi registrado para cada amostra, totalizando 66 espectros de sementes com adubação convencional (3 espécies x 22 repetições), 24 de sementes com a adubação orgânica (3 espécies x 8 repetições), 45 de óleos provenientes de sementes de adubação convencional (3 espécies x 15 repetições) e 45 de óleos orgânicos (3 espécies x 15 repetições).

#### Análise estatística

Os dados referentes aos resultados do rendimento de óleo foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas em teste de Scott-Knott. A precisão experimental foi analisada por meio do coeficiente de variação (CV) e a análise estatística realizada com auxílio do software SISVAR® (FERREIRA, 2019).

Os espectros coletados em sementes e em óleo foram selecionados nos comprimentos de onda de 9995 cm<sup>-1</sup> a 4000 cm<sup>-1</sup> e submetidos à análise de componentes principais (PCA) e análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA). As análises foram realizadas utilizando *Chemoface versão 1,61* (NUNES et al., 2012).

A análise de componentes principais foi realizada com o objetivo de verificar a similaridade das amostras analisadas. Esta análise foi feita com espectros tratados (primeira derivada, multiplicative scattter correction, standard normal variate e normalização) e não tratados e um gráfico bidimensional foi gerado para plotagem dos scores.

A análise PLS-DA foi realizada para gerar modelos preditivos para classificação das três espécies de sementes nas condições de adubação (seis classes) e os seus respectivos óleos extraídos (seis classes). O número adequado de variáveis latentes foi definido por validação cruzada. Os modelos gerados foram avaliados pelo número e porcentagem de acertos das classes preditas.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### Teor de óleo de diferentes espécies de Amaranthus

Para a análise de variância dos teores de óleo foi observado diferença significativa para espécies e sistema de cultivo, no entanto, não houve interação entre os fatores (espécie x sistema de cultivo), conforme apresentado na tabela 1.

**Tabela 1.** Teores de óleo (%) entre as diferentes espécies de Amaranthus e sistemas de cultivos.

Sistema de cultivo										
Espécies	Convencional	Médias								
A. viridis	2,57	16,19	9,38 B							
A. hybridus	2,81	15,31	9,06 B							
Amaranthus sp.	3,66	17,59	10,62A							
Médias	3,01b	16,36 a								

<sup>\*</sup>Médias seguidas das mesmas letras minúsculas na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si, segundo o teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Os valores médios dos teores de óleo das diferentes sementes de *Amaranthus* para cada espécie estão representados na Tabela 1. Verificaram-se menores valores de teores de óleo em sementes com o sistema orgânico quando comparado ao sistema convencional. Fica evidente que no sistema convencional (16,36 %) apresenta acréscimo no teor de óleo de 81,60 % quando comparado ao tratamento oriundo do sistema orgânico (3,01 %).

A redução dos teores de óleo do sistema de cultivo orgânico pode estar relacionada ao aparecimento de patógenos durante o seu desenvolvimento da cultura. Corroborando Xavier et al. (2018), que utilizando o sistema orgânico houve a ocorrência de patógenos no campo.

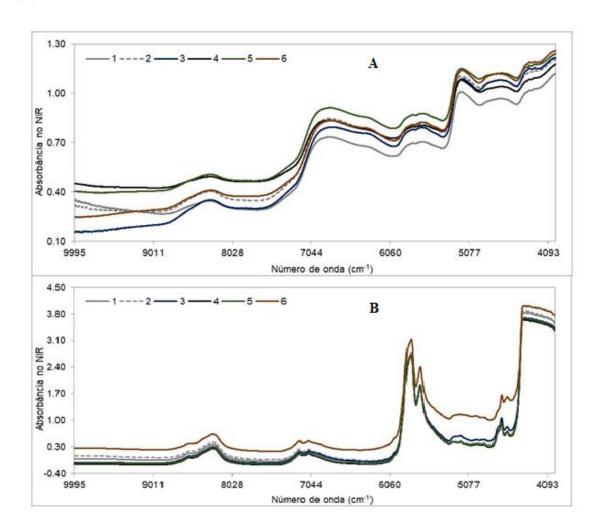
O *Amaranthus* sp. (comercial) independente do sistema de cultivo em média, apresentou maior teor de óleo em relação as demais espécies *Amaranthus viridis* e *Amaranthus hybridus*.

