



PALLOMA INDIARA CAPRONI MORAIS

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

**LAVRAS – MG
2018**

PALLOMA INDIARA CAPRONI MORAIS

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

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

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães
Orientador

**LAVRAS – MG
2018**

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

Morais, Palloma Indiará Caproni.

Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho por análise de imagem espectroscopia no infravermelho próximo / Palloma Indiará Caproni Moraes. - 2018.

56 p. : il.

Orientador(a): Renato Mendes Guimarães.

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

Bibliografia.

1. Análise de imagem. 2. Espectroscopia no infravermelho próximo. 3. Qualidade fisiológica de sementes de milho. I. Guimarães, Renato

PALLOMA INDIARA CAPRONI MORAIS

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

**EVALUATION OF THE PHYSIOLOGICAL QUALITY OF MAIZE SEEDS
THROUGH IMAGE ANALYSIS AND NEAR INFRARED SPECTROSCOPY**

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

APROVADA em 27 de julho de 2018.

Dr. André Delly Veiga

IFSULDEMINAS

Dr. Adriano Alves da Silva

UNIFOR-MG

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães
Orientador

**LAVRAS – MG
2018**

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades. Também sou grata ao Senhor por ter dado saúde aos meus familiares e tranquilizado o meu espírito nos momentos mais difíceis da minha trajetória acadêmica até então.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Agricultura por possibilitarem a realização do mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Cnpq) pela concessão da Bolsa de estudos.

Agradeço aos meus pais, Maria José e Ataíde, que me deram apoio e incentivo nas horas difíceis, pela dedicação e pelo amor que me fizeram mais forte, podendo entender que sou capaz de ir mais além. Aos meus irmãos, Jordânia e Junior, que sempre me apoiaram e estiveram ao meu lado, pelas risadas que me encheram de forças nesta jornada.

Ao meu namorado Diego, que me estimulou durante todo o mestrado e compreendeu minha ausência pelo tempo dedicado aos estudos.

Ao meu orientador Renato Guimarães, pela orientação, pela confiança, pelos ensinamentos, pela paciência e pelo empenho dedicado à elaboração deste trabalho.

Aos pós doutorandos Gabriel e Dayliane, que me ajudaram nessa caminhada e que sempre estiveram dispostos a me ajudar e a sanar minhas dúvidas. Aos funcionários do Laboratório Central de Sementes, pela disponibilidade e atenção durante a realização dos experimentos.

À Marli, secretária do Programa de Pós em Fitotecnia, pelo auxílio nessa caminhada.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

O milho é uma cultura de grande expressividade no agronegócio brasileiro e mundial, busca-se assim, cada vez maiores produtividades e uma maneira de alcançá-las é através da tecnologia de sementes. O desenvolvimento de metodologias para avaliação da qualidade de sementes é imprescindível para programas de controle de qualidade das empresas. Com o avanço da tecnologia, cada vez mais, faz-se o uso de técnicas e equipamentos automatizados a fim de aprimorar a detecção de lotes com diferentes níveis de vigor. A análise de imagens e a espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) são técnicas não destrutivas, precisas, rápidas e com pouca subjetividade, e cada vez mais, são utilizadas no setor. Assim, objetivou-se com este trabalho verificar o potencial de utilização da técnica de análise de imagens pelo equipamento GroundEye® por meio das características de cor e geometria, e a técnica de espectroscopia no infravermelho próximo na identificação de lotes de diferentes qualidades fisiológicas de sementes de milho. Foram utilizados dois híbridos, cujas sementes foram envelhecidas artificialmente, por 0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas. Para a análise dos lotes foram realizados os testes de caracterização (teor de água, germinação, primeira contagem de germinação, teste de frio, emergência em campo, índice de velocidade de emergência e comprimento de plântulas). O delineamento adotado foi o inteiramente ao acaso (DIC), com quatro repetições em esquema fatorial 6 x 2 (lotes de sementes de milho e quantidade de híbridos). Foi realizada análise de imagem nas sementes no equipamento Groundeye® e foram analisadas características de cor e geometria. A análise pelo NIR foi realizada utilizando-se semente inteiras e moídas, nas sementes inteiras foram obtidos espectros de ambos os lados da semente (embrião e endosperma), e os dados obtidos pelo equipamento foram tratados e analisados pelo método PLS-DA com o auxílio do software PIROUETTE. Conclui-se que com a análise de imagens, que não é possível diferenciar as sementes de milho de diferentes qualidades fisiológicas, por meio das características de cor e geometria e, utilizando-se as análises quimiométricas e o infravermelho próximo, também não foi possível separar os lotes de qualidades diferentes.

Palavras-Chave: NIR. Quimiometria. Groundeye®. Vigor.

ABSTRACT

Maize is a highly expressive crop in Brazilian and world agribusiness, we are looking for more and more productivities and one way to achieve it is through the technology of seeds. The development of methodologies for the evaluation of seed quality is essential for quality control programs of the companies. With the advancement of technology, more and more automated techniques and equipment are being used to improve the detection of batches with different levels of vigor. Image analysis and Near Infrared Spectroscopy (NIR) are non-destructive, precise, fast and with little subjectivity techniques, and are increasingly used in the industry. The objective of this work was to verify the potential of using the technique of image analysis by the GroundEye[®] equipment through the characteristics of color and geometry and the technique of near infrared spectroscopy in the identification of lots of different physiological qualities of maize seeds. Two hybrids, whose seeds were artificially aged, were used for 0, 24, 48, 72, 96 and 120 hours. For the lots analysis, characterization tests (water content, germination, first germination count, cold test, field emergence, emergence speed index and seedling length) were performed. The design was a completely randomized design (DIC), with four replications in a 6 x 2 factorial scheme (lots of maize seeds and number of hybrids). Seed image analysis was performed on the Groundeye[®] equipment and color and geometry characteristics were analyzed. The NIR analysis was performed using whole and ground seed, in the whole seeds were obtained spectra of both sides of the seed (embryo and endosperm), the data obtained by the equipment were treated and analyzed by the PLS-DA method with the help of the software PIROUETTE. It is concluded that the image analysis did not allow to differentiate the seeds of corn of different physiological qualities through the characteristics of color and geometry and using the chemometric and the near infrared analyzes it was also not possible to separate the batches of different qualities.

Keywords: NIR. Chemometrics. Groundeye[®]. Vigor.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Teor de água dos híbridos A e B antes da realização dos testes.	30
Tabela 2 -	Resultados da caracterização dos lotes com os valores médios dos testes de primeira contagem de germinação (PC), germinação (G), teste de frio (TF), emergência de plântulas (E) e índice de velocidade de emergência (IVE) dos seis lotes dos 2 híbridos.....	31
Tabela 3 -	Valores médios de comprimento de raiz (CR), comprimento de hipocótilo (CH), razão do comprimento da raiz pelo comprimento do hipocótilo (CR/CH), número de ramificações (R), comprimento das raízes secundárias (RS) e comprimento de plântula (CP), dos seis lotes de sementes de milho dos híbridos A e B obtidos pela análise de imagens no aparelho GroundEye®.....	32
Tabela 4 -	Valores médios das características de cor obtidos pela análise de imagens no aparelho GroundEye®, brilho, concentração da matiz, dominância amarela, dominância laranja, intensidade e luminosidade dos seis lotes de sementes de milho dos híbridos A e B.....	34
Tabela 5 -	Valores médios das características de geometria obtidos pela análise de imagens no aparelho GroundEye®, área, circularidade, diâmetro máximo, mínimo e perímetro dos seis lotes de sementes de milho dos híbridos A e B.....	36
Tabela 6 -	Validação cruzada e externa do lado do embrião da semente do híbrido A classificadas quanto ao tempo de injúria no teste de germinação por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA	37
Tabela 7 -	Endosperma da semente do híbrido A classificadas quanto ao tempo de injúria no teste de germinação por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.....	37
Tabela 8 -	Sementes moídas do híbrido A classificadas quanto ao tempo de injúria no teste de germinação por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.	38
Tabela 9 -	Validação cruzada e externa do lado do embrião da semente do híbrido A classificadas quanto ao tempo de injúria nos testes de primeira contagem,	

	emergência e teste de frio por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.....	38
Tabela 10 -	Endosperma da semente do híbrido A classificadas quanto ao tempo de injúria nos testes de primeira contagem, emergência e teste de frio por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.....	39
Tabela 11 -	Sementes moídas do híbrido A classificadas quanto ao tempo de injúria nos testes de primeira contagem, emergência e teste de frio por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.	39
Tabela 12-	Validação cruzada e externa do lado do embrião da semente do híbrido B classificadas quanto ao tempo de injúria no teste de germinação por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.	43
Tabela 13 -	Endosperma da semente do híbrido B classificadas quanto ao tempo de injúria no teste de germinação por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.....	43
Tabela 14 -	Sementes moídas do híbrido B classificadas quanto ao tempo de injúria no teste de germinação por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.	43
Tabela 15 -	Validação cruzada e externa do lado do embrião da semente do híbrido B classificadas quanto ao tempo de injúria nos testes de primeira contagem, emergência/IVE e teste de frio por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.....	44
Tabela 16 -	Endosperma da semente do híbrido B classificadas quanto ao tempo de injúria nos testes de primeira contagem, emergência/IVE e teste de frio por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.	44
Tabela 17 -	Sementes moídas do híbrido B classificadas quanto ao tempo de injúria nos testes de primeira contagem, emergência/IVE e teste de frio por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.....	45

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1	Sementes de milho	12
2.2	Testes de vigor	13
2.3	Análise de imagem.....	14
2.3.1	Análise de sementes e plântulas	16
2.4	Espectroscopia no infravermelho próximo	18
2.4.1	Quimiometria.....	20
3.1	Envelhecimento acelerado	23
3.2	Perfil dos lotes.....	23
3.2.1	Teor de água.....	23
3.2.2	Germinação.....	24
3.2.3	Teste de frio.....	24
3.2.4	Teste de emergência	24
3.2.5	Análise estatística	25
3.3	Análise de imagem de sementes	25
3.4	Análise de imagem das plântulas	25
3.4.1	Análise estatística da análise de imagem.....	27
3.5	Análises da espectroscopia do infravermelho próximo (NIR).....	28
3.5.1	Análise estatística do NIR.....	28
3.5.2	Análise multivariada	28
4.1	Caracterização dos lotes	30
4.2	Análise de imagens	33
4.3	Espectroscopia no infravermelho próximo (Nir).....	36
5	CONCLUSÕES	48
	REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

O milho é uma cultura de grande importância econômica, sendo o cereal mais produzido no Brasil. A importância do seu cultivo se dá por ser um cereal vastamente utilizado, seus usos variam desde a alimentação humana, alimentação animal até usos industriais. Sendo assim, faz-se necessário investimento em tecnologia para a produção de sementes de qualidade cada vez melhores, para alcançar altas produtividades. A avaliação da qualidade de sementes é bastante desafiadora para os tecnólogos de sementes devido à crescente demanda por semente de milho de alto valor agregado, o que torna o processo de controle de qualidade bastante rígido.

Além disso, para serem comercializadas, as sementes devem passar por um processo de certificação. Durante esse processo há padrões mínimos exigidos e isso garante a qualidade das mesmas. Para se conhecer o potencial fisiológico dos lotes realiza-se o teste de germinação, e apesar do teste ser padronizado, ele nem sempre reflete o comportamento das sementes em campo, pois, oferece condições ideais para que ocorra a germinação das sementes, sendo que isso pode mascarar os resultados, e a qualidade dos lotes acaba sendo superestimada.

Desse modo, faz-se necessário a realização de testes complementares, os chamados testes de vigor, que facilitam a decisão sobre o destino dos lotes, pois causam diferentes tipos de estresses nas sementes, avaliando a qualidade das mesmas de forma mais rigorosa, além de serem capazes de identificar estágios menos avançados de deterioração. Uma das limitações para o uso desses testes está relacionada ao tempo gasto para a realização e a subjetividade na avaliação dos testes.

Dentre os testes convencionais de vigor, os mais aplicados para a cultura do milho são: emergência de plântulas, índice de velocidade de emergência, envelhecimento acelerado e o teste de frio. Com o avanço da tecnologia e a mecanização, a automação de procedimentos analíticos é uma alternativa para se reduzir o tempo e a subjetividade, além de possibilitar o avanço no controle de qualidade de sementes de várias espécies.

Atualmente, vem ganhando cada vez mais destaque, a utilização da técnica de análise de imagens e a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR), pois são técnicas rápidas, precisas e não destrutivas, ou seja, as sementes não precisam ser descartadas após as análises e não há a interferência humana nos resultados. Na análise de imagens as sementes são fotografadas por um aparelho específico, e o processamento das imagens é possível por meio de um software que extrai várias informações das sementes e plântulas, como forma,

tamanho, coloração, danos mecânicos, dentre outros. Já o NIR possui ampla aplicação analítica em análises químicas e de controle de qualidade de produtos das áreas de agricultura e alimentos. Para a determinação de um componente particular, a espectroscopia no infravermelho necessita de um conjunto de amostras de calibração, normalmente a propriedade de interesse é determinada por meio de um método de referência. Apesar de serem técnicas promissoras para a avaliação do potencial fisiológico de sementes, são necessárias mais pesquisas e trabalhos na área, para comprovar a eficiência das técnicas como uma ferramenta de avaliação de vigor.

Assim, a proposta nesta pesquisa, foi verificar o potencial de utilização da técnica de análise de imagens pelo equipamento GroundEye[®], através das características de cor e geometria, utilizar o aparelho para realizar o teste de comprimento de plântulas, e utilizar a técnica de espectroscopia no infravermelho próximo na identificação de lotes de diferentes qualidades fisiológicas de sementes de milho.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Sementes de milho

O milho (*Zea mays* L.) é uma das culturas mais estudadas no mundo devido ao seu grande valor socioeconômico, sendo utilizado na alimentação animal por meio da produção de ração, alimentação humana, na forma de farinhas, óleos e flocos, e na indústria de alta tecnologia, como a produção de biocombustível, e é cultivado em regiões que diferem bastante entre si (CONAB, 2013; SILVA, 2010).

