

LÍVIA GIRO MAYRINCK

USO DA ESPECTROMETRIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE ALGODÃO

LÍVIA GIRO MAYRINCK

USO DA ESPECTROMETRIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE ALGODÃO

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. João Almir Oliveira Orientador Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães Coorientador Dra. Juliana Maria Espíndola Lima Coorientadora

> 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).

Mayrinck, Lívia Giro.

Uso da espectrometria no infravermelho próximo na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de algodão / Lívia Giro Mayrinck. - 2018.

45 p.: il.

Orientador(a): João Almir Oliveira.

Coorientador(a): Renato Mendes Guimarães, Juliana Maria Espíndola Lima.

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

Bibliografia.

1. Gossypium hirsutum L. 2. Qualidade de sementes. 3. Espectometria. I. Oliveira, João Almir. II. Guimarães, Renato Mendes. III. Lima, Juliana Maria Espíndola. IV. Título.

LÍVIA GIRO MAYRINCK

USO DA ESPECTROMETRIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO NA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE ALGODÃO

USE OF NEAR INFRARED SPECTROSCOPY IN COTTON SEEDS PHYSIOLOGICAL QUALITY EVALUATION

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 24 de Agosto de 2018.

Prof. Dr. Everson Reis Carvalho UFU

Prof. Dr. Cleiton Antônio Nunes UFLA

Prof. Dr. Renato Mendes Guimarães UFLA

Prof. Dr. João Almir Oliveira Orientador

> Lavras – MG 2018

AGRADECIMENTOS

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

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais pela concessão da Bolsa de estudos.

Ao meu orientador, João Almir de Oliveira, pela paciência, pelo suporte acadêmico e por me estender a mão em um período muito difícil.

À minha família, especialmente aos meus pais, Elizete e Vitório, minha tia querida Édima, meu pai do coração Cleiton, minha madrinha Poliana e padrinho Renato, que sempre acreditaram no meu potencial e que sempre estiveram presentes.

Aos meus amigos, especialmente Gefs, Carla, Isadora, Caio, Gustavo e Marisa pelo carinho e pela paciência nos momentos difíceis que passei, lembrando também dos amigos que fiz, Barbara, Bernardo, Larissa, Iago e Jonatas.

À tia Rose, pelo carinho e suporte, e a Aline, minha companheira, por sua empatia e por me acompanhar nessa caminhada.

Aos Professores e pesquisadores do Setor de Sementes, Renato Mendes Guimarães, Antônio Rodrigues Vieira, Maria Laene Moreira de Carvalho e Édila Vilela de Rezende Von Pinho, pelos ensinamentos e contribuições.

Aos funcionários do Laboratório Central de Sementes, pela disponibilidade e atenção durante a realização dos experimentos.

Aos bolsistas e a todos os estudantes de iniciação científica e estagiários pelo companheirismo e ajuda nos experimentos.

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

RESUMO

A cultura do algodoeiro é de grande importância em escala nacional e mundial e vem exigindo cada vez mais tecnificação e tecnologias aplicadas em sua cadeia produtiva, buscando maiores produtividades, menores perdas e geração de produto de qualidade. A semente, nesse cenário apresenta grande importância. Para aferição da qualidade, as avaliações das sementes são feitas por meio de diversos testes de vigor, porém existe a busca por técnicas e ferramentas de avaliação mais rápidas. Aliada a quimiometria, a espectrometria no infravermelho próximo pode oferecer uma alternativa para a avaliação da qualidade, pois já vem sendo utilizada em muitas áreas da agricultura, inclusive na área de sementes. Este trabalho foi conduzido com o objetivo de avaliar o potencial da espectrometria no infravermelho próximo para analisar a qualidade de sementes de algodão em função de diferentes níveis de vigor. Foram utilizadas oito amostras referentes a oito lotes de semente de algodão, com e sem línter, de qualidades fisiológicas diferentes. Para avaliar a qualidade fisiológica das sementes, foram realizados testes de germinação, emergência, índice de velocidade de emergência, tetrazólio, condutividade elétrica e sanidade. Essas características foram relacionadas com os espectros obtidos com o espectrômetro de infravermelho próximo em função dos quatro preparos de amostra, sementes inteiras, cortadas, sem tegumento e maceradas, por meio da análise discriminante por regressão dos mínimos quadrados parciais (PLS-DA). Com os resultados obtidos foi possível predizer o nível de qualidade fisiológica de sementes de algodão com resultados satisfatórios, sendo que os melhores modelos obtidos foram para sementes maceradas, com e sem línter, com valores superiores de desempenho.

Palavras-chave: Espectrometria. Gossypium hirsutum L. PLS-DA. Vigor. Quimiometria.

ABSTRACT

Cotton is an important crop in national and international scale, demanding growing technification and technologies applied at the productive chain, looking for greater productivities, lower losses and increase of product quality. The seeds in this scenario is of great importance. To assess quality, seeds evaluations are made by several vigor tests, however the search for techniques and faster evaluation tools is recurrent. Near Infrared Reflectance (NIR) allied with chemometrics can offer an alternative to quality evaluation, because this tool has already been used successfully in many agriculture areas, including seeds area. The objective of this study was to evaluate the near infrared spectrometry potential in analyze the quality of cotton seeds regarding its vigor levels. Were used eight samples referring to eight lots of cotton seeds, with and without lint, with different physiological quality. To gauge the seeds physiological quality, has been made tests of germination, emergence, seedling speed emergence, tetrazolium, electrical conductivity and sanity. Those characteristics were compared with the spectra obtained by near infrared spectrometer for four sample preparation, intact seeds, split, without tegument and ground, using partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA). The results show that is possible to predict different physiological quality of cotton seeds with satisfactory results and the bests models obtained was for ground seeds, with and without lint, presenting higher performance.

Key-words: Spectrometry. Gossypium hirsutum L. PLS-DA. Vigor. Chemometrics.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	9
2.	REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1	Importância da cultura do algodão	
2.2	Qualidade de sementes	12
2.3	Espectrometria no infravermelho próximo e quimiometria	14
3.	MATERIAL E MÉTODOS	18
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	
5.	CONCLUSÕES	35
REFE	RÊNCIAS	3 <i>€</i>

1. INTRODUÇÃO

A cultura do algodoeiro no agronegócio, representa uma importante parcela de geração de renda e emprego em escala nacional e mundial. O cultivo da commodity algodão vem exigindo cada vez mais tecnificação e tecnologias aplicadas em sua cadeia produtiva, buscando maiores produtividades, menores perdas e geração de produto de elevada qualidade e rentabilidade.

Os custos de implantação da cultura é elevado, sendo que uma pequena parcela é direcionada à compra de sementes, porém, estas devem ser adquiridas com qualidade, para que os demais insumos possam permitir a máxima expressão destes genótipos, sendo a semente o veículo de toda a tecnologia empregada para sua produção.

Nas etapas pós colheita de sementes de algodão, é necessário seu processamento, contando com etapas mecanizadas, como o descaroçamento, o deslintamento, podendo haver associação de etapa mecânica e química, e posteriormente o beneficiamento. Nessas etapas é necessário que se utilize de testes rápidos para tomadas de decisões quanto ao destino de cada lote.

Desta forma, a avaliação dos lotes permite que se estime seu valor agregado tanto para fins de recepção, deslintamento, comercialização, bem como predizer a quantidade de sementes requerida para o plantio. Sendo assim, testes de vigor que diferenciem o potencial fisiológico dos materiais são realizados para que informações complementares sejam obtidas para o controle de qualidade das empresas produtoras de sementes de algodão, mas geralmente são avaliações mais demoradas. Nesse sentido, testes rápidos e que otimizem a tomada de decisão são necessários.

Buscando respostas mais rápidas com resultados condizentes com a real qualidade das sementes, a espectroscopia no infravermelho próximo aliada a métodos quimiométricos pode representar uma alternativa promissora para obtenção dessas informações. O espectrômetro no infravermelho próximo tem a capacidade de realizar suas analises sucessivamente, em um curto período de tempo, utilizando pouco ou nenhum preparo da amostra, não gerando resíduos por não utilizar produtos químicos ou reagentes, não destrutiva, menores custos na condução e necessidade de mão de obra. As limitações na aplicabilidade desta técnica são relativas ao custo do equipamento, sua manutenção e a necessidade de mão de obra especializada.

Objetivou-se nessa pesquisa avaliar o potencial de uso da espectrometria no infravermelho próximo para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de algodão em função de níveis de vigor, com diferentes metodologias amostrais.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância da cultura do algodão

O algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) é uma aleuro oleaginosa pertencente à família das Malvaceae. Seu principal produto é o fruto, com 52% de sua massa total representada por suas sementes, 40% de fibras (pluma) e 8% de demais estruturas botânicas.

O cultivo, no cenário atual, é essencialmente destinado à produção de fibra, sendo esta a fibra natural mais importante da indústria têxtil mundial, em que na safra de 2017/2018 a estimativa de produção foi de 1.942 mil toneladas da pluma de algodão, com área total plantada de 1175,9 mil hectares no Brasil, a maior das últimas cinco safras, com uma receita de 12,51 bilhões de reais (Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB, 2018).

Segundo dados disponibilizados pela Associação Brasileira de Sementes e Mudas (ABRASEM), a produção brasileira de sementes, com garantia de procedência e seguindo parâmetros de qualidade, ou seja, legalizadas, na safra de 2013/2014 foi de 20.224 toneladas, com Bahia e Mato Grosso contribuindo com 51,59% e 41,56% da parcela, respectivamente (Associação Brasileira de Sementes e Mudas — ABRASEM, 2017).

Essa produção é destinada à redistribuição aos agricultores, que utilizam cerca de 12 a 15 kg de sementes sem línter para plantar cada hectare. Ainda hoje são usadas para o plantio mais sementes do que o necessário por metro linear em busca de compensar as falhas no campo, pois essas apresentam qualidade insatisfatória, com germinação ou vigor baixos. Esse fato se deve ao observado por Mattioni, Albuquerque e Guimarães (2012) que a utilização de sementes de médio e baixo vigor originam plantas que não conseguem se equiparar, em desenvolvimento e produtividade, às originadas de sementes de elevado vigor.

O uso de sementes de qualidade pode influenciar diretamente nos custos totais de produção da cultura, que se mostram elevados. Na safra de 2015/2016, segundo dados fornecidos pelo IMEA, os custos foram em torno de R\$ 7 mil por hectare, para as diferentes regiões do país, com uma pequena parcela voltada para a aquisição de sementes (Instituto Mato-Grossense de economia agropecuária — IMEA, 2017).

Considerando esse alto custo da cultura, o investimento com sementes de elevada qualidade agregada se faz necessário, para que os demais insumos e tecnologias empregadas possam permitir a máxima expressão do genótipo cultivado frente aos fatores adversos (MARCOS FILHO, 2015), sendo um dos fatores para o sucesso do cultivo, a elevada qualidade das sementes.

2.2 Qualidade de sementes

Qualidade em sementes, de acordo com Marcos Filho (2015), representa a interação de atributos que propiciam a formação e desenvolvimento de plantas de alta produtividade, sendo esses genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários. Para a produção de sementes de boa qualidade, deve-se considerar as etapas de colheita e pós colheita, bem como condições de armazenamento.