O sistema orgânico ao ser usado em grande quantidade (nos primeiros anos), pode tornar oneroso o processo de produção (Sodré et al., 2013). Para o sistema convencional nas plantas a absorção dos compostos minerais é mais rápido, entretanto, o uso em excesso, pode prejudicar o solo ao longo do cultivo (VALENTINI, et al. 2016).

#### **Espectros no NIR**

Os dados espectrais coletados no NIR foram registrados em sementes (Figura 1A) e em óleo (Figura 1B) de *Amaranthus* no sistema de cultivo convencional e orgânico.

**Figura 1** – Média dos **e**spectros obtidos através da espectroscopia no infravermelho próximo das diferentes espécies de *Amaranthus* e sistemas de cultivos utilizando sementes (A) e óleos (B).



1: A. viridis (convencional); 2: A. hybridus (convencional); 3: A. cf. (comercial) (convencional); 4: A. viridis (orgânica); 5: A. hybridus (orgânica); 6: A. cf. (comercial) (orgânica).

Cada espectro representa a média de várias amostras de diferentes espécies de *Amaranthus*, nos diferentes sistemas de cultivo convencional e orgânico.

Para distinguir os espetros (Figura1) das diferentes espécies de *Amaranthus*, utilizou-se a análise multivariada, assim como Souza et al., (2017), que aplicou nos espectros e a análise gerando o modelo para detectar diferenças na composição de compostos fenólicos e flavonoides de plantas de *Raphanus sativus* L., *Secale cereale* L. e *Avena strigosa* L., obtidos a partir da espectroscopia NIR.

Para as sementes (Figura 1A), observou-se que as espécies em sistemas de cultivo orgânico apresentam bandas de absorção mais elevados que os cultivados em sistema

convencional. Resultados semelhantes encontrados por Xavier et al., (2019b), mostrando que as sementes de espécies de *Amaranthus* spp. apresentaram comportamento similar ao observado nesse trabalho.

Para o óleo, o comportamento foi diferente se assemelhando em partes aos dados observados no teste de médias (Tabela 1). Sendo que o *A. viridis* e *A. hybridus* têm maiores bandas de absorção no sistema convencional, já o *Amaranthus* sp. (comercial) tem bandas mais intensas no sistema orgânico.

Ao longo da faixa de comprimento de ondas adotadas tanto os espectros de óleo quanto os de sementes apresentaram diferentes bandas de absorção no NIR. Estes resultados podem ter ocorrido nas espécies em estudo resultando a ocorrência de bandas de combinação e sobretons, típicas das ligações dos grupos C-H, N-H e O-H, fazendo com que seu espectro seja intenso nesta região do NIR (PASQUIM, 2003; SOUZA et al., 2017).

Em relação à absorbância os espetros demostraram uma sobreposição o que permite inferir que existe uma semelhança na composição química das espécies. Os espectros obtidos tanto para semente quanto para óleo, ao longo de sua faixa espectral obtiveram um padrão de comportamento semelhante em relação as bandas de absorção para as diferentes espécies de *Amaranthus*, o que é esperado para indivíduos do mesmo gênero.

Os espectros de sementes e óleo apresentaram bandas de absorção mais proeminentes em torno de 9000 cm<sup>-1</sup> e 4000 cm<sup>-1</sup>. Segundo Mecozzi et al. (2011), observaram que essas absorções entre essas faixas foram atribuídas para as bandas de combinação dos grupos funcionais C=O, N-H, C-H, e C-C.

No sistema de cultivo convencional (Tabela 1) verificou ocorrência de alto teor de óleo, diferentemente do sistema de cultivo orgânico. A absorbância no NIR (Figura 1) e em bandas de absorção características foram parecidas nos diferentes materiais utilizados. Corroborando com os resultados observados por Vasconcelos et al. (2018) que avaliaram o NIR associado a análise multivariada para a diferenciação de cultivares de girassol utilizando sementes e óleo.

