UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Ilha Solteira

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE ENGENHARIA
CÂMPUS DE ILHA SOLTEIRA

IZABELA CRISTINA DE OLIVEIRA

NOVAS FERRAMENTAS PARA AVALIAR A QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA

Ilha Solteira
2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Ilha Solteira

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

IZABELA CRISTINA DE OLIVEIRA

NOVAS FERRAMENTAS PARA AVALIAR A QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira – Unesp como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.ª Especialidade: Genética, Melhoramento Vegetal e propagação de plantas.

Prof. Dr. Paulo Eduardo Teodoro
Orientador

Profa. Dra. Charline Zaratin Alves
Coorientadora

Ilha Solteira
2023

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvido pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

Oliveira, Izabela Cristina de.
O48n Novas ferramentas para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de soja / Izabela Cristina de Oliveira. -- Ilha Solteira: [s.n.], 2023
83 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira. Área de conhecimento: Sistemas de Produção, 2023

Orientador: Paulo Eduardo Teodoro
Co-orientador: Charline Zaratin Alves
Inclui bibliografia

1. Posição do legume. 2. Germinação. 3. Flavonóides. 4. Inteligência computacional. 5. Sensor hiperespectral. 6. Comprimento de onda.

Amanda Sertori dos Santos
Bibliotecária - CRB/8-9061
Seção Técnica de Referência, Atendimento ao Usuário e Documentação
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Ilha Solteira

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Novas ferramentas para avaliar a qualidade fisiológica de sementes de soja

AUTORA: IZABELA CRISTINA DE OLIVEIRA
ORIENTADOR: PAULO EDUARDO TEODORO
COORIENTADORA: CHARLINE ZARATIN ALVES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Agronomia, área: Sistemas de Produção pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. PAULO EDUARDO TEODORO (Participaçao Virtual)
Experimentacao e Melhoramento de Plantas / Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

Prof. Dr. CARLOS ANTONIO DA SILVA JUNIOR (Participaçao Virtual)
Departamento de Geografia / Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT

Prof. Dr. ALAN MARIO ZUFFO (Participaçao Virtual)
Departamento de Fitotecnia / Universidade Estadual do Maranhão - UEMA

Prof. Dr. FABIO HENRIQUE ROJO BAIO (Participaçao Virtual)
Departamento de Agronomia / Universidade Federal de Mato Grosso do Sul- UFMS

Prof. Dr. JORGE GONZÁLEZ AGUILERA (Participaçao Virtual)
Departamento de Agronomia / Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul - UEMS

Ilha Solteira, 13 de outubro de 2023

gov.br Documento assinado digitalmente
PAULO EDUARDO TEODORO
Data: 13/10/2023 17:22:34-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

DEDICATÓRIA

À Deus e a mim.

Eu constantemente luto contra vozes que me dizem não ser capaz e Deus sempre me lembra quem eu realmente sou. Dei a Ele meus fracassos e às vitórias darei a Ele também.

Poderia dedicar esse trabalho à várias pessoas, mas no fim das contas, a possibilidade de realizar esse sonho, foi a verdadeira razão por acreditar, continuar e não desistir, mesmo quando tudo que eu queria era chorar e ser invisível.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela responsabilidade de criar um plano perfeito de vida, onde tudo acontece segundo a Sua vontade, mesmo quando tive medo, me senti minúscula ou pensei em desistir. Tudo acontece para a glória de Deus.

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Eduardo Teodoro, por me acolher e orientar quando meu sonho de ser doutora iria acabar. Por todos os preciosos conselhos, idéias, apoio, cobranças em ser melhor e pensamentos "fora da caixa". Antes eu o admirava como professor e pesquisador, hoje admiro, se possível, ainda mais. Quando estava no 4º ano lembro de um professor que era muito similar a meu orientador, sempre criativo, esforçado e exigente, mas que, apesar das altas exigências, nunca deixou de dar todo suporte necessário para o alcance dos resultados. Ambos me ofereceram as asas e ensinaram a voar. Hoje, mas do que nunca, entendo como a influência de bons professores não pode ser apagada. Espero um dia ser como meu orientador, ensinando com dedicação, despertando a paixão pela ciência nos alunos e fazendo assuntos chatos e difíceis, se tornarem fáceis e curiosos.

À minha co-orientadora profa. Dra. Charline Zaratin Alves, por todo suporte e incentivo. Não estaria aqui defendendo esse doutorado se, em meados de 2015, não tivesse me acolhido no Laboratório de Produção e Tecnologia de Sementes e acreditado que eu tinha potencial, mesmo quando nem eu mesma acreditava. Todos esses anos fui agraciada com sua orientação e amizade, e sempre vou lembrar da sua benevolência comigo.