Quanto a esses atributos, no que se refere a qualidade genética das sementes, tem-se a contaminação varietal (PESKE et al., 2012), que pode ocorrer nas etapas de colheita e pós colheita, e a genética, que envolve fecundação indesejada, ocorrendo à nível de campo (CASTRO et al., 2015). Com o isolamento dos campos de produção, limpeza de equipamentos utilizados na colheita e processamento e o cuidado com o manejo de sementes pós-colheita, esses tipos de contaminações podem ser reduzidos ou evitados.

Quanto à qualidade sanitária, temos a semente como um veículo importante de propagação de diversos patógenos (FANTINEL et al., 2017; REIS VENTUROSO et al., 2015) tendo essa associação como comprometedora da qualidade (BARROCAS et al., 2014; SANTOS et al., 2016) Ainda no processo de pós colheita, em ocasião do armazenamento, os patógenos trazidos do campo e os já presentes no ambiente de armazenamento, podem se proliferar e diminuir substancialmente a viabilidade e o vigor das sementes (FREITAS et al., 2000).

A integridade física das sementes de algodão, com a cadeia de produção cada vez mais tecnificada e com uso de maquinários, é comprometida por danos mecânicos. Os danos de cunho físico às sementes podem ser imediatos, sendo vistos a olho nu, ou latentes, em formas de trincas microscópicas ou danos internos ao embrião (FRANÇA-NETO; HENNING, 1984). Fatores como a intensidade, local e número de impactos e grau de umidade das sementes são capazes de ocasionar perdas em sua qualidade física (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

A qualidade fisiológica representa a capacidade da semente produzida de desempenhar suas funções vitais, caracterizadas pela germinação, longevidade e vigor (BEWLEY; BLACK, 1994) ver se acho mais nova. Salientando a importância do cuidado na cadeia de produção de sementes, Marincek (2000) observou que a qualidade fisiológica está diretamente ligada ao genótipo e às condições ambientais que foi produzida e armazenada até a comercialização.

A caracterização de materiais em níveis de vigor é importante, sendo que o desempenho inicial e reprodutivo de plantas de algodão se mostra dependente também do

nível de vigor das sementes, e em questões produtivas, plantas mais vigorosas apresentam maior rendimento de fibras e de caroço (MATTIONI et al., 2012).

Para a comercialização de sementes de algodão, é requerido que as sementes apresentem acima de 75% de germinação, como indicado na Instrução Normativa nº 45 do Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento - MAPA, de 17/09/2013 (IN 45/2013), sendo usado rotineiramente pelas empresas produtoras. Porém, os testes de germinação são realizados em condições ótimas e controladas, vindo a superestimar o desempenho das sementes que serão levadas à campo, além de poder apresentar limitações para detecção na diferença de qualidade entre lotes que apresentam alta germinação (HAMPTON; TEKRONY, 1995).

São necessárias informações mais representativas acerca da capacidade de desempenho dos lotes, bem como testes mais rápidos para o controle interno. Sendo assim, existem testes que estimam o vigor de diferentes lotes de sementes, simulando situações desfavoráveis (AOSA, 1983). Somente um teste de vigor pode não ser capaz de trazer informações completas sobre a qualidade das sementes, por isso há necessidade de serem usados de forma complementar (VIEIRA; CARVALHO, 1994).

Os testes rápidos de vigor relacionados aos processos fisiológicos da deterioração, por exemplo, a integridade das membranas celulares e as atividades enzimáticas e respiratórias, são capazes de diferenciar materiais de diferentes qualidades. O início do processo de deterioração em sementes pode ser mais sensivelmente observado por mudanças nas atividades enzimáticas relacionadas a biossíntese em tecidos meristemáticos (COPELAND; MCDONALD, 2001).

Dentre esses aspectos, tem-se desenvolvido e adaptados diversos testes para avaliação do vigor de lotes de sementes, sendo considerados eficientes os que permitem a separação de lotes em diferentes categorias de vigor, desde que essas informações correspondam aos resultados de emergência de plântulas em campo (MARCOS FILHO et al., 1987). Podem-se destacar os testes de condutividade elétrica (BRZEZINSKI et al., 2015; COSTA et al., 2015; GOTARDO et al., 2015), lixiviação de potássio (DOURADINHO et al., 2015; SANTOS et al., 2015), pH do exsudato (ALVES et al., 2016; STALLBAUN et al., 2015), tetrazólio (ARRUDA et al., 2017; MASULLO et al., 2017), envelhecimento acelerado (RADKE et al., 2017; SILVA; BARBOSA; VIEIRA, 2017; SANTOS et al., 2017; VIEIRA et al., 2017) e germinação a baixa temperatura (GRZYBOWSKI et al., 2015; SOUZA et al., 2014).

Com a constante evolução do processo produtivo e na procura por fornecer sementes de qualidade cada vez melhores, há a busca por testes que sejam mais rápidos e eficientes.

Num cenário de evolução de tecnologias para análise de semente, se destacam as de caráter não destrutivo, como o Teste de Raio X (NOGUEIRA FILHO et al., 2017; NORONHA; MEDEIROS; PEREIRA, 2018), Imagem multiespectral e hiperespectral (SOARES et al., 2016), Ressonância magnética nuclear (MARASSI, 2015) e o uso de radiação infravermelha.

Na cadeia produtiva de sementes de algodão é importante que sejam obtidas respostas rápidas para auxílio na tomada de decisão, com o maior número de informações possíveis acerca da qualidade dos lotes no momento da avaliação, para que esta seja efetiva, acarretando menores perdas.

Os métodos baseados em espectroscopia recebem atenção atualmente devido a características como preparação mínima ou nenhuma da amostra, rapidez, otimização de mão de obra e o custo limitado a compra e manutenção do equipamento. Dentre os métodos utilizados atualmente, tem-se a espectroscopia no infravermelho próximo, que pode ser aliada à análise multivariada, representando uma eficiente ferramenta na área de análise de sementes, podendo apresentar resultados positivos para a cultura do algodão como um método não destrutivo e de tempo de resposta curto.

2.3 Espectrometria no infravermelho próximo e quimiometria

Espectrometria é o conjunto de métodos que estudam a interação da radiação eletromagnética com a matéria e que permitem obter informações moleculares, sendo estes divididos por regiões no espectro eletromagnético (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2017).

A luz é uma onda eletromagnética que possui características de frequência e comprimento de onda. A luz com frequências superiores e comprimentos de onda mais curtos está na região do UV-Visível, já as ondas com menores frequências e maiores comprimentos estão na região do infravermelho (TAIZ & ZEIGER, 2004). A radiação infravermelha se divide em Infravermelho próximo (Near infrared – NIR), Infravermelho médio (Middle infrared – MID) e Infravermelho distante (Far infrared – FIR).

Para gerar dados que podem ser analisados posteriormente deve haver a interação entre a amostra e a radiação infravermelha incidente. A faixa de radiação no infravermelho próximo e que interage com os compostos orgânicos está localizada no espectro logo após a região do visível, com comprimento de onda de 780 a 2500 nm (números de onda de 12800 a 4000 cm⁻¹).

Quando uma molécula absorve radiação infravermelha, esta passa para um estado de energia excitado, alterando suas vibrações, porém sem alterar sua frequência. Para que as moléculas absorvam essa radiação, elas precisam apresentar variação no momento dipolo ($\Delta\mu \neq 0$), assim, quando a frequência de vibração da molécula coincide com a da radiação há a absorção de energia (SALA, 1996).

Portanto, a radiação infravermelha está restrita às moléculas que possuem diferenças de energia nos estados vibracionais e rotacionais. A partir da penetração da radiação infravermelha na amostra, ocorrerá interação com as ligações dos constituintes, essa interação possui características de oscilações e frequências específicas, assim pode ser medida nos modos de transmitância/refletância e posteriormente associadas com grupos funcionais presentes nas moléculas. Ligações C-H, O-H, N-H e S-H podem ser identificadas (PASQUINI, 2003), a partir de absorção molecular. Essas moléculas além de possuírem variação no momento dipolo, também estão presentes em diversas substancias orgânicas de interesse.

Seguindo a Lei de Beer-Lambert, a absorção da radiação infravermelha é proporcional a concentração dos grupos funcionais e dos analitos existentes. A partir dos fenômenos causados pela interação radiação-matéria, como a absorção, reflexão, transmissão, refração e difração, pode-se caracterizar compostos a partir da medição da absorbância, refletância e transmitância (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2017).

A medida de transmitância é feita a partir de parte da radiação que é capaz de atravessar a amostra e é captada por um sensor. Na refletância, a radiação consegue penetrar a camada superficial, sendo refletida após absorção parcial e múltiplos espalhamentos de modo difuso na amostra. Esse tipo de medida pode ser utilizado com sucesso em amostras sólidas (PASQUINI, 2003), pois a radiação é capaz de penetrar a poucos milímetros superfície da amostra. Os espectros são obtidos com mínimo ou nenhum preparo das amostras.

As absorções moleculares que ocorrem na espectroscopia NIR não são muito intensas, podendo haver sobreposições, tornando as bandas largas com baixa sensibilidade. Assim os espectros NIR apresentam certa dificuldade de interpretação, sendo necessária a aplicação complementar de métodos de estatística multivariada para extrair as informações analíticas.

A instrumentação utilizada para a espectroscopia NIR se assemelha à de muitos espectrômetros UV-visível, em que espectrômetros convencionais possuem uma fonte de luz, um monocromador ou um sistema de filtros, uma unidade de apresentação da amostra e um detector (GELADI; GRAHN; BURGER, 2007). O gráfico de absorbância x comprimento de onda forma o espectro NIR.

As vantagens da utilização desse equipamento são a capacidade das análises serem realizadas sucessivamente, em um período curto de tempo, capaz de gerar um grande número de informações, com menor necessidade de mão de obra, rapidez, menor custo, não poluente, não utiliza produtos químicos ou reagentes e é não destrutivo (AMORIM, 1996).

O espectrômetro de infravermelho próximo, por seu potencial abrangente, tem sido utilizado de forma promissora em diferentes áreas. Destaca-se o uso para análise de fármacos (ALMEIDA et al., 2015; AMORIM et al., 2013; CIURCZAC & IGNE, 2014), resíduos no leite (BOTELHO et al., 2015; LUIZ et al., 2015), na área de solos (ALMEIDA et al., 2016; FELIX et al., 2016; FRANCESCHINI et al., 2014), biodiesel e gasolina (FRANCESQUETT et al., 2013; RIZZI et al., 2016; RUSCHEL et al., 2014), caracterização e discriminação de espécies madeireiras (ESTOPA et al., 2017; NASCIMENTO et al., 2017; NISGOSKI et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2015), dentre outros.

As pesquisas na área de sementes vem trazendo resultados satisfatórios em avaliação da qualidade, como em soja, algodão, café e tomate (BAZONI et al., 2017; GAITÁN et al., 2008; GUIMARÃES, 2016; HUANG et al., 2012; SHRESTHA et al., 2016), da viabilidade em milho e espinafre (AMBROSE et al., 2016; SHETTY et al., 2012), de composição, com predição de ácido fítico em sementes de *Vigna radiata* (PANDE; MISHRA, 2015), 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, mamona e milho (CUI et al., 2012; JIA et al., 2015; RINGSTED et al., 2016; SANTOS et al., 2014; SOARES et al., 2016;).