Com a utilização do *Practical Guide and Spectral Atlas for Interpretive Near-Infrared Spectroscopy* (WORKMAN JÚNIOR; WEYER, 2012), é possível inferir sobre a identificação dos grupos funcionais químicos para os diferentes tratamentos estudados (Tabela 2). Corroborando Vasconcelos et al. (2018), que utilizaram as mesmas funcionalidades na mesma literatura, a tabela 2 correlaciona os diferentes comprimentos de onda, grupos funcionais e por fim os tipos de materiais. Com auxílio dos espetros (Figura 1) e as faixas espectrais no NIR podese inferir essa correlação.

**Tabela 2** - Correlação espectro-estrutura por espectroscopia de infravermelho próximo para os diferentes sistemas de cultivos de semente e óleo de Amaranthus.

Faixa espectral (cm <sup>-1</sup> )	Grupo funcional	Tipo de material
4297	C-H (.C-H & CH2) C-H/C=O Lipídeo associado (.RC=CH &	Polissacarídeo
4668	RC=O)	Lipídeos
5173	O-H (.O-H & HOH)	Polissacarídeo
5675	C-H Metileno (.CH2) (Simétrica)	Hidrocarbonetos alifáticos
6874	O-H da água	Água Hidrocarbonetos
8309	C-H Metil (.CH3)	alifáticos
	Óleo	
4378	C-H Amido (.C-H & CH2)	Polissacarídeo
4571	N-H/C-N/C=O	Proteinas
4664	C-H/C=O Lipídeo associado (.RC=CH & RC=O)	Lipídeo
5667	C-H Metileno (.CH2) (Simétrica)	Hidrocarbonetos alifáticos
5786	C-H Metileno (.CH2)	Hidrocarbonetos metilenos
7052	C-H Aromático C-H	Hidrocarbonetos aromáticos
7167	C-H Metil C-H, associado linear alifáticos CH3 (CH2)N CH3	Hidrocarbonetos alifáticos
8240	C-H Metileno (.CH2)	Hidrocarbonetos alifáticos

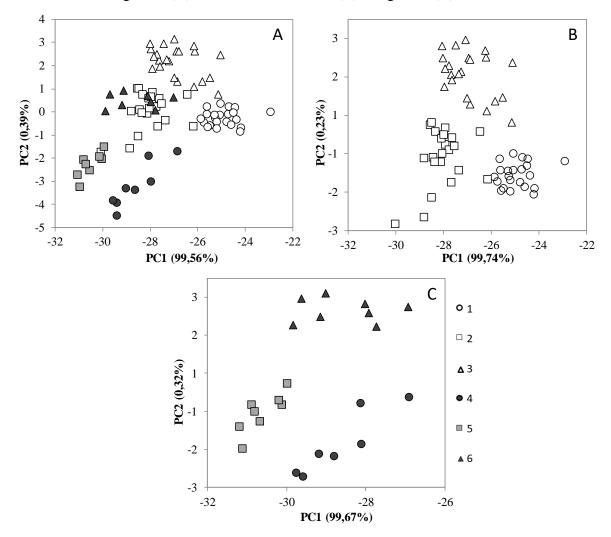
Consoante à correlação espectral (Tabela 2) foi verificado determinadas bandas de absorção em número de ondas correspondentes a determinados materiais para sementes, hidrocarbonetos alifáticos, polissacarídeo, água e lipídeos. Para o óleo foram identificados compostos similares como hidrocarbonetos alifáticos, lipídeos, porém, alguns diferentes, hidrocarbonetos aromáticos, proteínas e hidrocarbonetos metilenos.

#### Analise de Componentes Principais – PCA

A análise de componentes principais (PCA) foi realizada a partir dos espectros das sementes (Figura 2) com o objetivo de avaliar a similaridade espectral no comportamento das espécies e a semelhança entre os diferentes sistemas de cultivos dos materiais estudados. Em

função das respostas mais interessantes, somente os resultados das análises realizadas com os espectros sem tratamentos foram apresentados.