O Departamento de Agricultura dos Estados Unidos – USDA, em seu segundo levantamento da safra mundial de milho 2018/19, prevê uma produção global de 1,05 bilhão de toneladas. Desde a safra 1996/97, ou seja, em 23 anos, o consumo global aumentou de forma ininterrupta. O milho é considerado uma cultura de grande importância para o agronegócio brasileiro, o qual ocupa a terceira posição em produção mundial. A estimativa da produção é de 96 milhões de toneladas para o ciclo atual, e o volume apresenta um aumento de 12,9% em relação a 2017/18, reflexo do crescimento esperado em área e produtividade. (DEAGRO, 2018).

Desse modo, é cada vez mais importante a obtenção de sementes de alta qualidade, pois sem o uso das mesmas não é possível produtividade e qualidade satisfatória. Sementes de baixo vigor podem provocar reduções na porcentagem e na velocidade de emergência de plântulas, no tamanho inicial, na produção de matéria seca, na área foliar e nas taxas de crescimento das plantas (MELO et al., 2006), podendo afetar o estabelecimento da cultura, o seu desempenho ao longo do ciclo, e a produtividade final.

Para a comercialização de sementes em geral, são exigidos padrões mínimos no processo de certificação, visando controlar a qualidade das sementes disponíveis no mercado. Os lotes devem apresentar padrões mínimos de pureza física e de germinação para certificação, para sementes híbridas de milho C1 (sementes certificadas de primeira geração) e S1 (sementes não certificadas de primeira geração), são de 98% de pureza física e 85% de germinação (BRASIL, 2013).

Apesar deste ser o mínimo necessário, as empresas estipulam valores superiores aos exigidos, visando a garantia da qualidade das sementes produzidas, isso é fundamental devido à alta competitividade no mercado. O controle de qualidade interno dessas empresas é bastante rigoroso, o que garante alta qualidade em todas as etapas do processo de produção, através de uma série de testes realizados.

2.2 Testes de vigor

Vigor de um lote de sementes é representado pelo potencial do mesmo, em apresentar uma rápida e uniforme emergência de plântulas em campo, originando assim, plântulas normais sob uma ampla faixa de condições ambientais, de acordo com a Association of Official Seed Analysts - AOSA (2009). Para escolher quais os testes a serem utilizados para a avaliação do vigor são considerados os métodos mais rápidos e eficientes que representem o potencial de emergência em condições de campo, e que auxiliem principalmente na tomada de decisão quanto ao manuseio, descarte e comercialização das sementes produzidas (BITTENCOURT et al., 2012).

Já o teste de germinação é considerado um dos mais tradicionais para a avaliação da qualidade fisiológica das sementes, porém, nem sempre os resultados obtidos reproduzem o potencial do lote em condições de campo (OHLSON et al., 2010). A maior limitação do teste de germinação é a sua inabilidade para detectar diferenças de qualidade fisiológica entre lotes de sementes com alta porcentagem de germinação (HAMPTON; TEKRONY, 1995). Assim, outros testes são realizados visando complementar as informações obtidas na germinação, e esses têm por princípio, simular o potencial de emergência em campo sob condições adversas, os chamados testes de vigor (BRANDANI, 2017).

Fazendo breves descrições de alguns dos testes mais comuns de vigor utilizados em análises de sementes de milho, concomitante ao teste de germinação é possível determinar o vigor por meio da porcentagem de sementes germinadas na primeira contagem e da velocidade de germinação (MENDES et al., 2009). Para a cultura do milho realiza-se o teste de primeira contagem no quarto dia do teste de germinação (BRASIL, 2009). O teste de velocidade de germinação oferece a estimativa da capacidade das sementes para germinarem rapidamente, e é um importante indicador da qualidade fisiológica como um índice mais sensível de desempenho de sementes do que a porcentagem de germinação (BANDEIRA et al., 2014). O valor obtido é dependente do tempo médio e da velocidade de germinação das sementes, sendo assim, quanto menor o tempo de germinação, maior o valor do índice (RIGON et al., 2014).

No teste de emergência de plântulas em campo, a semeadura é conduzida em canteiros e após um determinado período em dias, para milho 14 dias (NAKAGAWA, 1994). Dentro desse período é computado o número de plântulas emergidas e quanto maior for percentual de plântulas emergidas, mais vigoroso será o lote. O princípio do teste é que sementes mais vigorosas propiciam maior percentual de emergência em condições de campo (DINIZ et al.,

2013). Através deste teste é possível calcular a velocidade de emergência de plântulas, análogo ao teste de velocidade de germinação, pois possuem princípio e objetivos semelhantes (VANZOLINI et al., 2007). O método estatístico mais comumente adotado para ambos é o de Maguire (1962)

O teste de frio, avalia o potencial fisiológico das sementes em germinarem sob condições de baixa temperatura do solo e, principalmente, a permeabilidade do sistema de membrana das sementes (AOSA, 2009). O teste é um dos mais antigos e populares de vigor em sementes, através dele é possível simular condições adversas encontradas no campo (alta umidade, baixas temperaturas e presença de fungos) (VIEIRA et al., 2010). Para a cultura do milho é considerado o teste mais importante, por ser o que melhor se relaciona com a emergência em campo (NOLI et al., 2008), no entanto, é relativamente moroso. O teste de envelhecimento acelerado avalia o grau de tolerância das sementes após exposição das mesmas a altas temperaturas e umidade relativa (ZUCHI et al., 2013), condições que aceleram a deterioração simulando a perda da qualidade fisiológica que ocorre durante o armazenamento das sementes (FINA et al., 2016), baseia-se no fato de que lotes com alto vigor manterão sua viabilidade quando submetidos a estas condições.

Há também o teste de comprimento de plântulas, este não necessita de equipamentos e nem de analistas especializados, porém, as medições são realizadas manualmente, tornando o teste trabalhoso e sujeito a diferentes avaliações entre analistas (DORNELAS; LOBO; VIEIRA, 2005), uma alternativa que é capaz de reduzir o tempo gasto para esse teste seria a automação desse processo, pois além de ser um teste rápido ele seria também um teste com resultados mais precisos, excluindo assim, a subjetividade (MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009). Uma alternativa é realizar esse teste através da análise de imagens computadorizadas, que apesar de recente, já mostra alto potencial para avaliação de sementes e plântulas.

2.3 Análise de imagem

A imagem digital é a combinação de elementos finitos, cada um com determinado valor e localização, esses elementos são denominados de ‘pixels’ e constituem os elementos formadores de uma matriz digital (GONZALEZ; WOODS, 2010).

O processamento digital de imagens compreende basicamente quatro etapas: a aquisição da imagem, pré-processamento, segmentação e análise (reconhecimento e interpretação). A aquisição pode ser realizada por meio de uma câmera fotográfica, scanner

ou outro sensor que produza uma imagem digital, e tem como objetivo transformar uma imagem em uma representação numérica ajustada, para posteriormente, seguir o processamento digital (MARQUES FILHO; VIEIRA NETO, 1999). Já o pré-processamento consiste em realizar melhorias na imagem, como realces de contraste e remoção de ruídos, garantindo assim, sucesso nas etapas posteriores (GONZALEZ; WOODS, 2000). Nessa etapa, a imagem é dividida em suas partes constituintes. A limiarização é uma das ferramentas de grande importância que constitui a segmentação de imagens, e se caracteriza por reconhecer e distinguir uma imagem do seu fundo, tais como os modelos de HSV, YCbCr e CIE L*a*b (GONZALEZ; WOODS, 2000).

No Modelo HSV (hue, saturation, value) ocorre a distinção dos elementos de matiz, saturação e intensidade da informação de cor exibida em uma imagem da maneira como o olho humano a compreende (MARQUES FILHO; VIEIRA NETO, 1999). O componente matiz (H) separa as cores, por exemplo, o verde do vermelho. A saturação (S) atribui a distância que determinada cor está de seu nível de cinza. Como exemplo tem-se: rosa, cor menos saturada, e vermelho, cor mais saturada. Já o valor (V) refere-se a como a intensidade da luminosidade do objeto é constatada (CANDEIAS; SILVA, 2004).

O modelo YCbCr, é um modelo comumente usado por estúdios de televisão europeus e para trabalhos de compressão de imagem (MARQUES FILHO; VIEIRA NETO, 1999). Com relação ao modelo CIE L*a*b, no ano de 1976, o CIE incluiu e recomendou como um novo espaço de cor, cujas coordenadas são funções não-lineares de X, Y e Z (COMMISSION INTERNATIONALE DE L'ECLAIRAGE, 2016), é um modelo que ordena e descreve todas as cores de acordo com sistema triangular: a coordenada de luminosidade (L *) e são definidas duas coordenadas de cor a* para vermelho/verde e b* para amarelo/azul (HOFFMANN, 2013).

Na última etapa do processamento, denominada de reconhecimento e interpretação, denomina-se o reconhecimento como o processo de atribuição de um rótulo a um objeto fundamentado em suas características, traduzidas por seus descritores. No entanto, a tarefa de interpretação constitui-se em atribuir significado a um conjunto de objetos reconhecidos (MARQUES FILHO; VIEIRA NETO, 1999).

2.3.1 Análise de sementes e plântulas

A análise de imagens é um método rápido, objetivo, pouco oneroso e compacto, e está se espalhando em variados meios da indústria. É considerado também um método não destrutivo, e suas aplicações em diversos campos da indústria de alimentos e na agricultura têm sido relatadas. Técnicas de análise de imagens podem facilitar o trabalho de identificação de cultivares, determinação de sementes de diferentes cores, danos mecânicos e de classificação de diferentes tamanhos de sementes (ANDRADE, 2014).

Ao longo dos anos, vários sistemas de análises de imagens foram descritos na literatura. Na década de 50 surgiram os primeiros relatos, Simack e Gustafson fizeram uso da técnica de raios-X para avaliar a qualidade de sementes de espécies florestais (ANDRADE, 2017). A partir da década de 80, vários autores utilizaram a técnica de análise de imagens computadorizada com o objetivo de avaliar a germinação e o vigor de sementes em diferentes espécies (KEYS; MARGAPURAM; REUSCHE, 1984; MC CORMAC; KEEFE; DRAPER, 1990; SAKO et al., 2001; MARCOS FILHO, KIKUTI; LIMA, 2009; ALVARENGA; MARCOS FILHO; GOMES JUNIOR, 2012; PINTO et al., 2015). Keys; Margapuram e Reusche (1984) desenvolveram o sistema automatizado denominado CASAS (Computerized Automated Seed Analysis System) para avaliar a germinação e vigor em sementes. Em 2001, na Universidade de Ohio/EUA, Sako et al. (2001) desenvolveram um sistema automatizado denominado Seed Vigor Imaging System-SVIS, para avaliação do vigor em sementes de alface. As imagens nesse sistema são digitalizadas por um scanner invertido e visualizadas em um computador. Depois do processamento das imagens, por meio do software SVIS, são obtidos resultados dos parâmetros de crescimento, vigor e uniformidade, cujos valores podem alterar de 1 a 1000. Esse sistema foi adaptado para o uso de diferentes espécies na avaliação do vigor de sementes como soja (HOFFMASTER et al., 2003; MARCOS FILHO; KIKUTI; LIMA, 2009; WENDT et al., 2014), milho (OTONI; MCDONALD, 2005; GOMES JUNIOR et al., 2009; ALVARENGA; MARCOS FILHO; GOMES JUNIOR, 2012; DIAS et al., 2015), melão (MARCOS FILHO et al., 2006), berinjela (SILVA; CÍCERO, 2014) e girassol (ROCHA, SILVA; CICERO, 2015).

No ano de 2011 foi desenvolvido o equipamento GroundEye[®] pela empresa Tbit, empresa incubada na Universidade Federal de Lavras (UFLA), com objetivo de capturar imagens de sementes e processá-las por meio de imagens, histogramas, gráficos e outros, que facilitam a análise de imagens das sementes e plântulas (ANDRADE, 2014).

Este equipamento é composto por um módulo de captação e um software de análise, e possui as versões GroundEye® S120, S800, S800 D, L300, L800 e SC300. O objeto para se estudar é colocado sob uma bandeja acrílica no módulo de captação e sua imagem é capturada por uma ou duas câmeras, dependendo da versão utilizada. O equipamento utilizado na pesquisa foi o GroundEye® S800, essa versão apresenta visão superior da semente ou plântula, ou seja, ele captura a face do objeto em estudo, além disso, é utilizado para sementes maiores com o tamanho mínimo de 2 mm de diâmetro e o equipamento possui área útil de 36 x 24cm e dimensões de 120 x 53 x 137cm.

Independente do modelo do equipamento a imagem pode ser capturada e depois analisada, ou capturada e analisada concomitantemente. Assim que a imagem é capturada é necessário que se faça configurações no plano de fundo para melhor análise das imagens. A configuração é a etapa mais importante para as análises de sementes ou plântulas por meio desse sistema. Nesta etapa, a configuração da cor de fundo é o momento no qual se utiliza dos parâmetros dos espaços de cor (HSV, YCbCr ou CIE L*a*b) para separar os objetos do fundo e, assim, ficarem o mais próximo do real possível (MANUAL GROUNDEYE®, 2016).

Na etapa de análise, as características das sementes e plântulas são extraídas e várias ferramentas podem auxiliar na interpretação dos dados como gráficos, cores, formas, relatórios e as ferramentas de inteligência artificial (classificadores, redes de decisão, expressões e área de interesse por cor) (MANUAL GROUNDEYE®, 2016).