Apesar da grande aplicabilidade da espectroscopia NIR, ela não é normalmente utilizada na análise direta, pela complexidade dos dados gerados. Torna-se necessária a construção de modelos de calibração, que utilizam os espectros gerados e técnicas de referência. Essas técnicas podem ser baseadas em métodos multivariados, provenientes da quimiometria. Integrando-se a espectroscopia e a quimiometria, a estatística pode ser associada aos dados químicos, gerando dados importantes para análises diversas.

A utilização de dados multivariados pode reduzir a quantidade de ruídos, dando maior precisão aos métodos e permitindo a determinação simultânea de várias características de uma amostra com um único sinal multivariado (KUMAR et al., 2014). Construindo o modelo, este pode ser aplicado a conjuntos de amostras, determinando alguma propriedade de interesse.

A calibração ocorre por meio de operações matemáticas, sendo estabelecidas relações entre medidas instrumentais e valores para uma característica de interesse (MARTEN;

GELADI, 1989), compreendendo as etapas de modelagem e validação (SOARES et al., 2013).

Para a aplicação dos métodos quimiométricos, os dados devem ser organizados em matrizes. Os espectros de cada amostra formam a Matriz X (n x m), em que as linhas correspondem às amostras e as colunas correspondem aos valores de medida de intensidade parra cada número de onda (VARMUZA; FILZMOSER, 2016), compondo as variáveis independentes. As variáveis dependentes formam a Matriz Y, que correspondem a estimação das variáveis de interesse a serem preditas (FERREIRA et al., 1999). O resultado de um modelo de calibração multivariada é uma função estatística relacionando variáveis dependentes Y com variáveis independentes X (BAUNSGAARD et al., 2000).

Os conjuntos obtidos apresentam muitas variáveis, representando uma grande dimensão de dados, dificultando seu tratamento. Ferramentas estatísticas podem possibilitar uma melhor visualização espacial, como a Regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS - Partial Least Squares), a Análise de Componentes Principais (PCA – Principal Component Analysis), e a Análise Discriminante pelo Método de Mínimos quadrados parciais (PLS-DA – Partial Least Squares-Discriminant Analysis).

O método PLS-DA busca a relação linear entre as variáveis dependentes e independentes, utilizando a regressão por mínimos quadrados parciais (PLS), que cria correlações entre semelhanças e diferenças estruturais entre os compostos, permitindo a interpretação de uma série de dados complexos e com grande número de variáveis. Para fins de classificação de amostras, o método PLS-DA tem sido utilizado com sucesso a partir de um modelo capaz de separar conjuntos em classes (MARQUETTI et al., 2015; MONFERRERE et al., 2012).

Após a etapa de modelagem, é necessário fazer a validação do modelo, para indicar se este é capaz ou não de determinar o parâmetro desejado, a partir das validações interna e externa. Para a validação interna, de um conjunto de n amostras, é deixada sempre uma delas como não participante da calibração (*leave one out*), e assim é feita uma previsão das propriedades dessa amostra (BERRUETA et al. 2007). Para a validação externa, utilizam-se amostras que não participaram da construção do modelo de calibração.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório central de análise de sementes, Laboratório de patologia de sementes, e Laboratório central de análise e prospecção química, da Universidade Federal de Lavras - UFLA, Lavras, Minas Gerais. O experimento foi conduzido em duas partes, na primeira, foram realizados os testes fisiológicos para determinação dos níveis de qualidade das sementes de algodão, e na segunda, foi realizada a análise das amostras no aparelho de espectroscopia no infravermelho próximo para detecção dos diferentes níveis de qualidade fisiológica das sementes de algodão.

As sementes utilizadas foram disponibilizadas pela empresa produtora Bayer ®, sendo estas, amostras de oito lotes de diferentes qualidades fisiológicas, em que cada amostra apresentava uma subamostra com e sem línter, e para a identificação de cada tratamento foilhes conferindo uma numeração (amostras 1 a 8).

3.1 Testes fisiológicos

O delineamento experimental utilizado com a determinação da qualidade fisiológica das sementes de algodão foi inteiramente casualizado com fatorial 2 x 8 (com e sem línter X amostras) e quatro repetições.

Na recepção das amostras foi realizada a homogeneização das sementes de cada tratamento, sendo em seguida avaliadas em função da qualidade fisiológica por meio dos testes:

Germinação - foram utilizadas quarto subamostras contendo 50 sementes, semeadas em rolo de papel germitest umedecido 2,5 vezes o peso do substrato em água e mantidos em germinador a 25°C, realizando-se uma única contagem aos 5 dias após a semeadura. Os resultados foram expressos em percentagem de plântulas normais de acordo com a Regra para Análise de sementes (BRASIL, 2009a).

Emergência de plântulas em canteiro – foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por tratamento, sob condições ambiente não controladas. O substrato foi constituído de areia e terra na proporção 2:1. Foi registrado o estande de plântulas ao 7° e ao 21° dia, usando como parâmetro de contagem a emergência total dos cotilédones, com os resultados expressos em percentagem de numero de plântulas normais nos respectivos dias de contagem. Também foi registrado o numero de plântulas emergidas diariamente do 1° ao 12° dia usando

o mesmo parâmetro de contagem, os resultados foram expressos em índice de velocidade de emergência, de acordo com Maguire (1962).

Tetrazólio – foram utilizadas 4 repetições de 50 sementes para cada tratamento. As sementes foram pré-condicionadas entre papel germitest umedecido com água destilada a 25°C por 16 horas. O tegumento das sementes foi removido para coloração em sal de tetrazólio a 0,075%, onde as sementes foram imersas por 4 horas a 30 °C na ausência de luz. Para a avaliação da coloração das sementes, foi utilizada metodologia descrita para tetrazólio em sementes de algodão (VIEIRA; VON PINHO, 1999), os resultados foram expressos em percentagem de sementes vigorosas e viáveis.

Condutividade elétrica - foram utilizadas 4 repetições de 50 sementes inicialmente pesadas em balança de precisão de 0,01g casas decimais, e em seguida imersas em 75mL de água destilada, contida em copos plásticos, pelo período de 24h a 25 °C em BOD (BRANDÃO JUNIOR et al., 1997). A leitura foi realizada com o auxílio de um condutivímetro e seus resultados apresentados em μS.cm⁻¹.g⁻¹ de sementes (VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999).

Sanidade - foram utilizadas oito repetições de 25 sementes dispostas sobre duas folhas de papel de filtro em placa de petri. Foi utilizado o método do papel de filtro para a realização da analise sanitária, segundo descrito no Manual de análise sanitária de sementes (BRASIL, 2009b), com o uso de 2,4- D, água destilada e ágar para a embebição do papel. As placas foram incubadas em câmara por sete dias, com fotoperíodo de 12 horas a 20 °C. Cada semente foi analisada individualmente com o auxílio de microscópio estereoscópio, identificando-se os fungos incidentes. Os resultados foram expressos em percentagem.

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo software SISVAR e as médias comparadas pelo teste de Tukey (p < 0.05) (FERREIRA, 2011), com exceção para o teste de sanidade, com a apresentação descritiva das médias dos tratamentos devido à grande variação dos dados.

Com base nos resultados dos testes fisiológicos classificou-se a qualidade das amostras de algodão, de acordo com o padrão de comercialização utilizado pelo Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento - MAPA, em que sementes de algodão para serem comercializadas, precisam ter no mínimo 75% de germinação. Por isso, foram considerados dois níveis de qualidade fisiológica (alta e baixa), sendo então, amostras com valores acima de 75% de germinação consideradas de alta qualidade e abaixo desse valor de baixa qualidade. Essa classificação foi realizada para posterior comparação com os dados obtidos na análise de espectroscopia no infravermelho próximo (tópico 3.2).

3.2 Espectrometria no infravermelho próximo

Para cada amostra de sementes de algodão com e sem línter, foram analisados quatro tipos de preparo: sementes inteiras, cortadas, sem tegumento e maceradas.

As *sementes inteiras* não tiveram nenhum tipo de pré-tratamento, sendo expostas diretamente na saída do feixe de luz infravermelha. A quantidade de sementes utilizadas foi de 100 unidades, cada uma representando uma repetição.

As sementes cortadas foram seccionadas longitudinalmente com o auxílio de bisturi e expostas na luz infravermelha com as bandas cortadas voltadas para o feixe de luz logo após a realização do corte, para evitar oxidação das sementes. A quantidade de sementes utilizadas foi de 100 unidades, cada uma representando uma repetição.

As sementes sem tegumento tiveram seu tegumento retirado com auxílio de bisturi e expostas diretamente à radiação logo após o procedimento, para evitar a oxidação das amostras. A quantidade de sementes utilizadas foi de 100 unidades, cada uma representando uma repetição.

Para as *sementes maceradas* utilizou-se o moinho modelo IKA® A11, com adição de nitrogênio líquido e polivinilpirrolidona, para evitar a oxidação da amostra, sendo o pó formado colocado em cubetas para exposição à radiação. Foram utilizadas 40 sementes para cada repetição, com 17 repetições no total, somando 680 sementes.

Análise por espectroscopia no infravermelho próximo - Os espectros foram obtidos colocando as amostras, diretamente ou em cubetas (sementes maceradas), 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 auxilio do software OPUS_Spectroscopy version 6, 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.

Análise multivariada – a partir do agrupamento das amostras de sementes de algodão em alta e baixa qualidade foi otimizado um modelo por *validação cruzada*, em que se utilizou 3/4 das amostras para calibração e 1/4 para teste, construído a partir do método de classificação multivariada por regressão de mínimos quadrados parciais com análise descriminante (PLS – DA), utilizando o software estatístico Pirouette®, sendo as classes Y as

variáveis dependentes e os espectros obtidos constituíram as variáveis independentes X (ABDI, 2003).

A sensibilidade e a especificidade dos modelos otimizados foram obtidas dividindo-se o número de amostras previstas da classe pelo número total de predições da classe, e dividindo-se o número de amostras previstas como não sendo da classe pelo número total de amostras que não são da classe, respectivamente (SZYMANSKA et al., 2011), na etapa de validação.

As médias dos espectros das sementes de algodão, com e sem línter, para alta e baixa qualidade fisiológica foram obtidas e, em seguida, aplicada a correção multiplicativa de sinais (Multiplicative Scatter Correction - MSC), utilizando o software Chemoface® (NUNES et al., 2012).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise de variância verificaram-se diferenças entre as médias das amostras avaliadas quanto a germinação, emergência e índice de velocidade de emergência, entre as amostras e entre as sementes com e sem línter (Tabela 1).

As amostras de sementes de algodão com línter que obtiveram as maiores percentagens de germinação foram as 1, 6, 2 e 4, enquanto as que apresentaram as menores médias foram as amostras 8, 3, 7 e 5. Quanto às amostras sem línter, observou-se superioridade das médias das amostras 6, 1, 4, 5 e 7 e inferioridade das médias das amostras 8, 3 e 2.