**Figura 2.** Análise de Componentes Principais (PCA) dos espectros sem tratamento, em sementes de diferentes espécies de *Amaranthus* em diferentes sistemas de cultivos, cultivo convencional e orgânico (A), cultivo convencional (B) e orgânico (C).



1: A. viridis (convencional); 2: A. hybridus (convencional); 3: Amaranthus sp. (convencional); 4: A. viridis (orgânico); 5: A. hybridus (orgânico); 6: Amaranthus sp. (orgânico).

Os scores da PCA para as três espécies de sementes de *Amaranthus*, nos sistemas orgânico e convencional foram plotados no gráfico bidimensional (Figura 2A), em que a soma da componente principal 1 (PC1) e componente principal 2 (PC2) explica 99,95% da variação dos dados. Na PCA somente utilizando o sistema de cultivo convencional (Figura 2B) e o orgânico (Figura 2C), a soma da PC1 e da PC2 obteve explicação de 99,99% e 99,97% da variação dos dados, respectivamente.

Ao realizar a análise com todos os materiais em diferentes sistemas de cultivos (Figura 2A), ocorreu uma separação dos scores da componente principal para os materiais *Amaranthus viridis* (convencional), *Amaranthus viridis* (orgânico) e *Amaranthus hybridus* (orgânico). Ocorreu um agrupamento do *Amaranthus hybridus* cultivado por sistema convencional com o *Amaranthus* sp. (comercial) de cultivo orgânico. Mostrando que há uma similaridade espectral entre esses dois materiais e que pode ser devido à composição química dos mesmos.

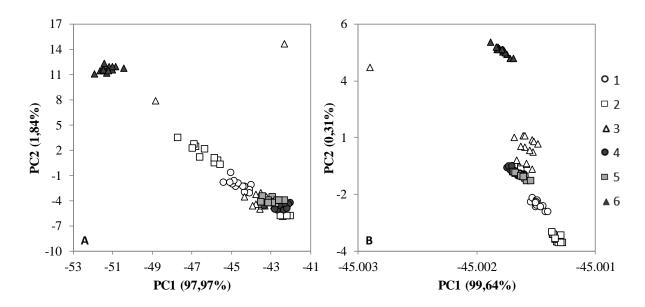
Ao realizar a análise com o material em função do sistema de cultivo, tanto para os *Amaranthus* originados de sistema convencional (Figura 2B) quanto do orgânico (Figura 2C), ocorreu a separação de todas as espécies. Evidenciando que o NIR é sensível as diferenças entre as espécies de *Amaranthus*, já em relação ao sistema de cultivo, a sensibilidade não ocorre totalmente.

Para Olusanya (2017), as diferentes espécies de *Amaranthus* ao longo do desenvolvimento no campo podem ocorrer cruzamentos entre si, fato este que, neste experimento foi colocado uma barreira com milho entre as parcelas, como forma de proteção a poliploidia com hibridação interespecífica que pode mascarar as características de cada espécie.

A análise de componentes principais é uma importante ferramenta para a avaliação da composição química de sementes (Figura 2) e de óleos (Figura 3) de *Amaranthus*. Trabalhos como o de Monferrere et al. (2012), obtiveram sucessos na diferenciação entre as sementes de girassol pelos níveis de conteúdo oleico aplicando o PCA, elucidando que essa técnica do NIR pode ser importante.

A análise de componente principal (PCA) dos espectros de óleo foi realizada sem tratamento (Figura 3A) e tratados (Figura 3B).

**Figura 3.** Analises dos componentes principais dos espectros sem tratamento (A) e tratados pela Multiplicative Scatter Correction (B) dos óleos de diferentes espécies de *Amaranthus* e sistemas de cultivo.



1: A. viridis (convencional); 2: A. Hybridus (convencional); 3: Amaranthus sp. (convencional); 4: A. viridis (orgânica); 5: A. Hybridus (orgânica); 6: Amaranthus sp. (orgânica).