Já a avaliação do vigor é realizada por meio de inferências, de modo que o sistema automaticamente compara os valores de vigor calculados nos testes feitos em laboratório com os valores fornecidos pelo software. Algumas informações são utilizadas para o cálculo do vigor por inferência como: média da razão entre a raiz primária e a parte aérea; média do tamanho total (parte aérea + raiz primária); quantidade de sementes mortas ou não germinadas; média do tamanho da parte aérea; média do tamanho da raiz primária; desvio padrão do tamanho da parte aérea; desvio padrão da raiz primária; desvio padrão da razão entre a raiz primária e a parte aérea; desvio padrão do tamanho total (raiz primária + parte aérea) e tamanho médio do esqueleto (todas as ramificações encontradas) (MANUAL GROUNDEYE®, 2016), esses dados podem ser utilizados também para o teste de comprimento de plantas.

Na literatura encontra-se trabalhos que fizeram uso da técnica de análise de imagens. Verificando a potencialidade de uso do sistema na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho, Pinto et al. (2015) trabalharam com o GroundEye®. Os autores fizeram comparações com e sem o substrato TNT azul, e com e sem correção manual das imagens, e

após as imagens e as comparações com os testes padrões foi possível concluir que o vigor de plântulas de milho deve ser realizado no terceiro dia, em papel branco, e não há necessidade de correção manual.

O objetivo de Andrade et al. (2016) foi verificar a possibilidade de uso do GroundEye® e comparar a eficiência com métodos tradicionais usados na avaliação da qualidade física, várias porcentagens de sementes verdes foram adicionadas nas amostras e independentemente da quantidade, o equipamento demonstrou alta capacidade para detecção das sementes verdes. Também foi avaliada a possibilidade do uso da técnica para diferenciar cultivares de soja, pelas características de coloração do hilo, formato e brilho das sementes. As sementes foram analisadas por melhoristas, analistas e pelo GroundEye® e, posteriormente, foram contabilizadas as que obtiveram a mesma classificação entre os três classificadores. O menor índice foi observado no brilho das sementes, e apenas 3, das 21 cultivares analisadas, receberam a mesma classificação. Já para forma de sementes, 6 cultivares receberam a mesma classificação, e em relação à coloração do hilo, 14 das 21 cultivares obtiveram a mesma classificação (ANDRADE, 2014).

Brandani (2017) objetivou adequar uma metodologia de análise de imagens de plântulas e verificar a potencialidade de uso do equipamento na avaliação do vigor de sementes de soja, as imagens das plântulas foram capturadas no terceiro dia do teste de germinação, o autor comparou os resultados das medições das plântulas obtidas no equipamento e os resultados obtidos manualmente e constatou que foram estatisticamente iguais.

Em vista disso, a utilização da análise de imagem para avaliação da qualidade de sementes, utilizando o sistema GroundEye®, é uma técnica promissora, entretanto, são necessárias mais pesquisas para que a correlação entre a técnica de análise de imagem com os testes tradicionais seja possível e confiável.

2.4 Espectroscopia no infravermelho próximo

A espectroscopia é um processo de medição baseado na absorção e emissão de energia eletromagnética em alguma região do espectro eletromagnético (GUIMARÃES, 2016), é uma técnica baseada nas vibrações moleculares (HUANG et al., 2008).

A região do espectro eletromagnético, conhecida como a região da radiação infravermelha, é compreendida entre os comprimentos de onda de 700 a 1×10^6 , que por sua vez é dividida em 3 diferentes regiões: médio à 2500 a 1000nm, infravermelho distante à

10000 a 1×10^6 e infravermelho próximo que corresponde à 700 a 2500 nanômetros. Esses espectros resultam da vibração e, conseqüente, absorvência, principalmente em ligações Carbono-Hidrogênio (C-H) Oxigênio - Hidrogênio (O-H), Enxofre – Hidrogênio (S – H) e Nitrogênio – Hidrogênio (N – H), presentes em compostos naturais (GUIMARÃES, 2016).

A espectroscopia no infravermelho próximo (NIR, do inglês Near Infrared), recebeu esse nome por se tratar da região do espectro eletromagnético imediatamente superior à região visível, a ‘mais próxima’ ao visível (350-750 nm) (LIMA; BAKKER, 2011). A técnica começou a ser aplicada de forma analítica a partir de 1960 (REICH, 2005), a qual ganha força principalmente para determinações quantitativas de produtos agrícolas e alimentares, e também nos mais variados setores industriais, como indústrias de petróleo, têxtil, carvão, cosméticos, polímeros, química, tintas e farmacêuticas (ROGGO et al., 2007).

O principal objetivo desta técnica é a determinação de grupos funcionais de uma amostra, pois cada grupo funcional absorve em uma frequência característica desta região (SILVERSTEIN; WEBSTER, 1998).

A espectroscopia NIR pode ser realizada por reflectância difusa, transmitância, transflectância ou absorção. A escolha do modo de medição é determinada pelas características ópticas da amostra. Geralmente, materiais transparentes são medidos pelo modo de transmitância (MAGALHÃES, 2014), onde o princípio baseia-se na absorção da radiação pela amostra, e o decréscimo da intensidade do sinal captado pelo sensor/detector em uma determinada frequência sugere quais grupos podem estar absorvendo energia para vibrações. Através da diferença da energia emitida e a energia recebida pelo detector, consegue-se verificar as frequências que a amostra absorveu mais (LEITÃO, 2012). Quando se trata de amostras sólidas (inteiras ou pó), o modo de reflectância difusa é o mais indicado. A radiação incide na amostra, espalha sobre a superfície, e penetra alguns milímetros na amostra, onde uma parte é absorvida, e a radiação não absorvida é refletida pela amostra (SILVA, 2011). As medidas de transflectância funcionam como uma combinação dos métodos de transmitância e reflectância. Esse modo de aquisição pode ser empregado para amostras líquidas, viscosas e em suspensão. Os espectros são obtidos primeiramente por reflectância, onde a radiação incidente atravessa a amostra e, em seguida, é refletida, atravessando novamente a amostra e sendo então, captada pelo detector, gerando um espectro de resposta (MAGALHÃES, 2014; SILVA, 2011).

A técnica NIR oferece vantagens como rápida obtenção de dados, apresenta caráter não destrutivo e não invasivo e, por esse motivo, muitas vezes não é necessário preparar previamente a amostra, o que gera economia de tempo e reagentes, minimizando erros do

analista (por permitir a diminuição do número de medidas padrão) (HUANG et al., 2008; MA et al., 2017; PASQUINI, 2003; POREP; KAMMERER; CARLE, 2015). Entretanto, depende em alguns casos de métodos quimiométricos. Assim, por ser uma metodologia aplicada de forma indireta (via calibração multivariada), demanda comparação com método de referência, tendo sua confiabilidade relacionada com a calibração e com erros analíticos que esta apresenta (JAMRÓGIEWICZ, 2012; LUYPAERT; MASSART; VANDER HEYDEN, 2007). A espectroscopia NIR é uma técnica interessante para a investigação científica e vem ganhando espaço entre as técnicas mais utilizadas, principalmente quando associadas a quimiometria (POREP; KAMMERER; CARLE, 2015).

São muitas as áreas que utilizam a espectroscopia no infravermelho próximo, na área de sementes, encontrando-se na literatura, bons resultados na avaliação da qualidade, como em soja e algodão (BAZONI et al., 2017; GAITÁN et al., 2008), de composição, teor de nitrogênio em *Vigna unguiculata* (ISHIKAWA et al., 2017), composição de óleo em girassol e canola (GRUNVALD et al., 2014; ROSSATO et al., 2013), bem como a classificação de genótipos em algodão, cevada e mamona (SOARES et al., 2016), dentre outros.

2.4.1 Quimiometria

O espectro contém informação relacionada aos grupos funcionais, e estas absorções apresentam-se com alto grau de sobreposição, havendo a necessidade da aplicação de métodos quimiométricos para interpretação dos resultados (MA et al., 2017).

A quimiometria é uma área da química analítica que se refere à aplicação de métodos matemáticos e estatísticos para planejar, otimizar ou selecionar procedimentos de medidas e experimentos, bem como extrair o máximo da informação química relevante, com a análise de dados químicos (JACONI, 2011; ROGGO et al., 2007). Assim, permite que a avaliação da influência das variáveis existentes na informação que se deseja extrair dos dados seja feita de forma global, sendo possível observar as correlações entre elas (BRERETON, 2000).

Os métodos quimiométricos mais utilizados são os de regressão, e para análise quantitativa os mais conhecidos são a regressão linear múltipla (MLR - *Multiple Linear Regression*), regressão por componentes principais (PCR - *Principal Components Regression*) e regressão por quadrados mínimos parciais (PLS - *Partial Least Squares*) (BEEBE; PELL; SEASHOLTZ, 1998) Já para análises qualitativas destacam-se a regressão por mínimos quadrados parciais com análise discriminante (PLS-DA- *Partial Least Squares* –

Discriminant Analysis) e a análise de componentes principais (PCA- *Principal Component Analysis*).

A regressão multivariada pode ser definida como uma série de operações que estabelecem uma relação (modelo estatístico) entre dois grupos de dados (X e y), em que X é o bloco dos dados experimentais contendo as variáveis instrumentais (espectros) e y formado pela(s) variável(s) dependente(s), que representam as respostas analíticas, tais como concentrações e porcentagem de germinação, por exemplo (MARTENS; NAES, 1989).

A regressão por mínimos quadrados parciais com análise discriminante (PLS-DA), baseia-se na abordagem PLS, onde dois blocos de variáveis são correlacionados, onde o eixo X corresponde ao conjunto de dados obtidos (variáveis independentes), e o eixo Y é gerado automaticamente, a partir da variável classe já existente (variáveis dependentes). Os componentes são construídos tentando encontrar um acordo apropriado entre duas finalidades: descrever o conjunto das variáveis e prever a resposta (MARTINA et al., 2007; MASOUM et al., 2006). Portanto, o objetivo é encontrar um modelo que separa os dados, levando em conta classes previamente conhecidas (WESTERHUIS et al., 2010). Atribuem-se diferentes valores às classes, tais valores podem ser por exemplo, 1 ou 0, dependendo de pertencer ou não à classe representada por esta coluna. Busca-se assim, encontrar as direções no espaço multivariado X que separam as classes conhecidas, baseadas no conjunto de treinamento, ou seja, as amostras serão classificadas de acordo com suas características (CIOSEK et al., 2005; KIRALJ; FERREIRA, 2009; WHELEHAN et al., 2006).

Antes da aplicação do modelo construído, o mesmo deve ser validado com o objetivo de testar a sua capacidade preditiva. Esta validação consiste em testar o modelo, prevendo valores de y de novas amostras. Isto é feito para estabelecer se elas de fato irão refletir o comportamento da resposta de interesse. Essa validação é realizada de duas maneiras: validação cruzada e validação externa (LORBER, 1988).

Na validação cruzada, geralmente utiliza-se $\frac{3}{4}$ da amostra, uma (*leave one out*) ou algumas amostras do conjunto de calibração (blocos de amostras) são separadas, um modelo é construído com as amostras restantes e a previsão é feita para a(s) amostra(s) separada(s) inicialmente. O processo é repetido até que todas as amostras tenham sido previstas uma vez, e a raiz quadrada da soma dos quadrados dos erros de validação cruzada (RMSECV – *root mean square error of cross validation*) tenha sido computada para o modelo PLS com diferentes números de variáveis latentes (NAES et al., 2002). É através do RMSECV e do coeficiente de correlação da validação cruzada (rvc), medido entre os valores estimados e experimentais do método de referência, que o melhor modelo PLS pode ser determinado.

Já na validação externa, é realizada geralmente com $\frac{1}{4}$ das amostras, essa é capaz de indicar a capacidade de predição do modelo para sementes que não participaram da construção do modelo de calibração, indicando assim, o quão confiável é esse tipo de metodologia para outras sementes. Quanto maior o número de variáveis, mais específico se torna o modelo, assim, não será possível utilizar esse modelo para outras sementes, o modelo se torna específico apenas para aquele lote estudado (ARAUJO, 2007; BARTHUS, 1999).

Para avaliar o ajuste do modelo construído utiliza-se os parâmetros RMSEC e RMSEV, que são considerados indicadores de exatidão, onde os valores gerados por estes parâmetros devem ser o mais próximo possível entre si. Isso sugere que os valores estimados pelos modelos multivariados apresentaram uma boa concordância com os métodos de referência, e indica que o número de variáveis latentes escolhidos foi adequado para o modelo, não havendo sobreajuste ou subajuste (VALDERRAMA; BRAGA; POPPI, 2007).

3 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada no Laboratório Central de Análise de Sementes da Universidade Federal de Lavras – UFLA, no período de janeiro de 2017 a junho de 2018. Foram utilizados no trabalho, 12 lotes de sementes de milho com qualidade fisiológica distintas, sendo 6 lotes (0a, 24a, 48a, 72a, 96a, 120a) do híbrido BM915PRO, peneira 22, da empresa Biomatrix, denominado Híbrido A no presente trabalho, e 6 lotes (0b, 24b, 48b, 72b, 96b, 120b) do híbrido 2B647PW, peneira 18, da empresa Santa Helena, denominado Híbrido B. Para a obtenção dos diferentes níveis de qualidade, cada híbrido foi dividido em 6 sublotos. Estes sublotos foram submetidos a estresse pela metodologia do teste de envelhecimento acelerado em diferentes tempos, sendo de: 0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas.

3.1 Envelhecimento acelerado

O envelhecimento acelerado foi conduzido em caixa plástica (11,0 x 11,0 x 3,5 cm), pelo método de caixas plásticas de germinação (AOSA, 2009). As sementes de cada tratamento foram distribuídas sobre a tela inox interna da caixa, em camada única, de maneira a cobri-la de forma completa e uniforme, e no fundo da caixa colocou-se 40 mL de água destilada. As caixas foram tampadas e mantidas em BOD regulada a $42\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ durante diferentes períodos de tempo (0, 24, 48, 72, e 96 e 120 horas), resultando em seis lotes de sementes de milho de qualidade fisiológica distintas de cada híbrido. Posteriormente ao período de envelhecimento as sementes foram mantidas em local com temperatura ambiente até atingirem teor de água próximos entre os lotes. As sementes foram submetidas a testes fisiológicos de vigor que serviram de parâmetro de comparação e referência para o teste de análise de imagem e espectroscopia no infravermelho próximo.