Às professoras Dra. Ana Carina da Silva Cândido Seron e Dra. Larissa Pereira Ribeiro Teodoro, por todas as palavras de incentivo, apoio e amizade. Minha admiração por vocês ultrapassa qualquer palavra que eu possa usar nesse texto, porque vocês me inspiram muito além do âmbito acadêmico e me ensinam sempre sobre gentileza, resiliência e dedicação.

Às minhas irmãs, Ana Paula de Oliveira e Gabriela Fabrícia de Oliveira, meus pais Joziel Francisco de Oliveira e Elaine Cristina de Oliveira, e minha avó Anita Jardim de Oliveira, por lidarem com a saudade muito melhor que eu, sendo pilares de rocha inabaláveis em cada ligação de desespero. Ana, você pode crescer o quanto quiser, sempre vai ser o meu bebê que cresceu e se tornou uma mulher incrível, que eu morro de orgulho ao falar e uma das pessoas mais importantes da minha vida. Gabi, não importa onde esteja, eu sempre vou lembrar da irmã incrível e inteligente que tenho. Pai, mesmo que não fale o quanto deveria, você sempre vai ser meu refúgio, pra quem eu corro quando me sinto insegura ou sozinha, meu amigo e meu herói. Mãe, apesar de tudo, sempre vou amá-la. E vó Anita, você sempre vai ser meu exemplo de

ternura, amor e carinho, não sei se teria chegado até aqui sem suas palavras de confiança e coragem, e suas orações. Deus foi bom comigo quando me deu vocês.

Às minhas melhores amigas Silvia Elena Navarrete Thomé, Dthenifer Cordeiro Santana e Larissa Cardoso Dalbosco, vocês foram os melhores presentes que recebi durante a pós-graduação. Lembro de quando orei à Deus pedindo por boas amizades e Ele me deu vocês. Silva Elena por mesmo de longe me apoiar e me lembrar os por quês, não me deixando duvidar que era capaz e sempre oferecer colo e abrigo – você sempre vai ser a minha pessoa. DT por me ensinar muito mais do que amizade, mas como ser cientista, como lidar com os problemas e como ser verdadeiramente amada – você se tornou muito mais que amiga e eu não me imagino fazendo ciência sem você. E Lala, por todas as vezes que me obrigou a sair do computador e fazer coisas não relacionadas a pesquisa, por todo carinho, afeto e consideração – eu sempre vou amar você e tentar te colocar em um potinho.

Aos meus amigos João Lucas Gouveia de Oliveira, Gustavo Casadei e Juliano Cardoso, por todos os momentos dentro e fora da Universidade. João, mesmo me tirando do sério em 99% das vezes, nunca vou encontrar um amigo como você, sempre leal, preocupado e pronto pra ajudar. Gustavo, você sempre vai ser lembrado pelos abraços de conforto, apoio e carinho, mesmo quando eu não merecia. E Juliano, por todas as vezes que deixou seus problemas de lado, se sentou, me escutou chorar e ficou ao meu lado.

Aos meus amigos do Grupo de Pesquisa em Melhoramento de Plantas (GEMP), especialmente Elber Vinicius Martins Silva, Felipe Carrijo de Araújo, Guilherme Alves Bertasso, Gustavo Casalinio Amorim da Silva, Luis Gustavo Martins Santos, Murilo Fortes de Melo, Paulo Ademir Dutra Rodrigues Júnior, Paulo Henrique Menezes das Chagas e Yann Victor Muniz de Araújo Portugal, por se tornarem mais que colegas de pesquisa, amigos que eu nunca pensei ser possível conseguir.

À Areni Cordeiro Batista Santana, Sebastião Luis Santana e Hélio Dalbosco, por me fazerem sentir importante, me acolhendo como membro da família de vocês. Em muitos momentos eu me senti sozinha e vocês, com muito amor, me lembraram que pra ser família, não é necessário haver laço sanguíneo. Eu os amo do fundo do coração. E a Leonardo Cardoso Dalbosco, por mesmo não estando mais em minha vida, me apoiou, incentivou e encorajou a ir atrás dos meus sonhos.