No gráfico dos scores (Figura 3A) da análise PCA utilizando espectros sem tratamentos dos óleos das diferentes espécies de *Amaranthus*, a primeira componente principal (PC1) explicou 97,97% da variância total dos dados. A segunda componente principal (PC2) explicou apenas 1,84% da variância e a soma das duas explica 99,74% da variação dos dados.

Para as amostras do óleo das diferentes espécies de *Amaranthus*, com os dados tratados (Figura 3B) a PC1 explicou 99,64% da variância total dos dados. A PC2 explicou apenas 0,31% da variância, totalizando 99,95% da variação total dos dados.

De acordo com os resultados para a PCA dos espectros não tratados (Figura 3A) para os óleos extraídos das sementes não foi possível distinguir as espécies que deram origem aos óleos de forma clara, ou seja, verificou-se um agrupamento de quase todas as espécies nos diferentes sistemas de cultivos. Entretanto, com o tratamento dos espectros por meio do Multiplicative Scatter Correction (Figura 3B), foi possível aumentar a visualização e distinguir as espécies no sistema de cultivo convencional de forma mais proeminente.

Deste modo, em relação a PCA (Figura 3B), mesmo após o tratamento dos dados em relação a discriminação do óleo, no sistema de cultivo orgânico para espécies de *Amaranthus viridis* e *Amaranthus hybridus*, não foi possível separação, tanto que os scores estão agrupados

na mesma região, ou seja, se confundem sugerindo maior similaridade ou semelhança em relação às demais. Souza et al. (2017) observaram que a sobreposição pode indicar em princípio, uma semelhança na composição química das espécies, sendo que o emprego da calibração multivariada pode ser o método ideal para detectar as possíveis diferenças.

Para o sistema de cultivo orgânico (Figura 3B), observa-se que o *Amaranthus* sp., se diferenciou dos demais óleos, o que pode estar relacionado a presença típica de determinadas estruturas químicas naquela região, fato este comprovado no sistema convencional com a mesma espécie, em que alguns scores migraram para a mesma região no gráfico (Figura 3B).

# Classificação das diferentes espécies de Amaranthus por PLS-DA

As sementes das diferentes espécies de *Amaranthus* foram diferenciadas por espectroscopia no infravermelho próximo associada à PLS-DA.

A eficiência dos modelos validados por validação cruzada gerados com a PLS-DA realizada com espectros de sementes é apresentada por meio de número e porcentagem de acertos (Tabela 3).

<b>Tabela 3</b> – Classificação	das diferentes	espécies de	Amaranthus 6	e sistemas	de cultivo por
análise PLS-DA a partir de	e espectros sem	tratamentos	medidos nas se	ementes.	

Tratamento	]	Predi	ção p	pelo l	NIR		Nº Total	Total de acertos	% Correta
Tratamento	1	2	3	4	5	6	- N Total	Total de acertos	
1	22						22	22	100,00
2		20	1		1		22	20	90,91
3			22				22	22	100,00
4	1			7			8	7	87,50
5					8		8	8	100,00
6						8	8	8	100,00
Tota	al				90	87	96,67		

1: A. viridis (convencional); 2: A. Hybridus (convencional); 3: Amaranthus sp. (convencional); 4: A. viridis (orgânica); 5: A. Hybridus (orgânica); 6: Amaranthus sp. (orgânica).

Das 90 amostras de sementes de *Amaranthus* (tabela 3), 87 foram classificadas de forma correta, totalizando 96,67% de eficácia nas classificações. Para o sistema de cultivo convencional (tabela 3), as classes 1 e 3 (*Amaranthus viridis* e *Amaranthus* sp.), e para o sistema orgânico, as classes 5 e 6 (*Amaranthus hybridus* e *Amaranthus* sp.), obtiveram 100% de sucesso nas classificações corroborando com o resultado da PCA (Figura 2) no qual a maioria dessas espécies nos diferentes sistemas não se confunde com as demais. A classe 2 (tabela 3) do

sistema convencional (*Amaranthus hybridus*) e a classe 4 no sistema orgânico (*Amaranthus viridis*) obtiveram no máximo dois erros na classificação de suas espécies e por isso tais modelos são considerados satisfatórios.