3.2 Perfil dos lotes

3.2.1 Teor de água

Determinou-se o teor de água pelo método de estufa a $105\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ por 24 horas (BRASIL, 2009). Foram utilizadas 2 repetições de 5 g de sementes por tratamento. Os resultados foram expressos em porcentagem.

3.2.2 Germinação

O teste de germinação foi realizado com 4 repetições de 50 sementes. Utilizou-se como substrato o papel toalha na forma de rolo, umedecido com água destilada equivalente a 2,5 vezes o peso seco do papel. Os rolos foram mantidos em germinadores à temperatura de $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, e as leituras foram realizadas ao quarto dia (primeira contagem de germinação) e ao sétimo dia, após a semeadura (BRASIL, 2009). Realizou-se a contagem das plântulas normais e os resultados foram expressos em porcentagem média.

3.2.3 Teste de frio

Utilizou-se 4 repetições de 50 sementes. A semeadura foi realizada em bandejas de plástico (51 x 30 x 9,7 cm) utilizando-se uma mistura de areia e terra na proporção de 2:1, sendo umedecido com 60% da sua capacidade de retenção de água (KIKUTI; PINHO; REZENDE, 1999). Após a semeadura, as caixas foram mantidas em câmara fria a $10\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ durante 7 dias. Após esse período, as caixas foram acondicionadas em câmara de crescimento vegetal, com temperatura de $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, onde permaneceram por mais 7 dias, e, em seguida, foi realizada a contagem de plântulas emergidas (BARROS et al., 1999). Os resultados foram expressos em porcentagem.

3.2.4 Teste de emergência

Para a determinação da emergência foram realizadas contagens diárias, sempre às 14 horas, do número de plantas emergidas, sendo considerada a emergência a partir do momento em que a plântula pode ser vista de um ângulo qualquer a olho nu. A contagem foi efetuada até o 14^a dia após a semeadura, onde houve estabilização da emergência (NAKAGAWA, 1994). O Índice de Velocidade de Emergência (IVE) foi avaliado por meio de contagens diárias de estande até a estabilização do mesmo, e os resultados foram expressos em porcentagem, calculado pela fórmula proposta por MAGUIRE (1962).

$$IVE = \frac{E_1}{N_1} + \frac{E_2}{N_2} + \dots + \frac{E_n}{N_n} \quad (1)$$

onde: IVE = índice de velocidade de emergência.

E_1, E_2, \dots, E_n = número de plântulas normais computadas na primeira contagem, na segunda contagem e na última contagem.

N_1, N_2, \dots, N_n = número de dias da semeadura à primeira, segunda e última contagem.

3.2.5 Análise estatística

Utilizou-se o delineamento inteiramente ao acaso (DIC), com quatro repetições em esquema fatorial 6×2 , sendo o primeiro fator relativo à quantidade de lotes de sementes de milho, e o segundo fator relativo, à quantidade de híbridos, com 4 repetições de 50 sementes para os testes de caracterização dos lotes. Para a análise dos dados foi utilizado o teste de comparação de médias, por meio do teste de Scott Knott a 5% de significância, usando o software Sisvar[®] (FERREIRA, 2003).

3.3 Análise de imagem de sementes

A captura das imagens das sementes foi realizada pelo equipamento GroundEye[®] S800. A calibração de cor de fundo utilizado foi o modelo de cor CIE $L^*a^*b^*$ com luminosidade de 0 a 100, dimensão “a” -120 a 120, e dimensão “b” de -120 a -31. O tipo de parâmetro de reconhecimento foi sementes em geral, fundo de preenchimento não selecionado e o tamanho mínimo de descarte de objeto de $0,2 \text{ cm}^2$.

As sementes foram inseridas uma a uma na bandeja de acrílico, posteriormente à captura, o software gerou uma série de informações que foram transformadas em relatórios, que facilitaram a interpretação das imagens das sementes. Foram avaliadas características de cor das sementes como brilho, concentração da matiz, dominância amarela, dominância laranja, intensidade e luminosidade, e foram extraídas informações sobre a geometria das sementes também como afinamento, área, circularidade, complexidade da forma, deformação do contorno, diâmetro máximo e mínimo, esfericidade da forma, extensão, irregularidade do contorno e perímetro.

3.4 Análise de imagem das plântulas

Utilizou-se o mesmo equipamento para as imagens nessa etapa. As plântulas de milho utilizadas na análise de imagem foram oriundas do teste de germinação, e a captura das imagens foi realizada no quarto dias após a semeadura, de acordo com a primeira contagem

da germinação (BRASIL, 2009). As plântulas foram retiradas do papel germitest com muito cuidado para evitar danos e perdas, foram colocadas na bandeja de acrílico de modo que não ficassem sobrepostas, após a captura das imagens as plântulas foram descartadas e realizou-se outro teste de germinação para evitar danos/interferência no teste de germinação.

Na configuração da análise para a calibração da cor de fundo foi utilizado o modelo CIE $L^*a^*b^*$ com índice de luminosidade de 0 a 100, dimensão “a” -30,7 a -29,3 e dimensão “b” de -39,1 a -0,9 e o tamanho mínimo de descarte de objeto de 0,1 cm². Na análise das imagens foram extraídos valores médios das características das plântulas como o comprimento da raiz (CR), comprimento do hipocótilo (CH), razão do comprimento da raiz pelo comprimento do hipocótilo (CR/CH), número de ramificações (R), comprimento de raízes secundárias (RS) e comprimento da plântula (CP). Após a análise das imagens das plântulas observou-se a necessidade de corrigir algumas imagens em que a detecção automática não foi eficiente (coleóptilo e raiz) (FIGURA 1).

Figura 1 - Tela de correção manual do GroundEye®



Tela de correção manual do GroundEye®: (a) identificação automática da raiz e hipocótilo e (b) identificação automática da raiz e hipocótilo (errada) e (c) correção manual da radícula, UFLA, Lavras, MG, Brasil, 2018.

Fonte: Da autora (2018).

3.4.1 Análise estatística da análise de imagem

Utilizou-se para o método de análise de imagens de sementes, 4 repetições de 100 sementes, e para a análise de imagens de plântulas foram utilizadas 4 repetições de 50 plântulas. Para a análise dos dados foi utilizado o teste de comparação de médias, por meio do teste de Scott Knott a 5% de significância, usando o software Sisvar® (FERREIRA, 2003).

3.5 Análises da espectroscopia do infravermelho próximo (NIR)

Os espectros foram obtidos colocando as sementes de milho uma a uma, ou em cubetas (sementes moídas), diretamente na saída da fonte de infravermelho do equipamento Tensor 27 da Bruker®, com geração dos espectros pelo detector FT-IR (Fourier-Transform Near-Infrared) acoplado, com auxílio do software OPUS_Spectroscopyversion6, do mesmo fabricante do equipamento.

Para constituição do banco de dados de leitura, o espectrômetro coletou 48 varreduras em cada medida de absorbância, com resolução de 8 cm^{-1} no intervalo 10000 a 4000 nm, por repetição. Foram obtidos espectros dos dois lados da semente, endosperma e embrião, respectivamente. As amostras moídas foram oriundas da moagem de 10 sementes por repetição, em moinho modelo IKA® A11 basic, com adição de nitrogênio líquido e os espectros foram obtidos logo após a moagem das sementes para evitar perdas.

3.5.1 Análise estatística do NIR

Para a avaliação no NIR das sementes inteiras, foram utilizadas 100 sementes por lote, totalizando 1.200 sementes. Desse modo, foram obtidos 1.200 espectros do lado do endosperma e 1.200 espectros do lado do embrião. Já para as sementes em pó, cada amostra moída foi composta da moagem de 10 sementes por lote, e foram realizadas 10 repetições.

3.5.2 Análise multivariada

A partir do agrupamento das amostras de sementes inteiras e moídas, de milho em diferentes qualidades, foi otimizado um modelo por validação cruzada, 3/4 das amostras foram utilizadas para calibração (validação cruzada) e 1/4 para teste (validação externa), o modelo foi construído a partir do método de classificação multivariada por regressão de mínimos quadrados parciais com análise discriminante (PLS – DA), utilizando o software estatístico Pirouette®, sendo as classes (y) as variáveis dependentes e os espectros obtidos constituíram as variáveis independentes (x). Foi realizada a transformação dos dados pela aplicação da derivativa de segunda ordem, para a evidenciação dos picos mais importantes de cada espectro.

A estatística testou o modelo com até 15 variáveis, prosseguindo com a validação cruzada, em que se utiliza cada vez, uma parte da amostra, sem participar do conjunto

(*leaveone out*), testando-o em seguida, até todas as partes serem testadas. Com o restante das amostras que não foram utilizadas para a construção do modelo (1/4), foi realizada a validação externa.

A escolha dos modelos mais adequados para cada tratamento foi feita comparativamente, em que foi levada em consideração, a quantidade de acertos das validações cruzada e externa, o menor número de variáveis, para ser possível a classificação, os menores valores da raiz quadrada da soma do quadrado dos erros de calibração (RMSEC) e da raiz quadrada do erro médio quadrático da validação cruzada (RMSEV), e os maiores valores dos coeficientes de calibração e validação.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização dos lotes

Os teores semelhantes de água das sementes dos doze lotes é um ponto bastante importante, uma vez que a uniformização do teor de água das sementes dos diferentes lotes é fundamental para a padronização das avaliações e obtenção de resultados coerentes (DODE et al., 2013). Segundo Coimbra et al. (2009), essa similaridade de valores é algo primordial, pois assim, os testes não são afetados por diferenças na atividade metabólica das sementes, na velocidade de umedecimento e de deterioração.

Tabela 1 - Teor de água dos híbridos A e B antes da realização dos testes.

Teor de água	
Híbrido A	10,7% a 11,6%
Híbrido B	10,9% a 11,8%

Fonte: Da autora (2018).

A dificuldade de se adotar apenas um teste de vigor, reside no fato de que as diferentes metodologias se baseiam em diferentes parâmetros. O teste de frio e o teste de envelhecimento acelerado são considerados de resistência, pois o lote de sementes que melhor resistir às condições adversas é considerado o de maior potencial fisiológico (MIGUEL et al., 2001).

A qualidade das sementes pode ser caracterizada pela germinação e pelo vigor, que pode ser definido como a somatória de atributos que conferem à semente, o potencial de germinar, emergir e prover rapidamente plântulas normais sob ampla diversidade de condições ambientais (TUNES et al., 2011).

Na avaliação da qualidade de sementes de milho, observou-se o efeito da interação entre os híbridos e o tempo de envelhecimento para todas as características avaliadas, demonstrando assim, que o envelhecimento proporcionou alterações na qualidade das sementes, com exceção do IVE do híbrido A (TABELA 2).

Tabela 2 - Resultados da caracterização dos lotes com os valores médios dos testes de primeira contagem de germinação (PC), germinação (G), teste de frio (TF), emergência de plântulas (E) e índice de velocidade de emergência (IVE) dos seis lotes dos 2 híbridos.

		Híbrido A					
		PC(%)	G(%)	TF(%)	E(%)	IVE	
Tempo de injúria	0	58.5 A	91.5 A	87.0 A	97.0 A	26.16 A	
	24	60.0 A	93.5 A	78.0 A	97.5 A	27.86 A	
	48	55.0 A	90.5 A	85.5 A	95.0 A	29.60 A	
	72	56.5 A	88.5 A	69.5 B	93.0 A	27.30 A	
	96	43.0 B	83.0 B	67.5 B	88.5 A	24.90 A	
	120	39.0 B	70.5 C	56.5 B	72.0 B	21.10 A	
			Híbrido B				
	0	54.5 A	88.0 A	74.0 A	94.5 A	29.93 A	
	24	58.0 A	89.0 A	73.0 A	100 A	29.63 A	
	48	60.5 A	94.5 A	65.5 A	98.0 A	31.81 A	
72	56.5 A	89.0 A	52.5 B	95.0 A	27.47 A		
96	42.5 B	83.0 B	51.5 B	96.5 A	27.67 A		
120	38.0 B	74.0 C	37.5 B	71.5 B	19.78 B		
CV (%)		11.60	5.20	17.28	5.78	14.19	

Fonte: Da autora (2018).

Por meio da tabela também é possível diferenciar o teste de primeira contagem em 2 níveis de potenciais fisiológicos diferentes. Os lotes 96 e 120 dos híbridos A e B obtiveram pior desempenho quando comparado aos outros lotes. Verifica-se que os lotes do híbrido A apresentaram germinação superior a 70% e o híbrido B superior a 74 %, o padrão mínimo estabelecido para a germinação de lotes comerciais de sementes de milho é de 85% (BRASIL, 2013). Essa baixa porcentagem de germinação constatada no tempo de injúria de 120 horas de ambos os híbridos pode ser explicada pelo alto número de sementes mortas e/ou infectadas. Pelo teste de germinação foi possível classificar os dois híbridos lotes em 3 níveis de potencial fisiológico, sendo que os lotes 0, 24, 48, 72 apresentaram os maiores valores de germinação e o lote de 120 apresentou o pior resultado (TABELA 2). Bárbara (2016), trabalhando com sementes de tabaco de diferentes qualidades fisiológicas, constatou maior variação de qualidade de lotes no teste de primeira contagem do que no teste de germinação, fato não observado nessa pesquisa onde foram encontrados 2 e 3 níveis de qualidade, respectivamente. O autor constatou diminuição do percentual de germinação após 48 horas, no presente trabalho, essa diferenciação ocorreu após 72 horas.