Aos professores Carlos Antônio da Silva Júnior, Fabio Henrique Rojo Baio, Alan Mario Zuffo e Jorge Gonzalez Aguilera, profissionais que respeito e admiro, por aceitarem participar da minha banca de defesa de doutorado e contribuir com ideias e melhorias valiosas para este trabalho.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” pela oportunidade de fazer parte do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGA/UNESP/FEIS), me pertindo conhecer professores incríveis e contribuindo para minha formação acadêmica. À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS/CPCS), pelo apoio a realização da pesquisa e incentivo a ciência. E por fim, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, pela conceção de bolsa de estudo e apoio financeiro.

Era uma semente pequena e sem graça, não
tinha absolutamente nada para ajudar.
Mesmo assim, mobilizou todas as suas
forças, tudo o que tinha, e germinou.
Não tinha nada e gerou algo único.
Isso não é só sobre sementes.

RESUMO

As sementes são as responsáveis por levar ao campo características herdadas de seus progenitores e iniciar o processo produtivo. Dentre os principais atributos necessários para a obtenção de sementes de qualidade se encontra o potencial fisiológico, determinado através do vigor, que apresenta a capacidade da semente germinar de forma rápida e uniforme quando em condições desfavoráveis. O estudo da qualidade de sementes ocorre através de testes tradicionais que são onerosos, demorados e subjetivos. Esse trabalho busca evidenciar os motivos pelos quais sementes de mesmo lote apresentam divergências no vigor de suas sementes, além de apresentar técnicas que podem ser utilizadas para avaliar de forma mais rápida a qualidade fisiológica de sementes. No capítulo 1 foi realizada a marcação dos legumes em diferentes estádios reprodutivos, visando encontrar diferenças no vigor das sementes em relação a posição que o legume ocupa na planta de soja. No capítulo 2 foi utilizado um sensor hiperespectral para coletar a reflectância das sementes e algoritmos de aprendizagem de máquina para classificar genótipos de soja de acordo com a qualidade fisiológica de sementes que apresentavam. O capítulo 3 foi realizado análise de cromatografia líquida para diferenciar genótipos em relação a quantidade e qualidade de flavonóides que apresentavam e sua contribuição para a qualidade fisiológica de sementes. Os experimentos foram conduzidos na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, campus Chapadão do Sul durante as safras agrícolas 2021/22 e 2022/23. As marcações da posição do legume foram realizadas durante os estádios reprodutivos R4, R5, R6 e R7. Ao fim do ciclo produtivo, realizou-se as avaliações espectrais, de qualidade de sementes e cromatografia líquida. Os dados foram submetidos a análise de variância e estatística multivariada, com exceção do capítulo 2, que também foi submetido a algoritmos de aprendizagem de máquina. A posição do legume na planta de soja influencia a qualidade fisiológicas das sementes de soja. Os comprimentos de onda entre 541 e 650 nm podem ser utilizados na distinção de sementes com qualidade fisiológica superior e inferior, respectivamente, utilizando o algoritmo Random Forest. Por fim, a utilização de cromatografia líquida é possível diferenciar genótipos em relação a concentração de flavonóides em sementes de soja, mesmo não contribuindo para a qualidade fisiológica.

Palavras-chave: posição do legume; germinação; flavonóides; inteligência computacional; sensor hiperespectral; comprimento de onda.

ABSTRACT

Seeds are responsible for bringing characteristics inherited from their progenitors to the field and starting the production process. Among the main attributes necessary to obtain quality seeds is physiological potential, determined through vigor, which presents the seed's ability to germinate quickly and uniformly when in unfavorable conditions. The study of seed quality occurs through traditional tests that are expensive, time-consuming and subjective. This work seeks to highlight the reasons why seeds from the same batch present divergences in seed vigor, in addition to presenting techniques that can be used to more quickly assess the physiological quality of seeds. In chapter 1, seeds were marked at different reproductive stages, aiming to find differences in vigor in relation to the position that the pod occupies on the soybean plant. In chapter 2, a hyperspectral sensor was used to collect the reflectance of the seeds and machine learning algorithms were used to classify soybean genotypes according to the physiological quality of the seeds they presented. In chapter 3, liquid chromatography analysis was carried out to differentiate genotypes in relation to the quantity and quality of flavonoids they presented and their contribution to the physiological quality of seeds. The experiments were conducted at the Federal University of Mato Grosso do Sul, Chapadão do Sul campus during the 2021/22 and 2022/23 agricultural harvests. Pod position markings were performed during reproductive stages R4, R5, R6 and R7. At the end of the production cycle, spectral, seed quality and liquid chromatography assessments were carried out. The data was subjected to analysis of variance and multivariate statistics, with the exception of chapter 2, which was also subjected to machine learning algorithms. The position of the pod on the soybean plant influences the physiological quality of the soybean seeds. Wavelengths between 541 and 650 can be used to distinguish seeds with higher and lower physiological quality, using the Random Forest algorithm. Finally, the use of liquid chromatography makes it possible to differentiate genotypes in relation to the concentration of flavonoids in soybean seeds, even though it does not contribute to physiological quality.