A classe 2 (*Amaranthus hybridus*) teve duas de suas amostras classificadas de forma errada como pertencente a classe 3 (tabela 3) no sistema convencional (*Amaranthus sp.*) e 5 no sistema orgânico (*Amaranthus hybridus*). Resultado que confirma o PCA (Figura 2), nessa análise os scores referentes às duas espécies destas classes se agrupam, o que provavelmente pode indicar a presença de alguma similaridade química.

O modelo utilizado para discriminação das diferentes espécies de sementes de *Amaranthus* apresentou bom desempenho, pois obteve alto porcentual de sucesso.

A classificação dos óleos em função das espécies de Amaranthus e sistema de cultivo que os deram origem obteve 98,89 % de sucesso ao realizar a PLS-DA e validação cruzada (Tabela 4).

**Tabela** 4- Classificação das diferentes espécies de *Amaranthus* em diferentes sistemas de cultivos convencional (c) e orgânico (o) por análise PLS-DA a partir de espectros sem tratamentos medidos em óleo.

Tratamento		Pre	dição	pelo :	NIR		- N Total	Total	% Correta
Tratamento	1	2	3	4	5	6		de acertos	
1	15						15	15	100,00
2		15					15	15	100,00
3		1	14				15	14	93,33
4				15			15	15	100,00
5					15		15	15	100,00
6						15	15	15	100,00
To	otal					•	90	89	98,89

1: A. viridis (convencional); 2: A. Hybridus (convencional); 3: Amaranthus sp. (convencional); 4: A. viridis (orgânica); 5: A. Hybridus (orgânica); 6: Amaranthus sp. (orgânica).

Assim como na disposição das classes de sementes (Tabela 3), no óleo (Tabela 4) quase todas as espécies obtiveram 100% de predições corretas. Fato este comprovado, em que o resultado das classificações teve alto índice de acerto.

Observa-se que somente a classe 3 *Amaranthus* sp. (comercial) no sistema convencional, não apresentou alto índice de acerto, em que foi confundida com os óleos de *Amaranthus hybridus*. Evidenciando que esse método é muito eficaz para utilização tanto em sementes quanto em óleo. De acordo com Xiaobo et al. (2010) que afirmaram que a técnica do

NIR proporciona uma análise de forma rápida, em determinadas faixas espectrais envolvendo maiores números de absorção, prevendo a composição química de cada amostra.

Para a PLS-DA, os resultados mais eficazes foram encontrados nas classificações em que utilizou espectros de óleo, entretanto, todas as porcentagens de classificações corretas foram altas e pode ser utilizado tanto espectros de sementes quanto de óleo. Corroborando Vasconcelos et al. (2018), que obtiveram sucesso utilizando espectros no NIR na separação de sementes de girassol ao utilizar modelos PLS-DA.

As espécies de Amaranthus foram diferenciadas pela técnica de espectroscopia no infravermelho próximo associada à análise multivariada (PLS-DA) por meio de espectros do óleo, obtidos de sementes em diferentes sistemas de cultivo convencional e orgânico.

#### **CONCLUSÃO**

Por meio da análise de componentes principais, é possível diferenciar as distintas espécies de *Amaranthus* ao utilizar os espectros de óleo e ao considerar os lotes de sistema de cultivo ao utilizar os espectros de sementes.

A classificação das sementes e óleos das diferentes espécies foi possível por meio dos modelos PLS-DA com alta porcentagem de acerto.

A utilização do NIR com óleo apresentou os melhores resultados expressivos que na semente.

O rendimento de óleo é maior no sistema de cultivo convencional e o *Amaranthus* comercial foi mais expressivo, independentemente do sistema de cultivo.