No teste de frio foi possível constatar também 2 níveis de qualidade (alto e baixo vigor), tanto no híbrido A quanto no híbrido B. O lote 72, que na germinação e primeira contagem se apresentou superior aos lotes 96 e 120, no teste de frio não se diferencia dos mesmos, ou seja, os lotes 0, 24, 48 foram superiores aos demais no referido teste (TABELA

2). É de se esperar que o desempenho dos lotes possa variar entre os testes fisiológicos aplicados às sementes, visto que estes avaliam características distintas. Castro (2011) e Fessel et al. (2003), também detectaram diferenças no desempenho de lotes de sementes de milho em função dos testes de vigor utilizados na avaliação do potencial fisiológico. Na emergência em canteiro, apenas o lote 120 de ambos os híbridos obteve desempenho inferior dos demais lotes.

Em relação ao índice de velocidade de emergência (TABELA 2), não foram encontradas diferenças significativas entre os lotes do híbrido A, e no híbrido B observa-se que o lote 120 apresentou vigor inferior aos demais.

Na Tabela 3, é apresentado o resultado do teste de comprimento de plântulas dos híbridos A e B no equipamento GroundEye®, sendo que o teste foi realizado no quarto dia após a montagem do teste de germinação. Em relação ao híbrido A, observa-se que o comprimento da raiz nos tempos de injúria 0, 24 e 48 não diferenciaram entre si, após esse período o tamanho foi decrescendo de acordo com o tempo de injúria, ou seja, a partir de 72 horas o tamanho da radícula começa a diminuir em relação aos tempos anteriores, sendo o lote 120 o que apresentou menor tamanho de radícula. Na verdade, o lote 120 apresentou os resultados mais baixos em todas as medições utilizando o equipamento.

Tabela 3 - Valores médios de comprimento de raiz (CR), comprimento de hipocótilo (CH), razão do comprimento da raiz pelo comprimento do hipocótilo (CR/CH), número de ramificações (R), comprimento das raízes secundárias (RS) e comprimento de plântula (CP), dos seis lotes de sementes de milho dos híbridos A e B obtidos pela análise de imagens no aparelho GroundEye®.

		Híbrido A						
		CR(cm)	CH(cm)	CR/CH	R	RS(cm)	CP(cm)	
Tempo de injúria	0	11.19 A	3.38 B	3.69 A	7.20 A	18.91 A	14.57 A	
	24	11.49 A	3.52 B	3.33 A	5.35 B	18.11 A	15.01 A	
	48	11.72 A	3.86 A	3.18 A	5.55 B	18.36 A	15.58 A	
	72	10.67 B	3.08 C	3.43 A	4.95 C	13.11 B	13.75 B	
	96	09.93 C	2.95 C	3.54 A	4.78 C	11.57 B	12.87 B	
	120	06.22 D	2.48 D	1.84 B	4.01 D	09.24 C	08.71 C	
			Híbrido B					
	0	09.61 B	2.51 B	4.55 A	5.48 A	12.21 B	11.92 B	
	24	10.69 A	2.57 B	4.29 A	5.45 A	14.57 A	13.26 A	
	48	10.37 A	2.93 A	3.65 B	5.49 A	15.94 A	13.30 A	
	72	11.02 A	2.61 B	4.29 A	5.54 A	12.91 B	13.63 A	
	96	09.56 B	2.53 B	3.75 B	5.32 A	12.31 B	12.09 B	
	120	07.71 C	2.33 C	2.75 C	4.60 B	11.15 C	10.04 C	
CV(%)		35.94	41.21	62.55	35.37	57.90	34.55	

Fonte: Da autora (2018).

Analisando o híbrido A, é possível notar que o vigor cai de acordo com o tempo de injúria, esse padrão só não é observado no tamanho do hipocótilo, onde o tempo de injúria de 48 obteve maior tamanho, seguido dos lotes 0 e 24. Na relação entre raiz e hipocótilo apenas o lote 120 se diferenciou dos demais. O lote 0 foi o lote que apresentou maior número de ramificações, enquanto os lotes 24 e 48 e 72 e 96 apresentaram o mesmo número de ramificações estatisticamente. Os lotes 24 e 48 mesmo apresentando menores ramificações em relação ao lote 0, e em relação as raízes secundárias os 3 lotes não apresentaram diferença. De acordo com os resultados anteriores, o tamanho total das plântulas seguiu a mesma tendência, e os lotes 0, 24 e 48 apresentaram o maior tamanho de plântulas, sendo que esses lotes também foram superiores aos demais no teste de frio (TABELA 3).

Os testes de comprimento de plantas e peso de matéria seca são parâmetros em testes de vigor, pois as que apresentam maior tamanho e massa apresentam maior capacidade de suprimento de reservas dos tecidos de armazenamento e maior incorporação destes pelo tecido embrionário (OLIVEIRA et al., 2009).

No híbrido B não foi constatado nenhum padrão entre as medições. Os valores não foram decrescentes de acordo com o tempo de injúria. Porém, o que foi observado nos dois híbridos é que o lote 120 apresentou o pior desempenho. O maior tamanho de radícula foi encontrado nos lotes 24, 48 e 72. O lote 0 estatisticamente foi igual ao lote 96. O lote 48 apresentou maior hipocótilo, já os lotes 0, 24, 72 e 96 não apresentaram diferença entre si. Em relação as ramificações apenas o lote 120 foi inferior aos demais, porém, os lotes 24 e 48 apresentaram maior número de raízes secundárias. Os lotes que apresentaram maior tamanho total foram os lotes 24, 48 e 72, já o lote 0 se igualou ao lote 96.

Segundo Vieira et al. (2013), dos testes que avaliam o comprimento das partes da plântula, o comprimento da parte radicular tem sido considerado sensível para a diferenciação da qualidade fisiológica de cultivares, pois, o sistema radicular com maiores superfícies de absorção e eficiência na aquisição de água é uma característica desejável para manter a estabilidade de produção, principalmente em épocas de baixa precipitação.

4.2 Análise de imagens

Quando se observa a característica brilho, constata-se que o lote 0 apresentou o menor valor em todas as características de cor, exceto dominância laranja em ambos os híbridos. As sementes com mais brilho foram aquelas que permaneceram nos lotes intermediários 48 para

o híbrido A e 48, 72 e 96 para o híbrido B. A concentração em matiz é maior nos lotes submetidos a maior tempo de injúria e vai decrescendo, o lote 0 apresenta menor concentração em ambos os híbridos. Porém, no híbrido A, ocorreu a formação de cinco níveis de concentração, enquanto que no híbrido B foram apenas três (TABELA 4).

De acordo com o equipamento, as sementes do híbrido A dos lotes 96 e 120 são mais amarelas que as demais, no híbrido B essa característica foi encontrada apenas no lote 96, nesse híbrido o lote 120 ficou logo atrás do lote com maior índice. Em relação a dominância laranja ocorreu o inverso, o lote 0 apresentou maiores índices, e os lotes 96 e 120 apresentaram os menores em ambos os híbridos, ou seja, na pesquisa pode-se afirmar que quanto maior o tempo da semente exposta ao envelhecimento acelerado, mais amarela ela se torna e, ao mesmo tempo, perde seu tom laranja, como se houvesse uma descoloração da semente.

Tabela 4 - Valores médios das características de cor obtidos pela análise de imagens no aparelho GroundEye®, brilho, concentração da matiz, dominância amarela, dominância laranja, intensidade e luminosidade dos seis lotes de sementes de milho dos híbridos A e B.

		Híbrido A					
		Brilho	Concentração da matiz	Dominância Amarela	Dominância Laranja	Intensidade	Luminosidade
Tempo de injúria	0	0.73 D	183.03 E	0.62 C	0.38 A	0.51 C	0.46 C
	24	0.75 B	204.55 D	0.69 B	0.31 B	0.55 A	0.50 B
	48	0.76 A	216.26 C	0.69 B	0.31 B	0.55 A	0.51 A
	72	0.75 B	222.06 C	0.69 B	0.31 B	0.55 A	0.51 A
	96	0.75 B	242.19 B	0.71 A	0.29 C	0.55 A	0.51 A
	120	0.74 C	262.21 A	0.72 A	0.27 C	0.54 B	0.49 B
			Híbrido B				
	0	0.72 C	193.85 C	0.57 E	0.42 A	0.49 C	0.44 C
	24	0.73 B	229.62 B	0.70 D	0.30 B	0.54 B	0.49 B
	48	0.74 A	235.50 B	0.72 C	0.27 C	0.54 B	0.49 B
	72	0.74 A	244.76 B	0.73 C	0.27 C	0.55 A	0.50 A
	96	0.74 A	269.30 A	0.78 A	0.22 E	0.55 A	0.50 A
	120	0.73 B	279.54 A	0.75 B	0.24 D	0.54 B	0.49 B
CV(%)		6.19	39.72	23.74	55.35	9.59	10.35

Fonte: Da autora (2018).

Os maiores valores de intensidade e luminosidade foram encontrados nos lotes intermediários no híbrido A. Os lotes 24, 48, 72, 96 foram os que apresentaram maior intensidade, para luminosidade foram os lotes 48, 72 e 96. Já no híbrido B os lotes se comportaram igualmente em ambas as características, os lotes 72 e 96 se sobressaíram sobre os demais, o lote 0 apresentou pior resultado e os demais lotes foram intermediários (TABELA 4).

Andrade et al. (2016) utilizaram a análise de imagens para diferenciar cultivares de soja, pelas características de coloração do hilo, formato e brilho das sementes, a avaliação foi feita por analistas, melhoristas e pelo equipamento GroundEye[®], posteriormente foi feita a comparação entre os resultados das três análises para comprovar se o GroundEye[®] foi ou não eficiente para diferenciar as cultivares através das características avaliadas. Para a característica cor do hilo, os resultados dos três avaliadores (analistas, GroundEye[®] e melhorista) coincidiram em 14 das 21 cultivares analisadas. Para a característica forma da semente, apenas 6 cultivares obtiveram a mesma avaliação e o brilho do tegumento foi o descritor que obteve o menor índice de acerto, coincidindo em apenas 3 cultivares das 21 avaliadas.

Já em relação a geometria, foram várias as características avaliadas como, afinamento, área, circularidade, complexidade da forma, deformação do contorno, diâmetro máximo e mínimo, esfericidade da forma, extensão, irregularidade do contorno e perímetro. Porém, em muitas dessas características não foram encontradas diferenças significativas entre os lotes, assim, optou-se por mostrar apenas as características que apresentaram diferenças. Essa não diferenciação dos lotes em relação a geometria ocorreu pela homogeneidade em que as sementes dos híbridos se encontravam, pois, a maioria das características foram avaliadas em relação à forma, tamanho e irregularidade das sementes.

O lote 0 do híbrido A obteve a menor área em relação aos outros lotes. No híbrido B, as menores áreas foram dos lotes 0 e 24, respectivamente. Em relação ao diâmetro máximo observa-se o mesmo resultado nos dois híbridos, apenas o lote 0 se diferenciou dos demais, sendo inferior aos mesmos. No diâmetro mínimo, os lotes 0 e 24 apresentaram diferença significativa dos demais, fato observado em ambos os híbridos, no primeiro dois diâmetros diferentes, e no híbrido B são encontrados três (TABELA 5).

Tabela 5 - Valores médios das características de geometria obtidos pela análise de imagens no aparelho GroundEye®, área, circularidade, diâmetro máximo, mínimo e perímetro dos seis lotes de sementes de milho dos híbridos A e B.

		Híbrido A				
		Área	Circularidade	Diâmetro máximo	Diâmetro mínimo	Perímetro
Tempo de injúria	0	0.83 B	0.73 A	1.21 B	0.85 B	3.56 B
	24	0.85 A	0.71 B	1.24 A	0.85 B	3.63 A
	48	0.86 A	0.72 B	1.24 A	0.86 A	3.64 A
	72	0.85 A	0.72 B	1.23 A	0.86 A	3.62 A
	96	0.86 A	0.72 B	1.24 A	0.86 A	3.64 A
	120	0.86 A	0.72 B	1.24 A	0.86 A	3.64 A
			Híbrido B			
	0	0.74 C	0.57 A	1.28 B	0.68 C	3.50 C
	24	0.76 B	0.57 A	1.30 A	0.68 B	3.58 B
	48	0.77 A	0.58 A	1.31 A	0.70 A	3.61 A
	72	0.78 A	0.57 A	1.32 A	0.70 A	3.63 A
	96	0.78 A	0.57 A	1.32 A	0.70 A	3.62 A
	120	0.79 A	0.58 A	1.32 A	0.70 A	3.62 A
	CV(%)	10.99	9.77	8.04	6.95	6.76

Fonte: Da autora (2018).

O perímetro seguiu a mesma tendência dos demais resultados. Esses resultados podem ter acontecido devido ao fato de maior exposição dos outros lotes à alta umidade encontrada no envelhecimento acelerado, o que pode ter contribuído com o aumento do tamanho das sementes (TABELA 5).

Bárbara (2016), trabalhando com sementes de nicotina, realizou envelhecimento acelerado nos lotes com o intuito de simular diferentes qualidades fisiológicas e constatou que houve um aumento gradual da umidade de acordo com o período de envelhecimento, sendo esse incremento mais acentuado nas primeiras 24 horas, a partir desse período, o teor de água continua aumentando, porém, em menor proporção.

O mesmo foi observado por Santos et al. (2011), em seu estudo com sementes de alfaca e almeirão, os maiores valores da umidade foram observados nas primeiras 48 horas e aconteceu um acréscimo gradual no período em que foram submetidas ao envelhecimento artificial em água (SANTOS et al., 2011).

4.3 Espectroscopia no infravermelho próximo (Nir)

Como um método de reconhecimento de padrões supervisionado, a PLS-DA exige algum tipo de informação para a construção do modelo com antecedência, assim, as classes

‘alta’ ‘média’ e ‘baixa’ foram adicionadas como as variáveis dependentes (y) para a construção do modelo de calibração.

Abaixo estão os testes e os lotes com suas respectivas classes. Os híbridos A e B obtiveram a mesma classificação nos testes, com exceção do teste de IVE do híbrido A, onde não foi observada diferença significativa entre os lotes, assim, não foi necessário aplicar a técnica NIR neste teste para o híbrido.