Keywords: pod position; germination; flavonoids; computational intelligence; hyperspectral sensor; wave-length.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 15
2.1 QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA 15
2.2 TESTES DE VIGOR DE SEMENTES 16
2.3 NOVAS TECNOLOGIAS DE ANÁLISE DE SEMENTES 17
2.3.1 Sensores hiperespectrais 17
2.3.2 Cromatografia líquida na análise de flavonóides 18
REFERÊNCIAS 19
CAPÍTULO 1 - A POSIÇÃO DO LEGUME NA PLANTA DE SOJA INFLUENCIA O VIGOR DAS SEMENTES 23
1 INTRODUÇÃO 23
2 MATERIAL E MÉTODOS 25
2.1 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO 25
2.2 MARCAÇÃO DOS LEGUMES NA PLANTA DE SOJA 27
2.3 COLHEITA E SEPARAÇÃO DAS SEMENTES 28
2.4 ANÁLISE DE SEMENTES 28
2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA 29
3 RESULTADOS 29
4 DISCUSSÃO 38
5 CONCLUSÃO 41
REFERÊNCIAS 42
CAPÍTULO 2 – CLASSIFICAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA USANDO SENSOR HIPERESPECTRAL E APRENDIZAGEM DE MÁQUINA 45
1 INTRODUÇÃO 46
2 MATERIAL E MÉTODOS 47
2.1 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO A CAMPO 47
2.2 VARIÁVEIS ESPECTRAIS AVALIADAS NAS SEMENTES DE SOJA 48
2.3 ANÁLISE DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DAS SEMENTES DE SOJA 50
2.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS E MODELOS DE APRENDIZAGEM DE MÁQUINA 51
3 RESULTADOS 53
3.1 FORMAÇÃO DOS GRUPOS E RELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS 53
3.2 COMPORTAMENTO ESPECTRAL DOS GRUPOS 55

3.3 MODELOS DE APRENDIZAGEM DE MÁQUINA PARA CLASSIFICAÇÃO DOS GRUPOS 57
4 DISCUSSÃO 61
5 CONCLUSÃO 65
REFERÊNCIAS 65
CAPÍTULO 3 - FLAVONÓIDES E SUA RELAÇÃO COM A QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE SOJA 69
1 INTRODUÇÃO 70
2 MATERIAL E MÉTODOS 71
2.1 OBTENÇÃO DAS SEMENTES 71
2.2 ANÁLISE DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES 72
2.3 ANÁLISE DE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA PARA OBTENÇÃO DE FLAVONÓIDES 73
2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA 74
3 RESULTADOS 75
4 DISCUSSÃO 78
5 CONCLUSÃO 81
REFERÊNCIAS 81

1 INTRODUÇÃO

As sementes são o veículo de propagação e perpetuação das espécies vegetais, sendo necessário apresentar uma série de exigências que comprovem sua qualidade, como altas porcentagens de germinação e vigor (PELISSARI; COIMBRA, 2023). Sementes de qualidade fisiológica levam ao campo características genéticas determinantes para o sucesso do cultivo (MARCOS-FILHO, 2015).

A determinação da qualidade das sementes ocorre por meio de testes que avaliam sua capacidade de germinar rápida e uniformemente, além da rapidez com que emite a raiz primária quando em condições desfavoráveis (MANGENA, 2021). O teor de umidade, a porcentagem de germinação e o crescimento da parte aérea e raiz são alguns componentes que influenciam o vigor das sementes (MENEGUZZO et al., 2021).

O vigor é o principal indicador da qualidade das sementes, garantindo o rendimento estável e uniforme do lote, além do potencial de emergir rapidamente (HAO et al., 2020). A diferença entre os lotes é esperada, resultado de sementes de diferentes locais de cultivo e condições ambientais, porém, diferenças no vigor dentro de um mesmo lote são o motivo de investigação desse trabalho.

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma leguminosa de grande importância mundial por seus teores de óleo e proteína, e consumo humano e animal (EBONE et al., 2020). As produtividades alcançadas são decorrentes do melhoramento genético de plantas e aprimoramento de técnicas de manejo, visando a obtenção de sementes com qualidade superior e propagação de características desejadas de seus progenitores (KONG et al., 2023).