A espectroscopia no infravermelho próximo pode ser utilizada para classificação rápida de óleos e sementes provenientes de diferentes espécies de *Amaranthus* utilizados nos diferentes sistemas de cultivo convencional e orgânico.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁLVARES, C.A.; STAPE, J.L.; SENTELHAS, P.C.; GONÇALVES, J.L.M.; SPAROVEK, G. Koppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n.6, p.711-728. 2013
- AGELET, L. E. et al. Measurement of single soybean seed attributes by near infrared technologies. A comparative study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 8314–8322, 2012.
- COSTA, A. C. P. R.; RAMALHO, F. M. G.; RIBEIRO, L. C.; TRUGILHO, P.F.; HEIN, P.R.G. Classification of commercial charcoal for domestic use by near infrared spectroscopy. **BIOMASS & BIOENERGY**, v. 127, p. 105280, 2019.
- FAVARATO, L. F., SOUZA, J. L.; CUARÇONI, R. C. Efeitos múltiplos da cobertura morta do solo em cultivo orgânico de cenoura. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 7, n. 2, p. 24-30, 2017.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer analysis system to fixed effects Split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, v.37, n. 4, p.529-535, 2019.
- GRUNVALD, A. K.; CARVALHO, C. G. P.; LEITE, R. S.; MANDARINO, J. M. G.; ANDRADE, C. A. B.; SCAPIM, C. A. Predicting the oil contents in sunflower genotype seeds using nearinfrared reflectance (NIR) spectroscopy. **Acta Scientiarum**, v. 36, n. 2, p. 233-237, 2014.
- LIMA, A.; BAKKER, J. Near-infrared spectroscopy for monitoring peripheral tissue perfusion in critically ill patients. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 23, n. 3, p. 341–351, 2011.
- MECOZZI, M.; PIETROLETTI, M.; TORNAMBÈ, A. Molecular and structural characteristics in toxic algae cultures of Ostreopsis ovata and Ostreopsis spp. evidenced by FTIR and FTNIR spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 78, n. 5, p. 1572-1580, 2011.
- MAYRINCK, L. G; LIMA, J. M. E; GUIMARÃES; G. C; NUNES; C. A; OLIVEIRA, J. A. Use of near infrared spectroscopy in cotton seeds physiological quality evaluation. **Journal of Seed Science**, v.42, e202042016, 2020.
- MIR, N. A.; RIAR, C. S.; SINGH, S. Nutritional constituents of pseudo cereals and their potential use in food systems: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 75, p. 170-180. 2018.
- MONFERRERE, G. L.; AZCARATE, S. M.; CANTARELLI, M. Á.; FUNES, I. G.; CAMIÑA, J. M. Chemometric characterization of sunflower seeds. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 9, p. C1018-C1022, 2012.
- NUNES, C. A.; FREITAS, M. P.; PINHEIRO, A. C. M.; BASTOS, S. C. Chemoface: a novel free user-friendly interface for chemometrics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 11, p. 2003-2010, 2012.