- Teste de germinação – 3 classes: 0, 24, 48, 72 alto vigor, 96 médio e 120 baixo;
- Teste de primeira contagem – 2 classes: 0, 24, 48, 72 alto, 96 e 120 baixo;
- Teste de emergência/IVE – 2 classes: 0, 24, 48, 72, 96 alto e 120 baixo;
- Teste de frio – 2 classes: 0, 24, 48, alto, 72, 96 e 120 baixo.

Nas tabelas abaixo verifica-se a comparação dos lotes estudados e a classificação feita pela técnica de infravermelho próximo, com base nos testes de vigor.

Tabela 6 - Validação cruzada e externa do lado do embrião da semente do híbrido A classificadas quanto ao tempo de injúria no teste de germinação por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.

Germinação	Tempo de injúria	Validação cruzada				Validação externa			
		Previsto (%)			Não classificadas (%)	Previsto (%)			Não classificadas (%)
		Alto	Médio	Baixo		Alto	Médio	Baixo	
0, 24, 48, 72	85,3	0	0	14,7	83,7	0	0	16,3	
96	42,5	0	2,5	55	45	0	5	50	
120	28,7	0	6,3	65	35	0	25	40	

Fonte: Da autora (2018).

Tabela 7 - Endosperma da semente do híbrido A classificadas quanto ao tempo de injúria no teste de germinação por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.

Germinação	Tempo de injúria	Validação cruzada				Validação externa			
		Previsto (%)			Não classificadas (%)	Previsto (%)			Não classificadas (%)
		Alto	Médio	Baixo		Alto	Médio	Baixo	
0, 24, 48, 72	80,8	3,8	1,2	14,1	72,5	2,5	2,5	22,5	
96	47,6	7,5	1,2	43,7	35	10	5	50	
120	50	8,8	2,5	38,7	20	15	0	65	

Fonte: Da autora (2018).

Tabela 8 - Sementes moídas do híbrido A classificadas quanto ao tempo de injúria no teste de germinação por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.

Germinação	Tempo de injúria	Validação cruzada				Validação externa			
		Previsto (%)			Não classificadas (%)	Previsto (%)			Não classificada (%)
		Alto	Médio	Baixo		Alto	Médio	Baixo	
	0, 24, 48, 72	82,1	0	3,6	14,3	75	0	8,3	16,7
	96	14,3	14,3	14,3	57,1	66,7	33,3	0	0
	120	14,4	42,8	0	42,8	66,7	0	0	33,3

Fonte: Da autora (2018).

Tabela 9 - Validação cruzada e externa do lado do embrião da semente do híbrido A classificadas quanto ao tempo de injúria nos testes de primeira contagem, emergência e teste de frio por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.

Testes fisiológicos	Tempos de injúria	Validação cruzada			Validação externa		
		Previsto (%)		Não classificadas (%)	Previsto (%)		Não classificadas (%)
		Alto	Baixo		Alto	Baixo	
Primeira contagem	0, 24, 48, 72	87,2	10,9	1,9	76,6	15	8,4
	96, 120	30	65,6	4,4	27,5	67,5	5
Emergência	0, 24, 48, 72, 96	98,5	0	1,3	94	0	6
	120	98,7	0	1,3	95	0	5
Teste de frio	0, 24, 48	70,8	19,2	10	70	23,3	6,7
	72, 96, 120	17,5	77,9	4,6	20	71,7	8,3

Fonte: Da autora (2018).

Tabela 10 - Endosperma da semente do híbrido A classificadas quanto ao tempo de injúria nos testes de primeira contagem, emergência e teste de frio por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.

Testes fisiológicos	Tempos de injúria	Validação cruzada			Validação externa		
		Previsto (%)		Não classificadas (%)	Previsto (%)		Não classificadas (%)
		Alto	Baixo		Alto	Baixo	
Primeira contagem	0, 24, 48, 72	82,6	13,8	3,6	76,2	15	8,8
	96, 120	51,9	38,1	10	27,5	62,5	10
Emergência	0, 24, 48, 72, 96	98,7	0	1,3	94	0	6
	120	100	0	0	95	0	5
Teste de frio	0, 24, 48,	69,3	28	2,7	61,6	31,7	6,7
	72, 96, 120	17,9	80,4	1,7	11,6	81,7	6,7

Fonte: Da autora (2018).

Tabela 11 - Sementes moídas do híbrido A classificadas quanto ao tempo de injúria nos testes de primeira contagem, emergência e teste de frio por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.

Testes fisiológicos	Tempos de injúria	Validação cruzada			Validação externa		
		Previsto (%)		Não classificadas (%)	Previsto (%)		Não classificadas (%)
		Alto	Baixo		Alto	Baixo	
Primeira contagem	0, 24, 48, 72	82,8	13,8	3,4	75	16,7	8,3
	96, 120	14,3	85,7	0	75	16,7	8,3
Emergência	0, 24, 48, 72, 96	88,6	11,4	0	80	6,7	13,3
	120	100	0	0	100	0	0
Teste de frio	0, 24, 48	71,4	28,6	0	88,9	0	11,1
	72, 96, 120	19	81	0	44,4	55,6	0

Fonte: Da autora (2018).

Por meio das Tabelas 6, 7, 8, 9, 10 e 11, observa-se as três diferentes formas de obtenção dos espectros (embrião, endosperma e sementes moídas) aplicados em cada teste de vigor do híbrido A.

Comparando-se os resultados, não podemos afirmar que há um lado melhor da semente para obtenção dos espectros, pois as maiores diferenças ficaram entre os testes de vigor. O teste de frio foi o teste que apresentou os melhores índices de acerto nos lotes de alto e baixo vigor (com exceção das amostras moídas do híbrido B), seguido do teste de primeira contagem.

Pode-se estimar, que o fato de se ter utilizado sementes inteiras pode ter influenciado na obtenção de dados próximos entre lotes, pois em um lote ruim pode conter sementes boas e vice-versa. Outro fator que pode ter influenciado na obtenção de resultados próximos, pode ser o uso de um só híbrido e causar a injúria na semente em laboratório, possivelmente ela não se alterou quimicamente, para trabalhos futuros pode-se adquirir sementes produzidas em condições distintas (deficiência hídrica, atraso de colheita, ataque de pragas, dentre outras) ou até mesmo sementes de regiões diferentes.

Guimarães (2016), conseguiu bons resultados aplicando a espectroscopia no infravermelho próximo e o PLS-DA, o autor buscou a separação de sementes de café em relação à origem, e foram utilizadas sementes oriundas de três cidades e, por meio do método, obteve quase 100% de acerto em sementes oriundas da cidade de Patrocínio.

Na Tabela 6, para as sementes do lado do embrião do híbrido A, no teste de germinação, foram ajustadas 4 variáveis para a predição das amostras de alto, médio e baixo vigor, com os valores de RMSEC (raiz quadrada da soma do quadrado dos erros de calibração) e RMSEV (raiz quadrada do erro médio quadrático da validação cruzada) ficaram próximos entre si e os coeficientes de calibração e validação com percentagens abaixo de 50%. Neste modelo não foram obtidas boas percentagens de classificação, os acertos na validação cruzada foram de 85,3%, 0% e 6,3% para os lotes de alto, médio e baixo vigor, respectivamente. A validação externa seguiu a mesma tendência com percentagens de 83,7%, 0% e 25%.

Salienta-se a importância de que os valores relacionados à classificação correta sejam elevados para a validação externa, pois indicam a capacidade do modelo classificar amostras que não participaram da calibração, ou seja, a capacidade desse modelo ser utilizado na classificação de diferentes amostras de diferentes qualidades.

No lado do endosperma (TABELA 7), foram utilizadas 8 variáveis, os valores de RMSEC e RMSEV ficaram próximos entre si e o coeficientes de calibração e validação com percentagens abaixo de 60%. Os valores de acerto foram 80,8%, 7,5% e 2,5% (validação cruzada) para os lotes de alto, médio e baixo vigor, respectivamente, e 72,5%, 10% e 0% (validação externa).

Já nas sementes moídas, os valores de RMSEC e RMSEV foram distantes entre si, o coeficiente de calibração de alto e médio vigor foi superior a 88%, o de baixo foi de 55%, já o coeficiente de validação foi de 66% para a alto vigor e em torno de 10% os de médio e baixo vigor, foram utilizadas 8 variáveis para a predição desse modelo. Os acertos na validação

cruzada foram de 82,1%, 14,3% e 0% para os lotes de alto, médio e baixo vigor, respectivamente e a validação externa com percentagens de 75%, 33,3% e 0% (TABELA 8).

Nas Tabelas 9, 10 e 11 estão os resultados dos testes de primeira contagem, emergência e teste de frio. Para as sementes do lado do embrião do híbrido A, na primeira contagem foram ajustadas 6 variáveis para a predição das amostras de alto e baixo vigor, os valores de RMSEC e RMSEV ficaram próximos entre si e os coeficientes de calibração e validação com percentagens em torno de 55%. Neste modelo foram obtidas melhores percentagens de acertos na classificação, na validação cruzada foram de 87,2% e 65,6% para os lotes de alto e baixo vigor, respectivamente. A validação externa seguiu a mesma tendência com percentagens de 76,6% e 67,5% (TABELA 9).

Para as sementes do lado do endosperma observou-se valores semelhantes em relação ao lado do embrião, principalmente no lote de alto vigor, os acertos na validação cruzada foram de 82,6% e 38,1% para os lotes de alto e baixo vigor, respectivamente. A validação externa seguiu a mesma tendência com percentagens de 76,2% e 62,5%. Foram ajustadas 7 variáveis para a predição das sementes, com os valores de RMSEC e RMSEV próximos entre si e coeficientes de calibração e validação com percentagens em torno de 40% (TABELA 10).

Na Tabela 11, para as sementes moídas no teste de primeira contagem os acertos na classificação, na validação cruzada foram de 82,8%, e 85,7% para os lotes de alto e baixo vigor, respectivamente. A validação externa não seguiu a mesma tendência no lote de baixo vigor, com percentagens de 75% e 16,7% para alto e baixo vigor, respectivamente. 75% das amostras de baixo vigor foram classificadas como de alto vigor nessa validação. Os valores de RMSEC e RMSEV ficaram distantes entre si, esse modelo obteve coeficiente de calibração de 96% e de validação de 66%.

Para as sementes do lado do embrião do híbrido A na emergência, foram ajustadas apenas 3 variáveis para a predição das amostras de alto e baixo vigor, com os valores de RMSEC e RMSEV próximos entre si e com coeficientes de calibração e validação com percentagens em torno de 30% (TABELA 9). Neste modelo, não foi constatado nenhum acerto nos lotes de baixo vigor, incluindo o lado do endosperma e as sementes moídas. A porcentagem de sementes não classificadas ficou abaixo de 1,5% nos três tipos de obtenção dos espectros na validação cruzada. O acerto na validação cruzada foi de 98,5% no lado do embrião, 98,7% no lado do endosperma e 88,6% nas sementes moídas, já na validação externa os acertos foram de 94% no lado do embrião e do endosperma, nas sementes moídas foi de 80% (lotes de alto vigor). Nas amostras de baixo vigor no lado do embrião e do endosperma o equipamento identificou mais de 90% como sementes de alto vigor, já nas amostras moídas

100% do lote de baixo vigor foi classificado como de alto vigor em ambas as validações (TABELA 11).

No lado do endosperma foram utilizadas 4 variáveis para a predição das sementes de alto e baixo vigor, os valores de RMSEC e RMSEV foram próximos entre si os coeficientes de calibração e validação, com percentagens em torno de 55%. Para as sementes moídas utilizou-se também 4 variáveis para a predição das sementes, os valores de RMSEC e RMSEV foram distantes entre si, e esse modelo obteve coeficiente de calibração de 66% e de validação de 3%.

Para as sementes do lado do embrião do híbrido A no teste de frio, foram ajustadas 5 variáveis para a predição das amostras, os valores de RMSEC e RMSEV foram bem próximos entre si e os coeficientes de calibração e validação ficaram em torno de 50%. Foram obtidas maiores percentagens de acertos na classificação, na validação cruzada foram de 70,8% e 77,9% para os lotes de alto e baixo vigor, respectivamente. A validação externa seguiu a mesma tendência com percentagens de 70% e 71,7% (TABELA 9).

Para as sementes do lado do endosperma na validação cruzada os acertos foram de 69,3% e 80,4% para os lotes de alto e baixo vigor, respectivamente. A validação externa seguiu a mesma tendência com percentagens de 61,6% e 81,7% (TABELA 10). Foram ajustadas 7 variáveis para a predição das sementes de alto e baixo vigor, com os valores de RMSEC e RMSEV próximos entre si, com coeficientes de calibração e validação com percentagens em torno de 55%.

Para as sementes moídas no teste de frio, os acertos na classificação na validação cruzada foram de 71,4% e 81% para os lotes de alto e baixo vigor, respectivamente. A validação externa seguiu a mesma tendência principalmente no lote de alto vigor, com percentagens de 88,9% e 55,6% (TABELA 11). Os valores de RMSEC e RMSEV foram distantes entre si, esse modelo obteve coeficiente de calibração de 92% e de validação de 58%.

O maior índice de sementes não classificadas foi encontrado no teste de germinação, chegando a valores de 65% de sementes não classificadas, nos outros três testes as sementes não classificadas apresentaram menor percentagem, em alguns casos a quantidade de sementes não classificadas chegou a ser 13,3% e em alguns testes nenhuma semente deixou de ser classificada.

Não foi realizado a metodologia NIR para o teste de IVE no híbrido A, porque não foram encontradas diferenças significativas entre os lotes estudados.

As Tabelas 12, 13, 14, 15, 16 e 17 são referentes ao híbrido B, verifica-se a comparação dos lotes estudados e a classificação feita pela técnica de infravermelho próximo com base nos testes de vigor.

Tabela 12 - Validação cruzada e externa do lado do embrião da semente do híbrido B classificadas quanto ao tempo de injúria no teste de germinação por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.