Entre as amostras com línter, pode-se perceber menores percentagens de germinação e também maior sensibilidade entre as diferenças desses resultados, quando comparados às sementes sem línter, isso pode ter ocorrido devido a menor pureza física destas amostras. De acordo com os resultados de germinação de sementes de algodão, entre os tratamentos com e sem línter, os autores Queiroga et al. (2009), trabalhando com a mesma espécie, também constataram que sementes sem línter apresentaram melhores qualidades fisiológicas.

Para a comercialização de sementes de algodão, é requerido que as sementes estejam sem línter e apresentem acima de 75% de germinação, como indicado na Instrução Normativa nº 45 do Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento - MAPA, de 17/09/2013 (IN 45/2013), sendo utilizado rotineiramente pelas empresas produtoras. A partir dessa premissa, pode-se observar que os lotes 1, 4, 5, 6 e 7 estão aptos à comercialização, e os lotes 8, 3 e 2 não seriam aprovados para comercialização.

Os valores de germinação são usados como indicativos de qualidade, porém esse teste pode superestimar a qualidade das sementes, pois é conduzido em condições ótimas. O teste de emergência é importante pelo fato de que avalia-se a capacidade das sementes de gerarem plântulas normais mesmo sob condições diferentes das ideais para a germinação e estabelecimento de plântulas, em que os maiores percentuais de emergência correspondem às sementes mais vigorosas.

Tabela 1 – Resultados médios dos testes de Germinação (GERM, %) para as amostras de 1 a 8 de sementes de algodão, com e sem línter, seguidas de percentagem do coeficiente de variação e da média geral.

Amaratura	Germi	nação	
Amostras	Com línter	Sem línter	
1	95 aA	94 aA	
2	86 abA	74 bB	
3	56 deA	46 cB	
4	81 bcB	93 aA	
5	74 cB	91 aA	
6	90 abA	95 aA	
7	61 dA	86 aA	
8	45 eA	46 cA	
C.V. (%)	6,9	94	
Médias (%)	75,93		

Fonte: Da autora (2018).

Na avaliação da emergência de plântulas provenientes de sementes de algodão com línter (Tabela 2), pode-se observar superioridade para a amostra 1 e inferioridade para as amostras 4, 7 e 8, com as demais apresentando valores intermediários.

Os resultados de emergência (7 e 21 dias) para as sementes de algodão sem línter apresentaram resultados mais parecidos aos observados para a germinação, com as amostras 3 e 8 de menores médias, diferindo estatisticamente das demais, e semelhante também pela ocorrência de maior percentagem de plantas emergidas provenientes de sementes de algodão sem línter em comparação com as sementes com línter. Os autores Rossi, Cavariani e França-Neto (2017), obtendo sementes de soja de três níveis de vigor (alto, médio e baixo vigor) por envelhecimento artificial, também obtiveram concordância de resultados entre o teste de germinação e a emergência de plântulas, conseguindo caracterizar as sementes de soja das diferentes cultivares.

Trabalhando com sementes de arroz (*Oryza sativa*), HÖFS et al. (2004) utilizaram dos testes de germinação como premissa para a caracterização dos lotes em alta (germinação maior que 95%) e baixa qualidade fisiológica (germinação entre 80% e 85%), podendo classificar as sementes analisadas e relacionar estes resultados com os demais testes aplicados (envelhecimento acelerado, teste de frio e emergência a campo), o que também ocorreu no presente trabalho.

Observando os valores obtidos para o estande de plântulas de sementes de algodão das amostras avaliadas (7 e 21 dias) (Tabela 2), pode-se perceber que não houve variação

relevante do sétimo ao vigésimo primeiro dia de contagem. Podendo-se inferir que a qualidade fisiológica e a presença ou não de línter não influenciaram o estabelecimento do estande de plântulas.

O índice de velocidade de emergência (Tabela 2) observado para as plântulas oriundas de sementes de algodão com línter foi semelhante a maior parte das amostras, diferenciando a amostra 1 com maior velocidade de emergência e a amostra 8 com menor velocidade de emergência. Para as sementes sem línter houve maior variação entre as amostras, porém a amostra 1 se manteve com valor superior, as amostras 3 e 8 como inferiores e as demais apresentaram valores intermediários para essa variável.

No presente trabalho, o índice de velocidade de emergência das sementes sem línter também pode ser bem relacionado com os resultados de germinação, salvo a amostra 2, que apresentou resultados intermediários de velocidade de emergência.

Observando os resultados para o teste de germinação, emergência de plântulas em canteiro e índice de velocidade de emergência, pode-se constatar que a amostra 8 apresentou inferioridade em todos eles, tanto com a presença ou ausência de línter. Estes testes também foram capazes de diferenciar a amostra 3 como de qualidade fisiológica inferior, salvo para as sementes com línter para emergência de plântulas em canteiro e índice de velocidade de emergência.

Entretanto, para a amostra 2, não houve diferenciação pelos testes de emergência de plântulas em canteiro e índice de velocidade de emergência, isso pode ter ocorrido pelo fato de essa amostra apresentar valores intermediários entre as sementes de alta e baixa qualidade, com as diferenças não sendo detectadas nestes testes em particular (STEINER et al., 2011). O mesmo ocorreu em trabalho conduzido por Cocco (2012), que diferenciou lotes de algodão (sem línter) pelo teste de germinação (todos apresentando percentagem de germinação acima de 80%), porém os resultados de emergência em canteiro não foram capazes de diferenciar esses lotes.

Tabela 2 – Resultados médios de emergência aos 7 e 21 dias e Índice de velocidade de emergência (IVE) de plântulas de sementes de algodão provenientes de diferentes amostras (1 a 8), com e sem línter, seguidas de percentagem do coeficiente de variação e da média geral.

	7 D	OIAS	21 D	IAS	IVE		
Amostras	Com		Com	Sem	Com		
	linter	Sem linter	linter	linter	linter	Sem linter	
1	88 aA	94 aA	90 aA	94 aA	10,22 aB	14,30 aA	
2	80 aA	79 aA	81 abA	80 aA	8,98 abB	11,77 abA	
3	82 aA	53 bB	84 abA	55 bB	9,35 abA	7,65 cdA	
4	73 abB	87 aA	74 bcB	90 aA	8,04 abB	11,21 bA	
5	74 abB	92 aA	74 abcB	94 aA	7,88 abB	12,68 abA	
6	81 aA	81 aA	83 abA	85 aA	8,98 abA	10,03 bcA	
7	72 abA	81 aA	72 bcA	81 aA	8,52 abB	11,81 abA	
8	60 bA	50 bA	65 cA	54 bB	6,35 bA	6,43 dA	
C.V. (%)	7. (%) 9,88		8,99		14,07		
Médias (%)	Médias (%) 76,89		78,7	' 3	9,64		

Fonte: Da autora (2018).

Pelos resultados do teste de tetrazólio, as sementes de algodão com línter apresentaram maiores percentagens de sementes vigorosas e viáveis em relação as sementes sem línter (Tabela 3). Quanto as sementes com línter, foram observadas menor ocorrência de sementes vigorosas para as amostras 4, 8 e 5, já para os resultados das sementes viáveis, não foi observada diferença entre as amostras avaliadas.

No sistema de produção de sementes, as sementes de algodão passam por um longo processo de beneficiamento. Os processos físicos que essas sementes são submetidas (colheita, retirada das fibras, deslintamento) causam danos irreversíveis, diminuindo a qualidade fisiológica, sendo esta detectada em testes de germinação e vigor. O teste de tetrazólio pode ser utilizado em diferentes etapas do beneficiamento, podendo-se monitorar a origem do dano, a severidade e sua extensão, representando uma importante ferramenta para a avaliação da qualidade das sementes de algodão (MATTIONI; ALBUQUERQUE; GUIMARÃES, 2012; ZORZAL et al., 2015).

Quanto a separação dos lotes das sementes vigorosas sem línter, foram observados os mesmos resultados que o teste de germinação e semelhança com os outros testes, com as amostras 8, 3 e 2 estatisticamente inferiores as demais, em que os danos mecânicos representaram a principal causa do baixo vigor das sementes avaliadas. Nos resultados para as sementes viáveis também foi observada semelhança aos demais testes, com as amostras 8 e 3 de menores valores.

Tabela 3 – Resultados médios de tetrazólio de sementes (vigorosas e viáveis) de algodão provenientes de diferentes amostras (1 a 8) com e sem línter.

Amagtuag	Vigo	rosas	Viá	veis	
Amostras	Com linter	Sem linter	Com linter	Sem linter	
1	88 abA	87 aA	97 aA	95 abA	
2	2 81 abcA 3 88 abA		95 aA	90 abA	
3			96 aA	79 cB	
4	62 dB	80 aA	91 aA	95 aA	
5	79 bcA	83 aA	95 aA	98 aA	
6	94 aA	85 aA	99 aA	97 aA	
7	92 abA	89 aA	97 aA	98 aA	
8	8 73 cdA		90 aA	84 bcA	
C.V. (%)	8,18		5,5		
Médias (%)	77,	,93	93,31		

Fonte: Da autora (2018).

O início da deterioração em sementes pode ser observado, dentre outros aspectos, pela perda da integridade de membranas celulares com sua degradação pelas espécies reativas de oxigênio, que promovem a oxidação dos compostos causando perda de viabilidade em sementes (BERJAK, 2006). Os testes rápidos de vigor relacionados a esses processos fisiológicos da deterioração, como o teste de condutividade elétrica, são capazes de diferenciar materiais de diferentes qualidades, sendo utilizado para análise de sementes de algodão com eficiência (NUNES et al., 2015; SOUZA et al., 2014).

Os resultados de condutividade elétrica para as sementes dos lotes com línter indicaram menores valores para as sementes dos lotes 1 e 3, maior valor para o lote 7 (Tabela 4). As amostras que obtiveram menores valores de condutividade correspondem à sementes com maior vigor, por ocorrer menores liberações de lixiviados para o meio analisado (Association of Official Seed Analystis — AOSA, 1983).

Pode ser observado que os lotes de sementes sem línter apresentaram resultados mais condizentes com os outros testes de vigor, com maiores valores de condutividade para os lotes 8, 3 e 7, e os menores para os lotes 1, 4, 5 e 6. As demais amostras apresentaram valores intermediários.

Tabela 4 – Resultados médios de condutividade elétrica (CE, μS cm ⁻¹	g ⁻¹) de sementes de
algodão provenientes de diferentes amostras (1 a 8) com e sem línter.	

Amastwas	CE				
Amostras	Com línter	Sem línter			
1	201,25 dB	321,57 dA			
2	422,00 bA	464,90 bcA			
3	304,05 cB	608,55 aA			
4	494,85 bA	396,90 cdB			
5	484,40 bA	367,42 dB			
6	446,20 bA	331,87 dB			
7	583,62 aA	533,02 abA			
8	466,85 bB	564,45 aA			
C.V. (%)	Ç	9,06			
Médias (%)	43	35,74			

Fonte: Da autora (2018).