A posição do legume na soja pode interferir no vigor pela deposição de fotoassimilados pela maior ou menor quantidade de luz que as plantas recebem, interferindo na sua capacidade de fixar carbono pela fotossíntese (GAO et al., 2023). A quantidade e qualidade de assimilados que a semente recebe pode estar relacionado aos resultados apresentados nas avaliações de qualidade fisiológica de sementes.

Entretanto, os testes tradicionais utilizados para avaliar a qualidade de sementes apresentam metodologias muito antigas, levando dias para obter informações e apresentando resultados subjetivos (LARIOS et al., 2020). A utilização de outros métodos para avaliar o vigor das sementes são requeridos, como a reflectância e a cromatografia líquida, estudadas neste trabalho.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA

A safra 2022/23 da cultura da soja alcançou mais de 322 milhões de toneladas colhidas, com incremento de 18,4% em relação a safra anterior (Conab, 2023). A produtividade da soja é resultado do atendimento de suas exigências a campo e da utilização de sementes com alto valor qualitativo (BORNHOFEN et al., 2015).

A qualidade fisiológica de sementes é um dos pilares para obtenção de altas produtividades a campo, uma vez que são as responsáveis pelo estabelecimento, crescimento e desenvolvimento da cultura a campo (MARCOS-FILHO, 2015). Para ser considerada de alta qualidade, a semente de soja precisa apresentar características fisiológicas superiores, como a alta porcentagem de germinação, vigor e tetrazólio (ROSSI; CAVARIANI; FRANÇA-NETO, 2017).

A semente necessita apresentar atributos que comprovem sua qualidade genética, física, fisiológica e sanitária, como pureza varietal, grau de umidade, germinação, e ausência de patógenos, respectivamente (KRZYZANOWSKI; FRANÇA-NETO; HENNING, 2018). Para atender os padrões mínimos exigidos para produção e comercialização no Brasil, as sementes devem apresentar pureza física de 99% e germinação de 80% (BRASIL, 2013). Em relação ao vigor não há padrões mínimos exigidos, mas sementes vigorosas apresentam a característica de germinar rapidamente e de forma uniforme, com resultados comprovados em laboratório e a campo.

O teste de germinação é frequentemente realizado para comprovar a qualidade de sementes (MARCOS FILHO, 2015). Todavia, os resultados apresentados pelo teste de germinação são realizados sob condições controladas e favoráveis, pelo suprimento das exigências das sementes. Dessa forma, a semente que apresentava boas porcentagens de germinação em laboratório é levada ao campo, as divergências encontradas demonstram a imprecisão, sendo necessário o emprego dos testes de vigor, prevendo o desempenho das sementes em condições não controladas (WENDT et al., 2017).

A utilização de sementes de baixo vigor resulta em baixo estande de plantas, desuniformidade, distribuição irregular de plantas e baixo desenvolvimento inicial, prejudicando diretamente a produtividade final (BAGATELI et al., 2019). A influência do vigor no processo de emergência e estabelecimento das plântulas em campo é uma métrica muito

importante para o setor produtivo, uma vez que o vigor das sementes é responsável pelo comportamento das plantas nos estádios subsequentes (MARCOS-FILHO, 2015).

2.2 TESTES DE VIGOR DE SEMENTES

O conceito de vigor pode ser entendido como as propriedades presentes nas sementes que determinam o seu potencial para emergir de forma rápida e uniforme, desenvolvendo plântulas normais em uma ampla diversidade de condições ambientais (MCDONALD; JOO, 2009). Um lote de sementes para ser considerado vigoroso precisa ter um bom desempenho, tanto em condições controladas e favoráveis, como em condições desfavoráveis, que teoricamente impediriam sua germinação (BAGATELI et al., 2019).

Os testes de vigor são responsáveis por caracterizar sementes em lotes de alto, médio e baixo vigor, baseados na capacidade das sementes em resistir a diferentes tipos de estresses sem alterar sua velocidade de germinação, integridade da membrana e desempenho de plântulas no campo (HAO et al., 2020). Dessa forma, a escolha dos testes de vigor aplicados a sementes deve considerar a rapidez e eficiência na obtenção de resultados, representando o comportamento das sementes de forma proporcional com o que aconteceria se as sementes ainda se encontrassem no campo sob condições adversas, ou durante o período de armazenamento (KRZYZANOWSKI; FRANÇA-NETO; HENNING, 2018).