Germinação	Tempo de injúria	Validação cruzada				Validação externa			
		Previsto (%)			Não classificadas (%)	Previsto (%)			Não classificadas (%)
		Alto	Médio	Baixo		Alto	Médio	Baixo	
0, 24, 48, 72	90	0	0	10	90	0	0	10	
96	75	0	0	25	80	0	0	20	
120	61,2	0	0	38,8	60	0	0	40	

Fonte: Da autora (2018).

Tabela 13 - Endosperma da semente do híbrido B classificadas quanto ao tempo de injúria no teste de germinação por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.

Germinação	Tempo de injúria	Validação cruzada				Validação externa			
		Previsto (%)			Não classificadas (%)	Previsto (%)			Não classificadas (%)
		Alto	Médio	Baixo		Alto	Médio	Baixo	
0, 24, 48, 72	91,9	0	0	8,1	90	0	0	10	
96	85	0	0	15	80	0	0	20	
120	83,7	0	0	16,3	70	0	0	30	

Fonte: Da autora (2018).

Tabela 14 - Sementes moídas do híbrido B classificadas quanto ao tempo de injúria no teste de germinação por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.

Germinação	Tempo de injúria	Validação cruzada				Validação externa			
		Previsto (%)			Não classificadas (%)	Previsto (%)			Não classificadas (%)
		Alto	Médio	Baixo		Alto	Médio	Baixo	
0, 24, 48, 72	75	3,6	3,6	17,8	75	0	0	25	
96	85,7	0	0	14,3	66,7	0	0	33,3	
120	85,7	0	0	14,3	100	0	0	0	

Fonte: Da autora (2018).

Tabela 15 - Validação cruzada e externa do lado do embrião da semente do híbrido B classificadas quanto ao tempo de injúria nos testes de primeira contagem, emergência/IVE e teste de frio por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.

Testes fisiológicos	Tempos de injúria	Validação cruzada			Validação externa		
		Previsto (%)		Não classificadas (%)	Previsto (%)		Não classificadas (%)
		Alto	Baixo		Alto	Baixo	
Primeira contagem	0, 24, 48, 72	74,7	23,4	1,9	70	20	10
	96, 120	45,6	47,5	6,9	30	62,5	7,5
Emergência/ IVE	0, 24, 48, 72, 96	92	3,7	4,3	86	5	9
	120	71,2	20	8,8	55	25	20
Teste de frio	0, 24, 48	65,5	22,9	14,6	63,3	13,3	23,4
	72, 96, 120	20	60,8	19,2	18,3	56,7	25

Fonte: Da autora (2018).

Tabela 16 - Endosperma da semente do híbrido B classificadas quanto ao tempo de injúria nos testes de primeira contagem, emergência/IVE e teste de frio por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.

Testes fisiológicos	Tempos de injúria	Validação cruzada			Validação externa		
		Previsto (%)		Não classificadas (%)	Previsto (%)		Não classificadas (%)
		Alto	Baixo		Alto	Baixo	
Primeira contagem	0, 24, 48, 72	80	12,2	7,8	80	12,5	7,5
	96, 120	49,4	40	10,6	42,5	42,5	15
Emergência/ IVE	0, 24, 48, 72, 96	98,2	0	1,8	95	0	5
	120	100	0	0	95	0	5
Teste de frio	0, 24, 48	64,2	27,1	8,7	60	26,7	13,3
	72, 96, 120	15	80,4	4,6	16,7	71,7	11,6

Fonte: Da autora (2018).

Tabela 17 - Sementes moídas do híbrido B classificadas quanto ao tempo de injúria nos testes de primeira contagem, emergência/IVE e teste de frio por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.

Testes fisiológicos	Tempos de injúria	Validação cruzada			Validação externa		
		Previsto (%)		Não classificadas (%)	Previsto (%)		Não classificadas (%)
		Alto	Baixo		Alto	Baixo	
Primeira contagem	0, 24, 48, 72	78,6	17,8	3,6	83,3	0	16,7
	96, 120	50	50	0	100	0	0
Emergência/ IVE	0, 24, 48, 72, 96	91,5	5,7	2,8	80	20	0
	120	85,7	0	14,3	33,3	66,7	0
Teste de frio	0, 24, 48	28,6	61,9	9,5	66,6	22,2	11,2
	72, 96, 120	42,8	23,8	33,4	44,4	11,2	44,4

Fonte: Da autora (2018).

No teste de germinação do híbrido B, somente sementes e amostras de alto vigor foram classificadas corretamente. Os lotes de médio e baixo vigor apresentaram 0% de acerto no embrião, endosperma e sementes moídas. Os acertos no lote de maior qualidade na validação cruzada foram de 90% para embrião, 91,9% para endosperma e 75% para sementes moídas. A validação externa seguiu a mesma tendência com percentagens de 90% para embrião e endosperma e 75% para sementes moídas. Nas sementes moídas, o equipamento identificou 3,6% de sementes de médio vigor e 3,6% de sementes de baixo vigor dentro do lote de alto vigor. Além disso, altas taxas de sementes não classificadas foram constatadas no teste variando de 8,1% a 40%. (TABELAS 12, 13 e 14).

No lado do embrião do híbrido B, foram ajustadas 3 variáveis para a predição das amostras de alto, médio e baixo vigor, com os valores de RMSEC e RMSEV próximos entre si e com coeficientes de calibração e validação com percentagens abaixo de 45%. Para o endosperma foram ajustadas 4 variáveis, os valores de RMSEC e RMSEV também ficaram próximos entre si, com coeficientes de calibração e validação com percentagens abaixo de 39%. Já para as sementes moídas foram ajustadas 3 variáveis para a predição das amostras, os valores de RMSEC e RMSEV próximos entre si, com coeficientes de calibração de 40% e de validação de 24%.

Nas Tabelas 15, 16 e 17, estão os resultados dos testes de primeira contagem, emergência, IVE e teste de frio para o híbrido B. Os testes de emergência e IVE foram agrupados na análise NIR, pois apresentaram os mesmos resultados nos testes convencionais de vigor.

Para as sementes do lado do embrião na primeira contagem foram ajustadas 14 variáveis para a predição das amostras de alto e baixo vigor, os valores de RMSEC e RMSEV não ficaram próximos entre si e o coeficiente de calibração ficou com 73% e o coeficiente de validação com 38%. Na validação cruzada os acertos foram de 74,7% e 47,5% para os lotes de alto e baixo vigor, respectivamente. A validação externa seguiu a mesma tendência no lote de alto vigor com percentagem de 70%, já no lote de baixo vigor 62,5% das sementes foram classificadas corretamente, superando a percentagem de acerto da validação cruzada (TABELA 15).

Para as sementes do lado do endosperma observou-se valores semelhantes em relação ao lado do embrião, os acertos na validação cruzada foram de 80% e 40% para os lotes de alto e baixo vigor, respectivamente. A validação externa seguiu a mesma tendência com percentagens de 80% e 42,5% (TABELA 16). Foram ajustadas 6 variáveis para a predição das sementes, com os valores de RMSEC e RMSEV próximos entre si e coeficientes de calibração e validação com percentagens em torno de 45%.

Para as sementes moídas no teste de primeira contagem os acertos na classificação, na validação cruzada foram de 78,6% e 50% para os lotes de alto e baixo vigor, respectivamente. A validação externa não obteve acerto para o lote de baixo vigor, já no lote de alto vigor apresentou 83,3% de acerto (TABELA 17). Os valores de RMSEC e RMSEV ficaram distantes entre si, esse modelo obteve coeficiente de calibração de 85% e de validação de 25%.

Na Tabela 15, para as sementes do lado do embrião do híbrido B na emergência e IVE foram ajustadas 13 variáveis para a predição das amostras de alto e baixo vigor, com os valores de RMSEC e RMSEV distantes entre si e com coeficiente de calibração de 65% e de validação de 25%. O lote de alto vigor obteve acertos superiores a 90%, mas a percentagem de acerto do lote de baixo vigor foi bem pequena nos três tipos de espectro. O acerto na validação cruzada foi de 92% e 20% no lote de alto e baixo vigor, respectivamente. Na validação externa foi de 86% e 25% seguindo a tendência da validação cruzada.

No lado do endosperma foram utilizadas 3 variáveis para a predição das sementes de alto e baixo vigor, os valores de RMSEC e RMSEV foram próximos entre si e os coeficientes de calibração e validação com percentagens em torno de 27%. Nesse modelo o índice de acerto no lote de maior vigor foi alto, 98,2% e 95% na validação cruzada e externa, respectivamente. Já no lote de baixo vigor não houve nenhum acerto, na validação cruzada 100% das sementes de baixo vigor foram classificadas como sementes de alto vigor e na validação externa o erro na classificação correspondeu a 95% (TABELA 16).

Para as sementes moídas, utilizou-se 5 variáveis para a predição das sementes, os valores de RMSEC e RMSEV foram distantes entre si, esse modelo obteve coeficiente de calibração de 80% e de validação de 1%. O lote de alto vigor apresentou acerto de 91,5% e 80% na validação cruzada e externa, respectivamente. No lote de baixo vigor não houve nenhum acerto na validação cruzada e 66,7% de acerto na validação externa, vale destacar que 85,7% das sementes de baixo vigor foram classificadas como sementes de alto vigor na validação cruzada (TABELA 17).

Para as sementes do lado do embrião do híbrido B no teste de frio, foram ajustadas 15 variáveis para a predição das amostras, os valores de RMSEC e RMSEV foram bem próximos entre si e os coeficientes de calibração e validação ficaram em torno de 50%. Foram obtidas maiores percentagens de acertos na classificação, na validação cruzada os acertos foram de 62,5% e 60,8% para os lotes de alto e baixo vigor, respectivamente. A validação externa seguiu a mesma tendência com percentagens de 63,3% e 56,7%. A percentagem de sementes não classificadas em ambas as validações variou de 14% a 25% (TABELA 15).

Na Tabela 16 no lado do endosperma observou-se percentagens de acerto semelhantes ao lado do embrião. Na validação cruzada foi de 64,2% e 80,4% para os lotes de alto e baixo vigor, respectivamente. A validação externa seguiu a mesma tendência com percentagens de 60% e 71,7%. Foram ajustadas 7 variáveis para a predição das sementes de alto e baixo vigor, com os valores de RMSEC e RMSEV próximos entre si e com coeficiente de calibração de 70% e de validação com percentagem de 55%.

Para as sementes moídas no teste de frio os acertos na classificação na validação cruzada foram de 28,6% e 23,8% para os lotes de alto e baixo vigor, respectivamente. A validação externa apresentou percentagens de 66,6% e 11,2%. No lote de baixo vigor 33,4% das amostras não foram classificadas, na validação externa foram 44% (TABELA 17). Os valores de RMSEC e RMSEV foram distantes entre si, esse modelo obteve coeficientes de calibração e validação de 35%.

5 CONCLUSÕES

Pela análise de imagens não é possível diferenciar as sementes de milho de diferentes qualidades fisiológicas por meio das características de cor e geometria.

Utilizando as análises quimiométricas e o infravermelho próximo, não foi possível separar sementes de milho com diferentes qualidades fisiológicas.

REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, R. O.; MARCOS FILHO, J.; GOMES JUNIOR, F. G. Avaliação do vigor de sementes de milho super doce por meio da análise computadorizada de imagens de plântulas. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 488-494, 2012.
- ANDRADE, D. B. **Sistema de análise de sementes (SAS) na detecção de misturas varietais e de sementes esverdeadas em soja**. 2014. 79 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2014.
- ANDRADE, D. B. **Evaluation of the physiological quality of tobacco seeds through image analysis**. 2017. 49 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2017.
- ARAUJO, T. P. **Emprego de espectroscopia no infravermelho e métodos quimiométricos para a análise direta de tetraciclinas em leite bovino**. 2007. 99 p. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP, 2007.
- AOSA. Association of Official Seed Analysts. **Seed Vigor Testing Handbook**. New York, 2009. p. 341.
- BANDEIRA, J. M. et al. Antioxidative metabolism: a tool to detect small differences in the vigor of soybean seeds. **Iheringia Serie Botanica**, Porto Alegre, v. 69, p. 285-292, 2014.
- BÁRBARA, C. N. V. **Espectroscopia de infravermelho e nível de deterioração de sementes de *Nicotiana tabacum* L.** 2016. 56 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2016.
- BARROS, A. S. R. et al. Teste de frio. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, cap. 5, p. 1-5, 1999.
- BARTHUS, R. C. **Aplicação de métodos quimiométricos para análises de controle de qualidade de óleos vegetais utilizando espectroscopia no infravermelho e raman**. 1999. 112 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP, 1999.
- BAZONI, C. H. et al. Near-infrared spectroscopy as a rapid method for evaluation physicochemical changes of stored soybeans. **Journal of Stored Products Research**, v. 73, p. 1-6, 2017.
- BEEBE, K. R.; PELL, R. J.; SEASHOLTZ, M. B. **Chemometrics: a practical guide**. New York: John Wiley & Sons, 1998. 348 p.
- BITTENCOURT, S. R. M. et al. Metodologia alternativa para condução do teste de envelhecimento acelerado em sementes de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 8, p. 1360-1365, ago. 2012.

BRANDANI, E. B. **Análise de imagens na avaliação do vigor de sementes de soja**. 2017. 54 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade de Brasília – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Brasília, DF, 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Padrões para produção e comercialização de sementes de milho cultivares híbrida**. 2013. Disponível em: <<http://www.abrasem.com.br/wp-content/uploads/2012/10/Instru%C3%A7%C3%A3o-Normativa-n%C2%BA-45-de-17-de-Setembro-de-2013- Padr%C3%B5es-de-Identidade-e-Qualidade-Prod-e-Comerc-de-Sementes-Grandes-Culturas-Republica%C3%A7%C3%A3o-DOU-20.09.13.pdf>>. Acesso em: 08 mar. 2018.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 2009. p. 365.