Na Tabela 5 estão apresentadas as medias encontradas no teste de sanidade, para as amostras, com línter e sem línter, utilizadas neste trabalho para quatro fungos de importância na cultura do algodão: *Colletotrichum gossypii, Fusarium oxysporum, Penicillium sp.* e *Aspergillus sp.*

A percentagem de sementes com línter com incidência do fungo *Colletotrichum gossypii* foi, em geral, maior do que as deslintadas, salvo a amostra 1. Pode-se observar as maiores medias para as amostras 2, 8, 4 e 5 com línter, e 1 e 5 para sementes deslintadas.

A incidência do fungo *Fusarium oxysporum* foi a segunda maior encontrada nas sementes analisadas, com valores superiores nas amostras sem línter. Nas sementes com linter, valores superiores foram encontrados nas amostras 4, 8 e 1, e inferiores para 6 e 3. Já nas sementes deslintadas, destacou-se a amostra 6 com 52,5% de incidência e a amostra 8 com a menor media (16,5%).

A presença do fungo *Penicillium sp.* nas sementes com línter foi bastante inferior a observada nas sementes sem línter, apresentando medias diferentes de zero as amostras 2 e 3 (4,5 e 1,5%), 4 (1,0%) e 8 (1,0%). Houve maior incidência nas sementes sem línter das amostras 2, 3, 4, 5 e 6, e menor incidência nas amostras 1, 7 e 8.

O fungo *Aspergillus sp.* foi o fungo que apresentou maior incidência dentre os observados, para sementes com e sem línter, chegando a medias de 60,0% (amostra 3, sem línter). As menores médias foram obtidas para sementes com línter das amostras 7, 6 e 4.

A presença de patógenos nas sementes implica menor qualidade sanitária das mesmas, podendo prejudicar o armazenamento e o desempenho das plantas a campo (GAMA et al.,

2012; PEDROSO et al., 2010; SILVA, 2009) Diante dos resultados constatados no teste de sanidade não foi possível relacionar a incidência de patógenos com a qualidade de sementes, não sendo a causa direta da redução da qualidade das sementes de baixo vigor, visto que também estavam presentes nas de alto vigor.

Tabela 5 – Médias dos resultados de incidência (%) de *C. gossypii, F. oxysporum, Penicillum sp.* e *Aspergillus sp.* em sementes de algodão para as amostras de 1 a 8, com e sem línter.

	C. gossypii %		F. oxysporum %		Penicillum sp. %		Aspergillus sp. %	
Amostras	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
	línter	línter	línter	línter	línter	línter	línter	línter
1	6	20	20	36	0	6	44	46
2	17	1	12	23	5	10	49	54
3	3	1	10	17	2	20	48	61
4	12	2	26	31	1	10	28	48
5	11	8	14	18	0	10	44	48
6	7	6	10	53	0	10	22	34
7	3	1	14	25	0	5	18	34
8	15	2	23	17	1	5	43	41

^{*}Os resultados são apenas médias dos tratamentos.

Fonte: Da autora (2018).

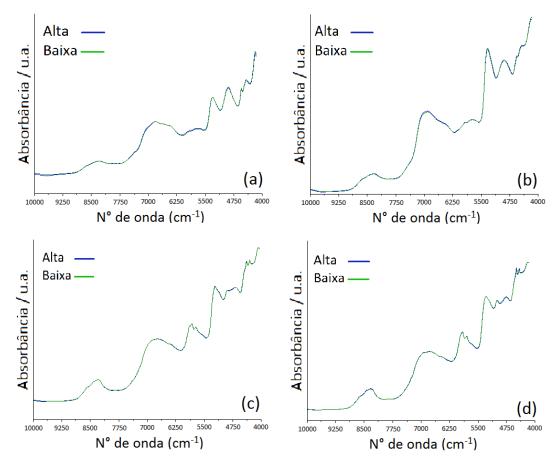
Com base nos resultados dos testes fisiológicos classificaram-se as amostras de sementes em alta e baixa qualidade:

Alta qualidade – Amostras 1, 4, 5, 6 e 7.

Baixa qualidade – Amostras 2, 3 e 8.

Nas figuras 1 e 2 estão apresentadas as médias dos espectros no infravermelho próximo para as amostras de baixa e alta qualidade fisiológica, com e sem línter, que puderam ser comparados com o auxílio da correção multiplicativa de sinais.

Figura 1 – Espectros na região do infravermelho próximo correspondentes aos diferentes modos de análise das sementes de algodão após média e aplicação da correção multiplicativa de sinais das amostras com e sem línter para as qualidades fisiológicas alta e baixa.



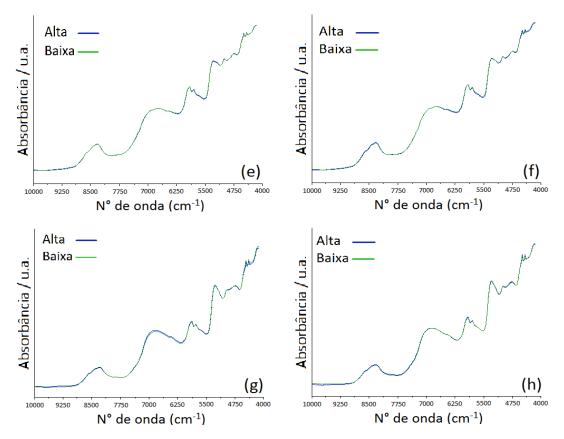
Legenda: a) Sementes inteiras com línter, (b) Sementes inteiras sem línter, (c) Sementes cortadas com línter, (d) Sementes cortadas sem línter.

O eixo x corresponde ao número de onda (cm⁻¹) e o eixo y à absorbância (u.a.⁻¹).

Fonte: Da autora (2018).

Nas figuras 1 e 2 pode-se observar que as diferenças entre as médias dos espectros, tanto para alta quanto para baixa qualidade fisiológica, foram sutis visualmente, porém capazes de serem detectadas pelos modelos. Pode-se perceber que as médias dos espectros foram semelhantes tanto para as amostras de sementes de algodão com e sem línter, de um mesmo tipo de preparo, quanto entre os tipos de preparo (sementes inteiras, cortadas, sem tegumento e maceradas).

Figura 2 – Espectros na região do infravermelho próximo correspondentes aos diferentes modos de análise das sementes de algodão após média e aplicação da correção multiplicativa de sinais das amostras com e sem línter para as qualidades fisiológicas alta e baixa.



Legenda: (e) Sementes de algodão sem tegumento com línter, (f) Sementes de algodão sem tegumento sem línter, (g) Sementes de algodão maceradas com línter, (h) Sementes de algodão maceradas sem línter.

O eixo x corresponde ao número de onda (cm⁻¹) e o eixo y à absorbância (u.a.⁻¹). Fonte: Da autora (2018).

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 qualidade" e "baixa qualidade" foram adicionadas como as variáveis dependentes (y) para a construção do modelo de calibração.

Tabela 6 – Porcentagem de acertos nas validações cruzada e externa e valores de sensibilidade e especificidade dos modelos otimizados para sementes de algodão inteiras, cortadas, sem tegumento e maceradas, com e sem línter, quanto a qualidade fisiológica alta e baixa por meio da técnica de espectroscopia infravermelho próximo com o auxílio da PLS-DA.

		Validação cruzada			Validação externa						
Tratamento	Classificação	Acerto (%)		Não	Acerto (%)		- Não	7			
		Alto vigor	Baixo vigor	classificadas(%)	Alto vigor	Baixo vigor	classificadas (%)	Sensibilidade	Especificidade		
Inteiras com línter	1, 4, 5, 6 e 7	86,9	10,7	2,4	69,6	25,6	4,8	0,73	0.71		
inteiras com linter	2, 3 e 8	26,7	71,1	2,2	25,3	74,7	0,0		0,71		
Inteiras sem línter	1, 4, 5, 6 e 7	95,7	3,5	0,8	92,0	8,0	0,0	0.83	0.01		
inteiras sem iinter	2, 3 e 8	5,3	94,2	0,4	15,3	82,4	2,4	0,83	0,91		
Cortadas com línter	1, 4, 5, 6 e 7	86,7	11,2	2,1	76,0	20,0	4,0	0,56	0.64		
Cortagas com linter	2, 3 e 8	20,0	76,4	3,6	54,7	42,7	2,7		0,64		
Cortadas sem línter	1, 4, 5, 6 e 7	86,1	10,7	3,2	85,6	10,4	4,0	0,71	0.83		
Cortadas sem linter	2, 3 e 8	20,9	75,6	3,6	27,6	65,8	6,6		0,71	0,71	0,71
Sem tegumento com	1, 4, 5, 6 e 7	80,8	12,0	7,2	49,6	38,4	12,0	0,58	0.50		
línter	2,3 e8	30,2	60,0	9,8	21,3	65,3	13,3		0,56		
Sem tegumento sem	1, 4, 5, 6 e 7	92,3	6,4	1,3	84,8	12,8	2,4	0.62	0.76		
línter	2,3 e8	13,3	80,4	6,2	44,0	49,3	6,7	0,63	0,76		
	1, 4, 5, 6 e 7	89,2	7,7	3,1	95,0	5,0	0,0	1,00	0.05		
Maceradas com línter	2, 3 e 8	10,3	84,6	5,1	0,0	100,0	0,0		1,00	0,95	
	1, 4, 5, 6 e 7	92,3	4,6	3,1	100,0	0,0	0,0	0,92		4.00	
Maceradas sem línter	2, 3 e 8	2,6	97,4	0,0	8,3	91,7	0,0		1,00		

Comparando os resultados de classificações corretas para os diferentes tipos de tratamentos das amostras de algodão apresentados na Tabela 6, encontram-se melhores resultados para as sementes maceradas com e sem línter, separando com uma percentagem elevada, ou em totalidade, tanto as amostras de sementes de alta quanto de baixa qualidade fisiológica. Esse tipo de amostra tem uma maior superfície de contato para a penetração da radiação, permitindo também que os feixes entrem em contato com compostos do tegumento, da região superficial da semente, da região interna e do embrião ao mesmo tempo, representando maior quantidade de fontes de discriminação para que sejam feitas melhores predições entre as diferentes qualidades de sementes. Esse tipo de amostra também homogeniza o material de análise, pois mesmo em lotes de boa qualidade, pode haver a ocorrência de sementes de qualidade inferior, influenciando no resultado.

Para os modelos obtidos para as sementes maceradas com línter (Tabela 6) foram obtidas percentagens de classificação chegando a 95% e 100% de acertos nas validações externas para alta e baixa qualidade, respectivamente. É importante observar os resultados da validação externa, pois indica a capacidade de predição do modelo para sementes que não participaram da construção do mesmo, indicando que este é robusto e capaz de avaliar diferentes amostras.

A partir dos modelos para as sementes maceradas das amostras de alta e baixa qualidade fisiológica sem línter, foi obtido para as amostras de alta qualidade 92,3% de acertos, 4,6% de erro e 3,1% de sementes não reconhecidas na validação cruzada, já para a validação externa houve 100% de acerto. Para as amostras de baixa qualidade houve 97,4% de acerto na validação cruzada e 91,7% na validação externa.