O máximo vigor é obtido quando as sementes atingem maturidade fisiológica, posterior a esse ponto, seus atributos sofrem constante decréscimo (MARCOS FILHO, 2015). O vigor das sementes é afetado por fatores de ordem biótica e abiótica, desde a deterioração por umidade à danos causados por insetos, resultando em respiração celular e redução da qualidade fisiológica (WENDT et al., 2017).

Os testes utilizados para analisar a qualidade das sementes são a primeira contagem de germinação, crescimento de plântulas, envelhecimento acelerado, condutividade elétrica e tetrazólio (MARCOS-FILHO, 2015). Dentre estes, o teste de tetrazólio se destaca por avaliar a viabilidade, vigor, danos mecânicos, danos causados por percevejo e danos resultantes de umidade, fornecendo diagnóstico das possíveis causas da redução do vigor e permitindo o conhecimento das ações que podem ser adotadas para mitigar e corrigir os problemas que afetam as sementes (KRZYZANOWSKI; FRANÇA-NETO; HENNING, 2018).

Os benefícios do teste de tetrazólio são inúmeros, porém assim como os demais testes, as sementes precisam ser avaliadas individualmente e a interpretação depende do conhecimento e experiência do analista, fato que dificulta o processo de obtenção de informações. Dessa

forma, observa-se a necessidade de utilização de outros testes que avaliem o vigor, corroborando com os resultados encontrados e diminuindo o erro humano durante as análises.

2.3 NOVAS TECNOLOGIAS DE ANÁLISE DE SEMENTES

Os testes utilizados para analisar a qualidade fisiológica de sementes de soja se baseiam no comportamento das sementes quando submetidas a diferentes condições, uma vez que a germinação bem-sucedida depende do teor de água e temperatura (MANGENA, 2021). A obtenção de sementes com características superiores é uma necessidade, com pesquisas direcionadas para a obtenção de informações de forma não destrutiva, precisa e acurada.

Dentre os métodos mais atuais que avaliam a qualidade fisiológica de sementes de forma não destrutiva encontram-se a análise de imagens multiespectrais (BAEK et al., 2020), espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier - FTIR (LARIOS et al., 2020), e espectroscopia de fluorescência de raios X (ALVES et al., 2023). Todavia, a utilização da reflectância e bandas espectrais, apesar de relatada na identificação e classificação de genótipos de soja (Silva Junior et al., 2020; Santana et al., 2023), não foi estudada em relação a discriminação de sementes em relação a qualidade fisiológica, especialmente o vigor.

2.3.1 Sensores hiperespectrais

Os sensores hiperespectrais são ferramentas do sensoriamento remoto que possibilitam a aquisição de centenas de bandas espectrais, reproduzindo os espectros de reflectância de alvos, permitindo sua identificação (KUMAR et al., 2001). A reflectância é uma técnica analítica que utiliza energia eletromagnética refletida pelos materiais nas regiões do visível do infravermelho próximo e infravermelho de ondas curtas, por meio de processos eletrônicos e vibracionais, onde certos átomos e moléculas absorvem energia em função de suas estruturas atômicas, manifestando-as por meio de curvas de reflectância espectral (Zhu et al., 2018). Dessa forma é possível capturar pequenas alterações na composição química dos materiais pelo deslocamento na posição e forma das feições de absorção espectral da radiação refletida (SANTANA et al., 2021).

Os sensores são projetados para registrar a reflectância em vários comprimentos de onda ao longo do espectro eletromagnético, sendo as regiões mais utilizadas as do visível (400 a 700 nm) do infravermelho refletivo (700 a 3000 nm) e termal (3000 a 10000 nm) (JENSEN, 2009). Todavia, a maioria dos sensores trabalham na região do visível, infravermelho refletivo,

sobretudo o infravermelho próximo (700 a 1300 nm) e médio (1300 a 3000 nm) (Zhu et al., 2019).

O número de bandas registradas pelos sensores na faixa do visível ao infravermelho médio determina sua divisão em multi ou hiperespectrais, onde os multiespectrais obtêm respostas espectrais em algumas bandas e os hiperespectrais permitem um melhor detalhamento, uma vez que capturam respostas em centenas de bandas mais estreitas (LU et al., 2020). Para a agricultura, são equipamentos que podem ser utilizados desde avaliações de biomassa, à produtividade e degradação do solo, uma vez que permitem a obtenção de informações biofísicas e bioquímicas das plantas (SAHOO; RAY; MANJUNATH, 2015).