BRERETON, R. G. Introduction to multivariate calibration in analytical chemistry. **Analyst**, London, v. 125, p. 2125-2154, Sept. 2000.

CANDEIAS, A. L. B.; SILVA, E. A. Extração de Estradas de uma imagem ETM+ Landsat usando Morfologia Matemática. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CADASTRO TÉCNICO MULTIFINALITÁRIO (COBRAC), 6., 2004, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, COBRAC, 2004.

CASTRO, M. B. **Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de milho por meio da atividade respiratória**. 2011. 68 p. Tese (Doutorado Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2011.

CIE. Comissão Internacional De L' Eclairage. **Colorimetry – Part 4: 1976 L*a*b* Colour Space**. Disponível em: <<http://www.cie.co.at/>>. Acesso em: 09 fev. 2018.

CIOSEK, P. et al. Direct and two-stage data analysis procedures based on PCA, PLS- DA and ANN for ISE-based electronic tongue:effect of supervised feature extraction. **Talanta**, London, v. 67, p. 590-596, Apr. 2005.

COIMBRA, R. A.; et al. Testes de vigor utilizados na avaliação da qualidade fisiológica de lotes de sementes de milho doce (sh2). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 9, p. 2402-2408, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v39n9/a353cr1586.pdf>>. Acesso em: 13 abr. 2018.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Perspectivas para a agropecuária**. Safra 2017/2018. v. 5, p. 80 - 94, 2017. Disponível em: <file:///C:/Users/Palloma/Downloads/Perspectivas_para_a_Agropecuaria_-_V.5_-_Safra_2017-2018.pdf>. Acesso em: 22 jun. 2018.

DEAGRO. Departamento do Agronegócio. **Safra mundial de milho 2018/19: 2º levantamento do USDA**, jun/18. Disponível em: <<http://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra-mundial-de-milho-2/attachment/file-20180613175924-boletimmilhojunho2018/>>. Acesso em: 20 jun. 2018.

DIAS, M. A. N. et al. Vigor tests association as an alternative for precise and efficient assessment of maize seed quality. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 28, n. 3, p. 93-99, 2015.

DINIZ, O. F. et al. Incidence of pathogens and field emergence of soybean seeds subjected to harvest delay. **Journal of Seed Science**, Londrina, v. 35, n. 4, p. 478-484, 2013.

DODE, J. S. et al. Teste de respiração em sementes de soja para avaliação da qualidade fisiológica. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 2, p. 193-198, 2013.

DORNELAS, M. C.; LOBO, C. A.; VIEIRA, I. G. Avaliação do tamanho de plântulas de *Eucalyptus* spp. após a germinação, com utilização de análise de imagens digitais auxiliada por computador. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, n. 68, p. 125-130, 2005.

FINA, B. L. et al. Comparison of fluoride effects on germination and growth of *Zea mays*, *Glycine max* and *Sorghum vulgare*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Malden, v. 96, n.11, p. 3679-3687, 2016.

FERREIRA, D. F. **Sisvar**: versão 4.2. Lavras: UFLA, 2000. (Software).

FESSEL, S. A. et al. Avaliação da qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes de milho durante o beneficiamento. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 25, n. 2, p. 70-76, 2003.

GAITÁN-JURADO, A. J. et al. Near infrared applications in the quality control of seed cotton. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 16, n. 4, p. 421-429, 2008.

GOMES JUNIOR, F. G. et al. Evaluation of priming effects on sweet corn seeds by SVIS. **Seed Technology**, Lincoln, v. 31, n. 1, p. 95-100, 2009.

GONZALES, R.; WOODS, R. **Processamento de Imagens Digitais**. 1. ed. São Paulo: Edgard Blucher Ltda, 2000. 509 p.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. **Digital image processing**. 3rd ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2010. 976 p.

GUIMARÃES, G. C. **Espectroscopia no infravermelho próximo para classificação de sementes de café quanto à qualidade, origem e cultivar**. 2016. 75 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2016.

GRUNVALD, A. K. et al. Predicting the oil contents in sunflower genotype seeds using near-infrared reflectance (NIR) spectroscopy. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 36, n. 2, p. 233-237, 2014.

HAMPTON, J.G.; TEKRONY, D.N. Controlled deterioration test. In: _____. **Handbook of vigour tests methods**. Zurich: ISTA, 1995. p. 70-78.

HOFFMANN, G. **CIELab Color Space**. 2013. Disponível em: <<http://docs-hoffmann.de/cielab03022003.pdf>>. Acesso em: 03 fev. 2018.

HOFFMASTER, A. L. et al. An automated system for vigor testing three-day old soybean seedlings. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 31, n. 3, p. 701-713, 2003.

HUANG, H. et al. Near infrared spectroscopy for on/in-line monitoring of quality in foods and beverages: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 87, n. 3, p. 303-313, 2008.

ISHIKAWA, H. et al. Development of calibration model to predict nitrogen content in single seeds of cowpea (*Vigna unguiculata*) using near infrared spectroscopy. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 25, n. 3, p. 211-214, 2017.

JACONI, A. **O uso da espectroscopia no infravermelho próximo na quantificação de carbono em solos sob o cultivo de cana-de-açúcar**. 2011. 53 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, 2011.

JAMRÓGIEWICZ, M. Application of the near-infrared spectroscopy in the pharmaceutical technology. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 66, p. 1-10, 2012.

KEYS, R. D.; MARGAPURAM, R. G.; REUSCHE, G. A. Automated seedling length measurement for germination/vigor estimation using a CASAS (Computerized Automated Seed Analysis System). **Journal of Seed Technology**, Lincoln, v. 9, n. 1, p. 40-53, 1984.

KIKUTI, A. L. P.; PINHO, É. V. de R. Von; REZENDE, M. de L. Estudos de metodologias para condução do teste de frio em sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, Pelotas, v. 21, n. 2, p. 175-179, 1999.

KIRALJ, R.; FERREIRA, M. M. C. Basic validation produces for regression models in QSAR and QSAR studies: theory and application. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 20, n.4, p. 770-787, 2009.

LEITÃO, T. M. D. **Aplicações da espectroscopia de infravermelho próximo em Ciências Farmacêuticas**. 2012. 75 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade de Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, 2012.

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.

LORBER, A.; KOWALSKI, B. R. Estimation of prediction error for multivariate calibration. **Journal of Chemometrics**, Chichester, v. 2, n. 2, p. 93-109, Apr. 1988.

LUYPAERT, J.; MASSART, D. L.; VANDER HEYDEN, Y. Near-infrared spectroscopy applications in pharmaceutical analysis. **Talanta**, v. 72, n. 3, p. 865-883, 2007.

MA, H. et al. Rapid authentication of starch adulterations in ultrafine granular powder of Shanyao by near-infrared spectroscopy coupled with chemometric methods. **Food Chemistry**, v. 215, p. 108-115, 2017.

MAGALHÃES, D. F. **Aplicações da espectroscopia de infravermelho próximo na monitorização de processos farmacêuticos**. 2014. 127 p. Dissertação (Mestrado em Química Tecnológica) - Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências, Departamento de Química e Bioquímica, Lisboa, 2014.

MAGUIRE, J. D. **Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor.** *Crop Science*, Madison, v. 2, n. 1, jan./feb. 176-177p. 1962.

MANUAL GROUND EYE®. **Tbit Tecnologia e Sistemas**, Lavras. 2016. 88 p.

MARCOS FILHO, J. et al. Assessment of melon seed vigour by an automated computer imaging system compared to traditional procedures. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 34, n. 2, p. 485-497, 2006.

MARCOS FILHO, J.; KIKUTI, A. L. P.; LIMA, L. B. Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo análise computadorizada de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 102-112, 2009.

MARQUES FILHO, O.; VIEIRA NETO, H. **Processamento digital de imagens**. Rio de Janeiro: Brasport, 1999.

MARTENS, H.; NAES, T. **Multivariate calibration**. New York: John Wiley & Sons, 1989. 419 p.

MARTINA, V. et al. Development of an electronic tongue based on PEDOT modified voltammetric sensor. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 387, p. 2101-2110, jan. 2007.

MASOUM, S. et al. Discrimination of wines based on 2D NMR spectra using learning vector quantization neural networks and partial least squares discriminant analysis. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 558, n. 1, p.144-149, mar. 2006.

MC CORMAC, A. C.; KEEFE, P. D.; DRAPER, S. R. Automated vigour testing of field vegetables using image analysis. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 18, p. 103-112, 1990.

MELO, P. T. B. S.; et al. Comportamento individual de plantas originadas de sementes com diferentes níveis de qualidade fisiológica em populações de arroz irrigado. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 28, n. 2, p. 84-94, 2006.

MENDES, C. R. et al. Respiratory activity for the differentiation of vigor on soybean seeds lots. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v 31, p. 171-176, 2009.

MIGUEL, M. H. et al. Teste de frio para avaliação do potencial fisiológico de sementes de algodão. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.58, n.4, p.741-746, out./dez. 2001.

NAES, T. et al. **Multivariate calibration and classification**. Chichester: Nir Publications, 2002. 344 p.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados na avaliação das plântulas. In: VIEIRA, R. D., CARVALHO, N. M. **Testes de vigor em sementes**. Jaboticabal: FUNEP, 1994. p. 49-85.

NOLI, E. et al. Suitability of three vigour test procedures to predict field performance of early sown maize seed. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 36, n. 1, p. 168-176, Apr. 2008.

OHLSON, O. C. et al. Teste de envelhecimento acelerado de trigo. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 118-124, 2010.

OLIVEIRA, A. C. S. et al. Testes de vigor em sementes baseados no desempenho de plântulas. **Revista Científica Internacional**, Ano 2, n. 4, jan. 2009.

OTONI, R. R.; MCDONALD, M. B. Moisture and temperature effects on maize and soybean seedlings using the seed vigor imaging system. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 27, n. 2, p. 243-247, 2005.

PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 14, n. 2, p. 198-219, mar./abr. 2003.

PINTO, C. A. G. et al. Image analysis in the evaluation of the physiological potential of maize. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, p. 319-328, 2015.

POREP, J. U.; KAMMERER, D. R.; CARLE, R. On-line application of near infrared (NIR) spectroscopy in food production. **Trends in Food Science & Technology**, v. 46, n. 2, p. 211–230, 2015.

REICH, G. Near-infrared spectroscopy and imaging: basic principles and pharmaceutical applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, New York, v. 57, n. 8, p. 1109-1143, June 2005.

RIGON, C. A. G. et al. Germinação e desenvolvimento inicial de picão-preto e nabo forrageiro submetidos a extratos de canola. **Revista Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 8, n. 2, p. 25-28, 2014.

ROCHA, C. R. M.; SILVA, V. N.; CICERO, S. M. Avaliação do vigor de sementes de girassol por meio de análise de imagens de plântulas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 6, 2015.

ROGGO, S. et al. Screening and distinction of coffee brews based on headspace solid phase microextraction/gas chromatography/principal component analysis. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 84, n. 1, p. 43-51, 2007.

ROSSATO, R. et al. Prediction grape seed oil content with near-infrared spectroscopy. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 12, p. 1601-1605, 2013.

SAKO, Y. et al. A system for automated seed vigour assessment. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 29, n. 3, p. 625-636, 2001.

SANTOS, F. et al. Teste de envelhecimento acelerado para avaliação da qualidade de sementes de alface e almeirão. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 33, n. 2, p. 322-323, 2011.

- SILVA, A. L. **Qualidade das sementes de feijão e milho tratadas com extratos de origem vegetal durante o armazenamento.** 2010. 109 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Tecnologia e Recursos Naturais, Campina Grande, PB, 2010.
- SILVA, M. A. DE M. **Desenvolvimento e Validação de Método Quimiométrico para Determinação de Amoxicilina em Formulação Farmacêutica.** 2011. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares) - Universidade Estadual de Goiás, Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas, Anápolis, 2011.
- SILVA, V. N.; CICERO, S. M. Seedling imaging analyze to evaluate eggplant seed physiological potential. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 45, n. 2, p. 327-334, 2014.
- SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Spectrometric Identification of Organic Compounds.** 6. ed. New York: Wiley, 1998.
- SOARES, S. F. C. et al. Classification of individual cotton seeds with respect to variety using near-infrared hyper spectral imaging. **Analytical Methods**, v. 8, n. 48, p. 8498-8505, 2016.
- SVANTE, W.; SJÖSTRÖM, M.; ERIKSSON, L. PLS-regression: a basic tool of chemometrics. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, Amsterdam, v. 58, n. 2, p. 109-130, Oct. 2001.
- TUNES, L. M. et al. Envelhecimento acelerado em sementes de azevém com e sem solução salina e saturada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, p. 33-37, 2011.
- VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. Validation of multivariate calibration models in the determination of sugar cane quality parameters by near infrared spectroscopy. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 2, p. 259-266, 2007.
- VANZOLINI, S. et al. Teste de comprimento de plântula na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 29 p. 90-96, 2007.
- VIEIRA, B. G. T. L. et al. Alternative procedure for the cold test for soybean seeds. **Scientia agrícola**, Piracicaba, v. 67, n. 5, p. 540-545, 2010.
- VIEIRA, F. C. F. et al. Aspectos fisiológicos e bioquímicos de cultivares de soja submetidos a déficit hídrico induzido por PEG 6000. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 2, p. 543-552, mar./abr. 2013.
- WENDT, L. et al. Avaliação do potencial fisiológico de sementes de soja por meio de imagens. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 3, p. 280-286, 2014.
- WHELEHAN, O. P. et al. Detection of ovarian cancer using chemometric analysis of proteomic profiles. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, Berlin, v. 84, n. 1, p. 82-87, Feb. 2006.

WESTERHUIS, J. A. et al. Multivariate paired data analysis: multilevel PLSDA versus OPLSDA. **Metabolomics**, London, v. 6, n. 1, p. 119-128, Mar. 2010.

ZUCHI, J., et al. Physiological quality of dynamically cooled and stored soybean seeds. **Journal of Seed Science**, v.35, p. 353-360, 2013.