Na avaliação de desempenho dos modelos otimizados, temos os valores de sensibilidade e especificidade, em que quando se obtém 1,00 em ambos os valores para um modelo, esse é dito como modelo perfeito (FORINA et al., 1991). Para as sementes maceradas foram observados maiores valores dentre os modos de preparo avaliados, em que nas sementes com línter foram obtidos valores de 1,00 e 0,95 de sensibilidade e especificidade, respectivamente, e 0,92 e 1,00 para as sementes sem línter.

No tratamento que utilizou sementes inteiras para a modelagem também se observa grande percentagem de sementes classificadas corretamente (Tabela 6). Semelhante ao tratamento de sementes maceradas, a separação das amostras de sementes com línter obtiveram menores percentagens de acerto em comparação com os lotes de sementes sem línter, tanto para as amostras de alta e baixa qualidade. Essa diferença pode ter ocorrido por

ocasião do línter vir a influenciar no espalhamento dos feixes infravermelhos na amostra, agindo como uma fina barreira física para a penetração da radiação.

Nas sementes de algodão inteiras com línter, foi observada percentagem de acerto para sementes de alta qualidade de 86,9% e baixa qualidade de 71,1% na primeira validação. Na validação externa foram classificadas corretamente 69,6% das sementes realmente de alto vigor e 74,7% das sementes realmente de baixa qualidade.

Para as sementes de algodão inteiras sem línter obteve-se 95,7% de sementes de alta qualidade e 94,2% de baixa qualidade classificadas corretamente na validação cruzada. Na validação externa obteve-se 92% de acerto para as sementes de alta qualidade e 82,4% para as sementes de baixa qualidade.

Os valores de sensibilidade e especificidade obtidos nos modelos otimizados para as sementes de algodão inteiras foram mais discrepantes em relação aos valores das sementes de algodão maceradas, comparando-se os resultados das sementes com e sem línter. Para as sementes com línter obtiveram-se valores de 0,73 e 0,71, enquanto para as sementes sem línter obteve-se 0,83 e 0,91 para sensibilidade e especificidade respectivamente.

Utilizando a espectroscopia no infravermelho próximo aliado a quimiometria, Soares (2016) avaliou a eficiência de dois métodos de classificação, o SPA-LDA e o PLS-DA, para classificação de sementes de algodão de quatro cultivares de alta qualidade genética (sem línter), diferenciadas em rendimento de fibra, ciclo, porte, arquitetura e resistência a doenças. No trabalho, o autor utilizou obteve 96,91% de sementes classificadas corretamente na primeira validação e 88,66% na segunda validação, com resultados superiores aos encontrados para o outro método avaliado (Algoritmos das Projeções Sucessivas associado com o modelo de analise discriminante linear – SPA-LDA). Pode-se notar que a capacidade de acerto foi semelhante às duas validações entre os dois trabalhos, indicando potencial uso de sementes de algodão inteiras e sem línter para a classificação entre diferentes parâmetros pelo método PLS-DA aliada a espectroscopia NIR.

A partir das sementes de algodão cortadas foram obtidos modelos menos eficientes do que os observados anteriormente na classificação dos lotes de sementes de diferentes qualidades.

Os resultados relacionados a classificações corretas obtidas no tratamento de sementes de algodão cortadas de alta qualidade, com e sem línter, estiveram acima de 75%, porém para as sementes de baixa qualidade esses resultados não se equipararam. Guimarães (2016), trabalhando com sementes de café de diferentes qualidades também obteve boas predições

para sementes de alta qualidade, porém falhou na predição de sementes de média e baixa qualidade.

Observa-se a ocorrência de um modelo super ajustado para as sementes cortadas de baixo vigor com línter, pois apresentou bons resultados para as amostras pertencentes ao conjunto de calibração (76,4%), porem falhou na predição de amostras externas (42,7%).

Os valores de sensibilidade e especificidade obtidos nos modelos otimizados para as sementes de algodão cortadas também foram mais discrepantes em relação aos valores das sementes de algodão maceradas, comparando-se os resultados das sementes com e sem línter. Para as sementes de algodão cortadas com línter obtiveram-se valores de 0,56 e 0,64, enquanto para as sementes sem línter obteve-se 0,71 e 0,82 para sensibilidade e especificidade, respectivamente.

Os modelos gerados para as sementes de algodão sem tegumento não apresentaram grande percentagem de acertos e houve discordância entre as classificações das amostras de alta e baixa qualidade.

Para as sementes de algodão das amostras sem tegumento, com línter de alta qualidade foi gerado um modelo super ajustado, com 80,8% de sementes classificadas corretamente na validação cruzada e 49,6% de classificações corretas na validação externa. Já para as sementes de algodão, das amostras de baixa qualidade e com línter, obteve-se somente 60% de acertos na validação cruzada e 65,3% na validação externa.

O modelo para as sementes de algodão, das amostras sem tegumento e sem línter de alta qualidade, obteve 92,3% de sementes classificadas corretamente na validação cruzada e 84,8% na validação externa. Já para as sementes de baixa qualidade houve a ocorrência de outro modelo super ajustado, com 80,4% de acertos na validação cruzada e 49,3% na validação externa, resultados de pouco interesse para o objetivo deste trabalho.

Os valores de sensibilidade e especificidade obtidos nos modelos otimizados para as sementes de algodão sem tegumento foram os mais baixos obtidos dentre os diferentes modos de preparo, indicando menor desempenho dos modelos. Para as sementes de algodão sem tegumento e com línter, os valores de sensibilidade e especificidade foram de 0,58 e 0,56, enquanto para as sementes de algodão sem tegumento e sem línter foram 0,63 e 0,76, respectivamente.

5. CONCLUSÕES

Pela análise quimiométrica PLS-DA, aliada a espectroscopia no infravermelho próximo, é possível predizer a qualidade fisiológica, alta ou baixa, de sementes de algodão com bons resultados.

Os modelos otimizados para as sementes de algodão maceradas, com e sem línter,promovem percentagem de acertos e maiores valores de desempenho dentre os demais modelos.

Os métodos de preparo das amostras de sementes de algodão cortadas e sem tegumento apresentam modelos com menores percentagens de acerto e menores valores de desempenho dentre os avaliados.

A técnica de espectrometria no infravermelho próximo é promissora para a predição da qualidade fisiológica de sementes de algodão.

REFERÊNCIAS

ABDI, H. **Partial least square regression (PLS regression)**. Encyclopedia for research methods for the social sciences, v. 6, n. 4, p. 792-795, 2003.

ABRASEM - **Associação Brasileira de Sementes de Mudas**. www.abrasem.com.br/site/estatisticas/#. Acesso em 30 de outubro de 2017.

ALMEIDA, G. A. V., SILVA, L. M., MARCHÃO, R. L., WADT, P. G. S., DE SOUZA, A. M., DE OLIVEIRA, L. C. **Métodos Kjeldahl, elementar e o potencial da espectroscopia do infravermelho próximo para determinação de nitrogênio em solos da bacia do Acre**. Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota), v. 6, n. 4, p. 38-43, 2016.

ALMEIDA, W. R. D. R. D., SILVA, A. S., PAULA, F. R., SILVA, F. E. B. D., FORESTI, G. R., FERRÃO, M. F. **Desenvolvimento de modelos de regressão multivariada para a quantificação de benzoilmetronidazol na presença de seus produtos de degradação por espectroscopia no infravermelho próximo**. Orbital-The Electronic Journal of Chemistry, v. 7, n. 4, p. 341-347, 2015.

ALVES, C. Z., RODRIGUES, L. A., REGO, C. H. Q., DA SILVA, J. B. **Teste do pH do exsudato para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de crambe**. Ciência Rural, v. 46, n. 6, p. 1014-1018, 2016.

AMBROSE, A., LOHUMI, S., LEE, W. H., CHO, B. K. Comparative nondestructive measurement of corn seed viability using Fourier transform near-infrared (FT-NIR) and Raman spectroscopy. Sensors and Actuators B: Chemical, v. 224, p. 500-506, 2016.

AMORIM, H. V. Manual de métodos analíticos para o controle da produção de álcool e açúcar. 2. ed. Piracicaba: Esalq-USP, 1996.

AMORIM, S. R.; KLIER, H. A.; ANGELIS, L. H. Controle de qualidade na indústria farmacêutica: identificação de substâncias por espectroscopia no infravermelho. Rev. Bras. Farm. 94 (3): 234-242, 2013.

AOSA - ASSOCIATION OS OFFICIAL SEED ANALYSTIS. **Seed vigour testing handbook.** East Lansing: AOSA. 93p. (Contribuition, 32). 1983.

ARRUDA, M. H. M.; MENEGHELLO, G. E.; VIEIRA, J. F.; GADOTTI, G. I. **Qualidade fisiológica de lotes de sementes de soja com diferentes percentuais de sementes esverdeadas.** MAGISTRA, v. 28, n. 2, p. 194-200, 2017.

BARROCAS, E.N.; MACHADO, J. C.; ALVES, M C.; CORRÊA, C.L. **Desempenho de sementes de algodão submetidas à deficiência hídrica e presença de Colletotrichum gossypii var cephalosporioides**. Bioscience Journal, v.30, n.2, p. 421-428, 2014.

BAUNSGAARD, D.; ANDERSSON, C. A.; ARNDAL, A.; MUNCK, L. Multi-way chemometrics for mathematical separation of fluorescent colorants and colour

precursors from spectrofluorimetry of beet sugar and beet sugar thick juice as validated by HPLC analysis. Food chemistry, v. 70, n. 1, p. 113-121, 2000.

BAZONI, C. H.; IDA, E. I.; BARBIN, D. F.; KUROZAWA, L. E. 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.

BERJAK, P. Unifying perspectives of some mechanisms basic to desiccation tolerance across life forms. Seed Science Research, v.16, p.1-15, 2006.

BERRUETA, L. A.; ALONSO-SALCES, R. M.; HÉBERGER, K. Supervised pattern recognition in food analysis. Journal of chromatography A, v. 1158, n. 1-2, p. 196-214, 2007.

BEWLEY, J.D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2 ed. New York: Plenum Press, p.556, 1994.

BOTELHO, B. G.; REIS, N.; OLIVEIRA, L. S.; SENA, M. M. Development and analytical validation of a screening method for simultaneous detection of five adulterants in raw milk using mid-infrared spectroscopy and PLS-DA. Food chemistry v. 181, p. 31-37, 2015.

BRANDÃO JÚNIOR, D. S.; RIBEIRO, D.; BERNADINO FILHO, J. R.; VIEIRA, M. **Adequação do teste de condutividade elétrica para determinar a qualidade fisiológica de sementes de girassol**. Informativo Abrates, v. 7, n. 1/2, p. 184, 1997.

BRASIL, Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: DNDV/CLAV. 399 p. 2009.

BRASIL, Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. **Testes de sanidade: Incubação em substrato de papel ou método do papel de filtro "blotter test"**. Manual de análise sanitária de sementes. Brasília: Mapa/ACS, 2009. ISBN 978-85-99851-64-7. Pt 5, p. 33-34.

BRZEZINSKI, C. R.; ABATI, J.; ZUCARELI, C; HENNING, F. A.; HENNING, A. A.; COLOMBO, R. C.; KRZYZANOWSKI, F. C. Teste de condutividade elétrica para a determinação do vigor em sementes de soja tratadas e armazenadas. In: Embrapa Soja-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 7.; MERCOSOJA, 2015, Florianópolis. Tecnologia e mercado global: perspectivas para soja: anais. Londrina: Embrapa Soja, 2015.