A utilização de sensores na observação de características das plantas se baseia no mesmo princípio com qualquer superfície, onde a radiação sofre reflexão, absorção e transmissão quando atinge um alvo, seja ele folha ou outra parte vegetal. De acordo com o comprimento de onda do espectro, ângulo de incidência, características físicas da superfície e conteúdo bioquímico desse material, ocorre variação na quantidade e qualidade da radiação refletida (Silva Barros et al., 2021).

O uso de sensores hiperespectrais para monitoramento do uso da terra, previsão e safras e planejamento de aplicações de insumos é reconhecido (SISHODIA; RAY; SINGH, 2020; WEISS; JACOB; DUVEILLER, 2020). Especificamente nas plantas, as mudanças espectrais estão relacionadas às alterações no aparato fotossintético e seu desempenho (MAHLEIN et al., 2018; PINTO et al., 2020) e no melhoramento genético (Santana et al., 2023).

Os materiais apresentam assinaturas espectrais características, com a formação de curvas características para cada parte vegetal estudada, uma vez que o conteúdo de clorofila e compostos orgânicos podem sofrer alterações em diferentes partes da planta (PRABHAKAR; PRASAD; RAO, 2011). Essas diferenças são estudadas no Capítulo 2 deste trabalho, com o intuito de encontrar diferenças na reflectância das sementes resultantes de alterações em sua qualidade fisiológica.

2.3.2 Cromatografia líquida na análise de flavonóides

A cromatografia é uma técnica analítica de caracterização, detecção e separação que pode ser utilizada para identificar compostos, por comparação, com padrões previamente existentes, purificação de compostos e separação dos componentes de uma mistura (RIBANI et al., 2004). Esse método possui alta sensibilidade, flexibilidade, especificidade e estabilidade, aplicável à diversos tipos de substâncias de interesse (SKOOG et al., 2002).

A cromatografia líquida é uma técnica de separação de compostos fenólicos que consiste na divisão de componentes de uma mistura quando presentes em uma fase móvel fluida e uma fase estacionária, denominada coluna cromatológica (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006). A separação das fases ocorre pela diferença de velocidade de cada componente na fase fluida, em resultado das forças física e interação química entre as fases e seus componentes (RIBANI et al., 2004).

A Cromatografia Líquida de Ultra Performance, em inglês UPLC (*Ultra Performance Liquid Chromatography*) é um equipamento utilizado para realizado de análises cromatológica que emprega colunas preenchidas com materiais especialmente preparados e uma fase móvel, que é fracionada sob altas pressões (RIBANI et al., 2004). Os solventes líquidos utilizados na fase móvel são os responsáveis pelas diferenças de afinidade dos analitos na fase estacionária e em único processo, pode-se separar uma mistura em seus componentes individuais, além de determinar sua concentração (INNOCENTE et al., 2007).

A cromatografia líquida baseia-se no fenômeno que, em determinadas condições, cada componente da mistura interage com a fase estacionária e fase móvel de forma diferenciada, através de três passos básicos que são a injeção, separação e fracionamento (SKOOG et al., 2002). Por meio dessa técnica é possível detectar a maioria dos compostos e analisar traços de outros componentes em amostras complexas (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006).

A aplicação de cromatográfica liquida pode ocorrer em diversas áreas de conhecimento, especialmente na quantificação de moléculas em partes vegetais. Os flavonóides, reconhecidos por suas propriedades antioxidantes e inativadoras de radicais livres, podem ser separados, quantificados e identificados através de equipamentos como o UPLC (GALIZIA; WAITZBERG, 2001). Dessa forma, o Capítulo 3 apresenta resultados referentes a identificação de flavonóides em sementes de soja e sua relação com variáveis de qualidade fisiológica.

REFERÊNCIAS

ALVES, R. M.; GOMES-JUNIOR, F. G.; CARMO-FILHO, A. dos S.; RIBEIRO, G. de F. R.; REGO, C. H. Q.; IOST-FILHO, F. H.; YAMAMOTO, P. T. Evaluation of the Effect of the Vigor of Soybean Seeds Treated with Micronutrients Using X-ray Fluorescence Spectroscopy and Hyperspectral Imaging. **Agronomy**, [s. l.], v. 13, n. 7, p. 1945, 2023.

BAEK, J.; LEE, E.; KIM, N.; KIM, S. L.; CHOI, I.; JI, H.; CHUNG, Y. S.; CHOI, M.-S.; MOON, J.-K.; KIM, K.-H. High throughput phenotyping for various traits on soybean seeds using image analysis. **Sensors**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 248, 2020.