- OLUSANYA, A. C. A. multi-species assessment of genetic variability in Nigerian Amaranthus accessions: potential for improving intra-and interspecies hybridization breeding. **Archives of Agronomy and Soil Science**, p.621-625, 2017.
- PARVEEN, M., CHATTOPADHYAY, N. C., AND TAH J. Strategy of biometric evaluation of vegetative yield attributes of amaranth cultivars. **Bioscience Discovery**, v. 5, n. 1, p. 70-73, 2014.
- PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 198-219, 2003.
- QUINI, A. R.; DELAZARI, D. S.; FARINAZZI-MACHADO, F. M. V.; BARBALHO, S. M. Revisão de literatura: Importância nutricional de algumas espécies de Amaranthus sp. **Revista Eletrônica de Biologia**, V. 6, n.1, p. 69-81, 2013.
- RAMALHO, F. M. G.; SIMETTI, R.; ARRIEL, T. G.; LOUREIRO, B. A.; HEIN, P. R. G. Influence of Particles Size on NIR Spectroscopic Estimations of Charcoal Properties. **FLORAM**, v. 26, p. 1, 2019.
- SILVA, L. F., SOUZA, D.C.; RESENDE, L.V. NASSUR, R.C.M.R.; SAMARTINI, C.Q.; GONÇALVES, W.M. Nutritional Evaluation of Non-Conventional Vegetables in Brazil, **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 2, p.1775-1787, 2018.
- SILVA L. F., SOUZA, D.C. XAVIER, J.B., SAMARTINI, C.Q., RESENDE, L.V. Avaliação nutricional de caruru (Amaranthus spp.) **Agrarian**, v. 12, p. 411-417, 2019.
- SODRÉ, A. C. B.; HABER, L. L.; LUZ, J. M. Q.; MARQUES, M. O. M.; RODRIGUES, C. R. Adubação orgânica e mineral em melissa. **Horticultura Brasileira**, v. 31, p. 147-152, 2013.
- SOUZA, A. M.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial. **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 223-229, 2012.
- SOUZA, M.; KUHNEN, S.; KAZAMA, D. C. S.; KURTZ, C.; TRAPP, T.; JÚNIOR, V. M.; COMIN, J. J. Predição dos teores de compostos fenólicos e flavonoides na parte aérea das espécies Secale cereale L., Avena strigosa L. e Raphanus sativus L. por meio de espectroscopia no infravermelho próximo (NIR). **Química Nova**, v. 40, n. 9, p. 1074-1081, 2017.
- SHUKLA, A.; SRIVASTAVA, N.; SUNEJA, P.; YADAV, S. K.; HUSSAIN, Z.; RANA, J. C.; YADAV, S. Untapped amaranth (Amaranthus spp.) genetic diversity with potential for nutritional enhancement. **Genetic Resources and Crop Evolution,** v. 65, n. 1, p. 243-253, 2018.
- TEIXEIRA, G. H. A.; LOPES, V. G.; JUNIOR, L. C. C.; PESSOA, J. D. C. Total Anthocyanin Content in Intact Acxa'ı (Euterpe oleracea Mart.) and Jucxara (Euterpe edulis Mart.) Fruit Predicted by Near Infrared Spectroscopy. **Hortscience**, v. 50, n.8, p.1218–1223. 2015.
- VALENTINI, A.; BONETTO, L. R.; VARGAS, J. Vantagens e Desvantagens de Fertilização Orgânica e Inorgânica: uma visão geral. **V MOSTRA IFTEC CIÊNCIA E TECNOLOGIA**. Rio Grande Do Sul. n. 5, 2016.

- VASCONCELOS, M. C.; OLIVEIRA, A. S.; GRANJA, J. A. A.; COSTA, J. C.; GUIMARÃES, R. M. Diferenciação de cultivares de girassol por espectroscopia no infravermelho próximo e análise multivariada, utilizando sementes e óleo. **Revista Brasileira de Ciências Agrarias**, v.13, n.4, e5582, 2018.
- WORKMAN, J.; WEYER, L. Practical Guide and Spectral Atlas for Interpretive Near Infrared Spectroscopy, second ed., CRC Press, Boca Raton, 2012.
- XAVIER, J. B.; DE SOUZA, D. C.; DE SOUZA, L. C.; GUERRA, T. S.; RESENDE, L. V.; PEREIRA, J. Nutritive potential of amaranth weed grains. **African Journal of Agricultural Research**, v. 13, n.22, p. 1140-1147, 2018.
- XAVIER, J. B; CASTRO, D. G; SILVA, D. M; ABREU, R. A. A; SOUZA, D. C; SILVA, M. L. S. Eficiência de absorção de nutrientes em *Amaranthus* spp., **Magistra**, v. 30, p. 199 210, 2019a.
- XAVIER, J. B; ANDRADE, D. B.; CASTRO, D. G; GUIMARÃES, G. C.; RESENDE, L. V.; GUIMARÃES, R. M. Morphological, chemical and physiological characterization of Amaranthus spp. Seeds, **Journal of Seed Science**, v.41, n.4, p.478-487, 2019.
- XIAOBO, Z.; JIEWEN, Z.; POVEY, M, J, W.; HOLMES, M.; HANPIN, M. Variables selection methods in near-infrared spectroscopy. **Acta Analytica Chimica**, v. 667, n. 1, p. 14-32, 2010.