CASTRO, C. E. C., RAMALHO, M. A. P., CAMARGOS, R. B. Consequências da contaminação na produção de sementes de híbridos duplos de milho. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v. 13, n. 3, p. 364-370, 2015.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5. ed. rev. e ampl. Jaboticabal: FUNEP. 588p. 2012.

- CIURCZAK, E. W., & IGNE, B. Pharmaceutical and medical applications of near-infrared spectroscopy. CRC Press, 2014.
- COCCO, D. L. **Desempenho fisiológico de sementes de algodão**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas. 2012.
- CONAB **Companhia Nacional de Abastecimento**. https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras. Acesso em 12 de Março de 2018.
- COPELAND, L. O.; MCDONALD, M. B. **Seed vigor and vigor testing**. In: Principles of Seed Science and Technology. Springer, Boston, MA. p. 165-191. 2001.
- COSTA, R. A. B. S.; SCHMIDT, L.; ESTEVES, R. S.; ALVES, C. L.; PAGNUSSATT, F. A. **Avaliação do Vigor em Sementes de Arroz por Condutividade Elétrica**. Blucher Biochemistry Proceedings, v. 1, n. 2, p. 95-98, 2015.
- CUI, H. F.; YE, Z. H.; XU, L.; FU, X. S.; FAN, C. W.; YU, X. P. Automatic and rapid discrimination of cotton genotypes by near infrared spectroscopy and chemometrics. Journal of analytical methods in chemistry, v. 2012.
- DOURADINHO, G. Z.; DE SOUZA, G. E.; DE OLIVEIRA, C. P.; BORTOLAZZO, G.; ZOZ, T.; STEINER, F. **Teste de lixiviação de potássio para avaliação rápida do vigor de sementes de trigo**. Revista de Agricultura Neotropical, v. 2, n. 3, p. 18-22, 2015.
- DUTRA, A. S.; MEDEIROS FILHO, S. Teste de deterioração controlada na determinação do vigor em sementes de algodão. Revista Brasileira de Sementes, v. 30, n. 1, p.19-23, 2008.
- ESTOPA, R. A.; MILAGRES, R. F.; GOMES, F. J. B.; AMARAL, C. A. S. Caracterização química da madeira de eucalyptus benthamii por meio de espectroscopia nir. O papel, v. 78, n. 2, p. 75-81, 2017.
- FANTINEL, V. S.; DE OLIVEIRA, L. M.; CASA, R. T.; DA ROCHA, E. C.; SCHNEIDER, P. F.; POZZAN, M.; LIESCH, P.P.; RIBEIRO, R.A. **Fungos associados às sementes de Acca sellowiana: efeitos na qualidade fisiológica das sementes e transmissão**. Agrarian, v. 10, n. 38, p. 328-335, 2017.
- FELIX, J. C.; VENDRAME, P. R. S.; MARCHÃO, R. L.; DE OLIVEIRA, J. F.; GUIMARÃES, M. F.; BROSSARD, M.; BRITO, O. R. **Predição de fósforo, carbono e nitrogênio em solos de basalto, por meio de espectroscopia NIR**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 51, n. 9, p. 1405-1416, 2016.
- FERREIRA, D. F. **Sisvar:** a computer statistical analysis system. Ciência e agrotecnologia, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- FERREIRA, M. M.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPE, P. L. **Quimiometria I**: calibração multivariada, um tutorial. Química Nova, v. 22, n. 5, p. 724-731, 1999.
- FORINA, M.; ARMANINO, C.; LEARD, R.; DRAVA, G. A class modeling technique based on potential functions. Journal of chemometrics, v. 5, p. 435-453, 1991.

- FRANCESCHINI, M. H. D.; DEMATTÊ, J. A. M.; SATO, M. V.; VICENTE, L. E; GREGO, C. R. **Abordagens semiquantitativa e quantitativa na avaliação da textura do solo por espectroscopia de reflectância bidirecional no VIS NIR SWIR**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 48, n. 12, p. 1569-1582, 2014.
- FRANCESQUETT, J. Z.; DOPKE, H. B.; COSTA, A. B. D.; KIPPER, L. M.; FERRÃO, M. F. **Determinação do poder calorífico de amostras de gasolina utilizando espectroscopia no infravermelho próximo e regressão multivariada**. Orbital-The Electronic Journal of Chemistry, v. 5, n. 2, p. 88-95, 2013.
- FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A. Qualidade fisiológica e sanitária de semente de soja. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 39p. (Circular Técnica, 9), 1984.
- FREITAS, R.A.; DIAS, D.C.F.S.; CECON, P.R.; REIS, M.S. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de algodão durante o armazenamento. Revista Brasileira de Sementes, vol. 22, n° 2, p.94-101, 2000.
- GAITÁN-JURADO, A. J.; GARCÍA-MOLINA, M.; PEÑA-RODRÍGUEZ, F.; ORTIZ-SOMOVILLA, V. **Near infrared applications in the quality control of seed cotton**. Journal of Near Infrared Spectroscopy, v. 16, n. 4, p. 421-429, 2008.
- GAMA, J.S.N.; BRUNO, R.L.A.; SILVA, K.R.G.; RÊGO, E.R.; PEREIRA FILHO,T.B., BARBOSA, R.C., BEZERRA, A.K.D. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de erva-doce (Foeniculum vulgare Mill.) armazenadas. Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.14, n.esp., p.175-182, 2012.
- GELADI, P.; GRAHN, H.; BURGER, J. **Multivariate images, hyperspectral imaging**: background and equipment. Techniques and applications of hyperspectral image analysis, p. 1-15, 2007.
- GOTARDO, M.; VIEIRA, R. D.; PEREIRA, L. M. A. Teste de condutividade elétrica em sementes de milho/eletrical conductivity test for maize seeds. Ceres, v. 48, n. 277, 2015.
- GRUNVALD, A. K., CARVALHO, C. G. P. D., LEITE, R. S., MANDARINO, J. M. G., ANDRADE, C. A. D. B., SCAPIM, C. A. **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.
- GRZYBOWSKI, C. R. S., VIEIRA, R. D., PANOBIANCO, M. **Testes de estresse na avaliação do vigor de sementes de milho**. Revista Ciência Agronômica, v. 46, n. 3, p. 590-596, 2015.
- GUIMARÃES, G. C. Espectroscopia no infravermelho próximo para classificação de sementes de café quanto à qualidade, origem e cultivar. Tese (doutorado) Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2016.
- HAMPTON, J. G.; TEKRONY, D. M. **Handbook of vigour test methods**. The International Seed Testing Association, Zurich (Switzerland), 1995.

- HÖFS, A., SCHUCH, L. O. B., PESKE, S. T., BARROS, A. C. S. A. Efeito da qualidade fisiológica das sementes e da densidade de semeadura sobre o rendimento de grãos e qualidade industrial em arroz. Revista Brasileira de Sementes, vol. 26, nº 2, p.54-62, 2004.
- HUANG, Z., SHA, S., RONG, Z., CHEN, J., HE, Q., KHAN, D. M., ZHU, S. Feasibility study of near infrared spectroscopy with variable selection for non-destructive determination of quality parameters in shell-intact cottonseed. Industrial crops and products, v. 43, p. 654-660, 2013.
- IAL INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3. ed. São Paulo. v.1, 533 p. 1985.

IMEA – Instituto Mato-Grossense de economia agropecuária.

http://www.imea.com.br/imea-site/relatorios-mercado-detalhe?c=1&s=3. Acesso 30 de Outubro de 2017.

- ISHIKAWA, H., BOUKAR, O., FATOKUN, C., SHONO, M., MURANAKA, S. **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.
- JIA, S., AN, D., LIU, Z., GU, J., LI, S., ZHANG, ZHU, D., GUO, T., YAN, Y. Variety identification method of coated maize seeds based on near-infrared spectroscopy and chemometrics. Journal of Cereal Science, v. 63, p. 21-26, 2015.
- KUMAR, N.; BANSAL, A.; SARMA, G. S.; RAWAL, R. K. Chemometrics tools used in analytical chemistry: An overview. Talanta, v. 123, p. 186-199, 2014.
- LUIZ, L. C.; BELL, M. J. V.; ROCHA, R. A.; MENDES, T. O.; ANJOS, V. C. AN 07. **Método espectroscópico no Infravermelho Próximo e Análise de Componentes Principais na detecção de antibióticos no leite**. Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciencies, v. 36, n. 1, 2015.
- MACHADO, J.C. **Patologia de sementes**: fundamentos e aplicações. Lavras: ESAL/FAEPE, 107p.1988.
- MAGUIRE, J. D. **Speed of germination**—aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop science, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.
- MARASSI, A. G. Aplicação da imagem por Ressonância magnética para avaliação de injurias mecânicas e tecidos deteriorados em sementes. 129 p. Dissertação (mestrado em ciências) Instituto de física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.
- MARCOS FILHO, J., CÍCERO, S. M., SILVA, W. D. **Avaliação da qualidade das sementes**. Piracicaba: Fealq, 1987.
- MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2. ed., Londrina: ABRATES, 660p. 2015.

MARINCEK, A. Qualidade de sementes de milho produzidas sob diferentes sistemas de manejo no campo e em pós-colheita. 105f. Dissertação. (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2000.

MARQUETTI, I., LINK, J. V., LEMES, A. L. G., SCHOLZ, M. B. D. S., VALDERRAMA, P., BONA, E. **Arabica coffee classification using near infrared spectroscopy and two-stage models**. IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil 24 a 26 de junho de 2015, Curitiba – PR.

MARTENS, H.; GELADI, P. Multivariate calibration. John Wiley & Sons, Inc., 1989.

MASULLO, L. S.; PIÑA-RODRIGUES, F. C.; FIGLIOLIA, M. B.; AMÉRICO, C. **Otimização do teste de tetrazólio para avaliação da qualidade de sementes florestais**. Journal of Seed Science, v. 39, n. 2, 2017.

MATTIONI, F.; ALBUQUERQUE, M.C.F.; GUIMARÃES, S.C. Vigor de sementes e desempenho agronômico de plantas de algodão. Revista Brasileira de Sementes v. 34, n. 1, p. 108-116, 2012.

MONFERRERE, G. L.; AZCARATE, S. M.; CANTARELLI, M. Á.; FUNES, I. G.; CAMIÑA, J. M. **Chemometric characterization of sunflower seeds**. Journal of food science, v. 77, n. 9, 2012.

NASCIMENTO, C. C.; BRASIL, M. M.; DO NASCIMENTO, C. S.; DOS SANTOS BARROS, S. V. **Estimativa da densidade básica da madeira de Eschweilera odora** (**Poepp.**) **Miers por espectroscopia no infravermelho próximo**. Revista Ciência da Madeira (Brazilian Journal of Wood Science), v. 8, n. 1, 2017.

NISGOSKI, S.; KLOCK, U.; BATISTA, F. R. R.; SCHARDOSIN, F. Z.; CONSALTER, R.; MOTTA, A. C. V. **Uso do NIR na discriminação de árvores em diferentes adubações com base nos espectros da madeira e da casca**. Revista Ciência da Madeira (Brazilian Journal of Wood Science), v. 7, n. 2, 2015.

NOGUEIRA FILHO, F. P.; OLIVEIRA, A. B.; SOUSA PEREIRA, M.; QUEIROZ LOPES, M. D. F.; DA SILVA, R. T. **Efetividade do teste de raios x para avaliação da qualidade fisiológica de sementes de gergelim em função da posição dos frutos na planta**. Revista Brasileira de Ciências Agrárias (Agrária), v. 12, n. 4, p. 435-440, 2017.

NORONHA, B. G., MEDEIROS, A. D., PEREIRA, M. D. **Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de Moringa oleifera Lam**. Ciência Florestal, v. 28, n. 1, p. 393-402, 2018.

NUNES, C. A.; FREITAS, M. P.; PINHEIRO, A. C. M.; BASTOS, S. C. **Chemoface**: a novel free user-friendly interface for chemometrics. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 23, n. 11, p. 2003-2010, 2012.

NUNES, R. T. C.; PRADO, T. R.; RIBEIRO, E. B.; VALE, W. S.; MORAIS, O. M. **Desempenho fisiológico de sementes de algodão cultivadas em Luís Eduardo Magalhães,**

Bahia. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, v. 10, n. 4, p. 69-74, 2015.

OLIVEIRA, A. A., SIQUEIRA, P. H., NISGOSKI, S., MUNIZ, G. B. D., FERREIRA, J. H. Identificação de Madeiras utilizando a Espectrometria no Infravermelho Próximo e Redes Neurais Artificiais. TEMA (São Carlos), v. 16, n. 2, p. 81-95, 2015.

PANDE, R.; MISHRA, H. N. Fourier transform near-infrared spectroscopy for rapid and simple determination of phytic acid content in green gram seeds (Vigna radiata). Food chemistry, v. 172, p. 880-884, 2015.

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

PEDROSO, D.C., MENEZES, V. O., MUNIZ, M. F. B., PIVETA, G., TUNES, L. M., MULLER, J., MENEZES, N. L. **Métodos de inoculação de Alternaria alternata e A. dauci em sementes de salsa e sua influência na qualidade fisiológica**. Revista Brasileira de Sementes, v.32, n.3, p.79-85, 2010.

PESKE, S. T., BARROS, A. C. S. A., SCHUCH, L. O. B. **Sementes**: fundamentos científicos e tecnológicos. 3ª edição. Pelotas: Ed. Universitária, 13-100. 2012.

POPIGINIS, F. Fisiologia de sementes. Brasília: AGIPLAN. 289 p. 1985.

QUEIROGA, V.P.; CASTRO, L.B.Q.; GOMES, J.P.; SILVA, A.N.; ALVES, N.M.C.; ARAUJO, D.R. **Qualidade fisiológica de sementes de algodão armazenadas em função de diferentes tratamentos e cultivares**. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.11, n.1, p.43-54, 2009.

RADKE, A. K.; SOARES, V. N.; DA MOTTA XAVIER, F.; ROCHA, P. E. E.; MARTINS, A. B. N.; VILLELA, F. A. **Avaliação do potencial fisiológico de sementes de melancia pelo teste de envelhecimento acelerado**. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, v. 12, n. 4, p. 634-640, 2017.

REIS VENTUROSO, L., BACCHI, L. M. A., GAVASSONI, W. L., VENTUROSO, L. A. C., PONTIM, B. C. A., DOS REIS, G. F. Inoculação de Sclerotinia sclerotiorum em sementes de oleaginosas: transmissão e seus efeitos sobre a emergência de plantas. Ciência Rural, v. 45, n. 5, p. 788-793, 2015.

RINGSTED, T., DUPONT, S., RAMSAY, J., JESPERSEN, B. M., SØRENSEN, K. M., KEIDING, S. R., ENGELSEN, S. B. Near-infrared spectroscopy using a supercontinuum laser: application to long wavelength transmission spectra of barley endosperm and oil. Applied spectroscopy, v. 70, n. 7, p. 1176-1185, 2016.

RIZZI, M., FURTADO, J. C., COSTA, A. B. D., GERBASE, A. E., FERRÃO, M. F. **Método** do enxame de partículas para otimização de modelos de regressão multivariada empregados na determinação de biodiesel em blendas biodiesel/óleo vegetal/diesel. Revista Virtual de Química. Niterói, RJ. Vol. 8, n. 6, p. 1877-1892, 2016.

- ROSSATO, R., PRETE, C. E. C., CASTRO, C. D., TOMM, G. O., LEITE, R. S., MANDARINO, J. M. G., CARVALHO, C. G. P. D. **Predicting rapeseed oil content with near-infrared spectroscopy**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 48, n. 12, p. 1601-1605, 2013.
- ROSSI, R. F.; CAVARIANI, C.; FRANÇA-NETO, J. B. **Vigor de sementes, população de plantas e desempenho agronômico de soja**/ Seed vigor, plant population and agronomic performance of soybean. Rev. Cienc. Agrar., v. 60, n. 3, p. 215-222, jul./set. 2017.
- RUSCHEL, C. F. C., HUANG, C. T., SAMIOS, D., FERRÃO, M. F. Análise exploratória aplicada a espectros de reflexão total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR) de blendas de biodiesel/diesel. Química nova. São Paulo. Vol. 37, n. 5, p. 810-815, 2014.
- SALA, O. **Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho**. São Paulo: Editora da UNESP, 1996.
- SANTOS, F., FÉLIX, F. C., DOS SANTOS FERRARI, C., BRUNO, R. D. L. A., PACHECO, M. V. Adequação do teste de envelhecimento acelerado para avaliação do vigor de sementes de leucena. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v. 12, n. 1, p. 92-97, 2017.
- SANTOS, J., MÜHL, F. R., MOREIRA, A., RITTER, A. F. S., FELDMANN, N. A., RHODEN, A., BALBINOT, M. Avaliação da qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja produzidas no município de Frederico Westphalen/RS. Revista de Ciências Agroveterinárias e Alimentos, n. 1, 2016.
- SANTOS, M. B. H., GOMES, A. A., VILAR, W. T. S., ALMEIDA, P. B. A., MILANI, M., NÓBREGA, M. B. M., MEDEIROS, E. P., GALVÃO, R. K. H., ARAÚJO, M. C. U. Non-Destructive NIR Spectrometric Cultivar Discrimination of Castor Seeds Resulting from Breeding Programs. J. Braz. Chem. Soc., Vol. 25, No. 5, 969-974, 2014
- SANTOS, M. R., REIS, M. S., SEDIYAMA, T., SEDIYAMA, C. S., DIAS, L. A. D. S., ARAÚJO, E. F. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja submetidas a diferentes épocas de colheita e correlações com a emergência de plântulas no campo/physiological and sanitary qualities of soybean seeds collected at different times and correlations with. Ceres, v. 52, n. 302, 2015.
- SHRESTHA, S., KNAPIČ, M., ŽIBRAT, U., DELEURAN, L. C., GISLUM, R. Single seed near-infrared hyperspectral imaging in determining tomato (Solanum lycopersicum L.) seed quality in association with multivariate data analysis. Sensors and Actuators B: Chemical, v. 237, p. 1027-1034, 2016.
- SHETTY, N., OLESEN, M. H., GISLUM, R., DELEURAN, L. C., BOELT, B. Use of partial least squares discriminant analysis on visible-near infrared multispectral image data to examine germination ability and germ length in spinach seeds. Journal of Chemometrics, v. 26, n. 8-9, p. 462-466, 2012.

- SILVA, A. A. **Tratamento químico e armazenamento de sementes de algodão**. 111 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. 2009.
- SILVA, C. B.; BARBOSA, R. M.; VIEIRA, R. D. Envelhecimento acelerado como teste de vigor para sementes de crotalária. Ciência Rural, v. 47, n. 1, p. 1-6, 2017.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Principles of instrumental analysis**. Cengage learning, 2017.
- SOARES, S. F. C.; GOMES, A. A.; ARAUJO, M. C. U.; GALVAO FILHO, A. R.; GALVÃO, R. K. H. **The successive projections algorithm**. TrAC Trends in Analytical Chemistry, v. 42, p. 84-98, 2013.
- SOARES, S. F. C.; MEDEIROS, E. P.; PASQUINI, C.; DE LELIS MORELLO, C.; GALVÃO, R. K. H.; ARAÚJO, M. C. U. Classification of individual cotton seeds with respect to variety using near-infrared hyperspectral imaging. Analytical Methods, v. 8, n. 48, p. 8498-8505, 2016.
- SOTELO, F.F. Aplicação da espectroscopia de Infravermelho Próximo na caracterização de petróleo: Simulação de uma unidade de destilação atmosférica. 77 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) Universidade de São Paulo, São Paulo. 2006.
- SOUZA, G. E.; STEINER, F.; ZOZ, T.; OLIVEIRA, S. S. C.; CRUZ, S. J. S. Comparação entre métodos para a avaliação do vigor de sementes de algodão. Revista de Agricultura Neotropical, Cassilândia-MS, v. 1, n. 2, p. 35-41, out./dez. 2014.
- STALLBAUN, P. H.; SOUZA, P. A.; MARTINS, R. C. C.; MATOS, J. M. M.; MOURA, T. M. Testes rápidos de vigor para avaliação da viabilidade de sementes de Anadenanthera falcata. Enciclopédia Biosfera, v. 11, n. 21, p. 1834-1842, 2015.
- STEINER, F.; OLIVEIRA, S. S. C.; MARTINS, C. C.; CRUZ, S. J. S. Comparação entre métodos para a avaliação do vigor de lotes de sementes de triticale. Ciência Rural, Santa Maria-RS, v. 41, n. 2, p. 200-204, 2011.
- SZYMANSKA, E.; SACCENTI, E.; SMILDE, A. K.; WESTERHUIS, J. A. **Double-check:** validation of diagnostic statistics for PLS-DA models in metabolomics studies. Springer US, 2011.
- TAIZ, L. ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. Porto Alegre: Artmed, 791p, 2004.
- VARMUZA, K.; FILZMOSER, P. Introduction to multivariate statistical analysis in chemometrics. CRC press, 2016.
- VIEIRA, L. S.; DE SOUZA, V. Q.; BALBUENA, H. F. F.; XAVIER, V. T.; DE PELEGRIN, A. J.; MARTINS, G. B. **Testes de germinação na avaliação da qualidade fisiológica de sementes de aveia preta**. Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, v. 8, n. 2, 2017.

VIEIRA, M. G. G. C.; VON PINHO, E. V. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de algodão**. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA- NETO, J. B. (Eds.). Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES. Cap. 8, p.8.1-8.13. 1999.

VIEIRA, R. D.; CARVALHO, N. M. de. Teste de vigor em sementes. FUNEP. 164 p. 1994.

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. **Teste de condutividade elétrica**. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. (Ed.) Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES. p.4.1–4.26. 1999.

ZORZAL, T. A.; FANTINATO, D. E.; CAMPOS, L. M.; DA LUZ, A. C. C.; CORTE, V. B. **Teste do tetrazólio para estimativa da viabilidade de sementes**. Natureza on line 13 (3): 144-149, 2015.