BAGATELI, J. R.; DÖRR, C. S.; SCHUCH, L. O. B.; MENEGHELLO, G. E. Productive performance of soybean plants originated from seed lots with increasing vigor levels. **Journal of Seed Science**, [s. l.], v. 41, p. 151–159, 2019.

BORNHOFEN, E.; BENIN, G.; GALVAN, D.; FLORES, M. F. Épocas de semeadura e desempenho qualitativo de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, [s. l.], v. 45, p. 46–55, 2015.

BRASIL. Instrução Normativa n° 45, de 17 de setembro de 2013. **Padrões para produção e comercialização de sementes de milho (Zea mays L.)**, [s. l.], 2013.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. Fundamentos de cromatografia. Em: **Fundamentos de cromatografia**. [s.l: s.n.]. p. 453.

DA SILVA BARROS, P. P.; ROSALEN, D. L.; IOST FILHO, F. H.; MARTINS, G. D.; DI LEO, N. Monitoramento Fitossanitário Utilizando Sensoriamento Remoto: Avanços e Desafios. **Rev. Bras. Cartogr**, [s. l.], v. 73, n. 2, 2021.

DA SILVA JUNIOR, C. A.; TEODORO, L. P. R.; TEODORO, P. E.; BAIO, F. H. R.; DE ANDREA PANTALEÃO, A.; CAPRISTO-SILVA, G. F.; FACCO, C. U.; DE OLIVEIRA-JÚNIOR, J. F.; SHIRATSUCHI, L. S.; SKRIPACHEV, V. Simulating multispectral MSI bandsets (Sentinel-2) from hyperspectral observations via spectroradiometer for identifying soybean cultivars. **Remote Sensing Applications: Society and Environment**, [s. l.], v. 19, p. 100328, 2020.

EBONE, L. A.; CAVERZAN, A.; TAGLIARI, A.; CHIOMENTO, J. L. T.; SILVEIRA, D. C.; CHAVARRIA, G. Soybean seed vigor: Uniformity and growth as key factors to improve yield. **Agronomy**, [s. l.], v. 10, n. 4, 2020.

GALIZIA, M. S.; WAITZBERG, D. L. Mecanismos de ação dos radicais livres e antioxidantes. **Rev. bras. nutr. clín**, [s. l.], p. 79–89, 2001.

GAO, J.; CHEN, J.; LEI, Y.; WANG, Q.; ZOU, J.; NING, Z.; TAN, X.; YANG, F.; YANG, W. Functional consequences of light intensity on soybean leaf hydraulic conductance: Coordinated variations in leaf venation architecture and mesophyll structure. **Environmental and Experimental Botany**, [s. l.], v. 210, 2023.

HAO, Q.; YANG, Y.; GUO, C.; LIU, X.; CHEN, H.; YANG, Z.; ZHANG, C.; CHEN, L.; YUAN, S.; CHEN, S.; CAO, D.; GUO, W.; QIU, D.; ZHANG, X.; SHAN, Z.; ZHOU, X. Evaluation of seed vigor in soybean germplasms from different eco-regions. **Oil Crop Science**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 22–25, 2020.

INNOCENTE, N.; BIASUTTI, M.; PADOVESE, M.; MORET, S. Determination of biogenic amines in cheese using HPLC technique and direct derivatization of acid extract. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 101, n. 3, p. 1285–1289, 2007.

JENSEN, J. R. **Remote sensing of the environment: An earth resource perspective 2/e**. [s.l.] : Pearson Education India, 2009.

KONG, K.; XU, M.; XU, Z.; LV, W.; LV, P.; BEGUM, N.; LIU, B.; LIU, B.; ZHAO, T. Dysfunction of GmVPS8a causes compact plant architecture in soybean. **Plant Science**, [s. l.], v. 331, 2023.

KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. de B.; HENNING, A. A. A alta qualidade da semente de soja: fator importante para a produção da cultura. **Circular técnica**, [s. l.], v. 136, n. 1, 2018.

KUMAR, L.; SCHMIDT, K.; DURY, S.; SKIDMORE, A. Imaging spectrometry and vegetation science. **Imaging spectrometry: basic principles and prospective applications**, [s. l.], p. 111–155, 2001.

LARIOS, G.; NICOLODELLI, G.; RIBEIRO, M.; CANASSA, T.; REIS, A. R.; OLIVEIRA, S. L.; ALVES, C. Z.; MARANGONI, B. S.; CENA, C. Soybean seed vigor discrimination by using infrared spectroscopy and machine learning algorithms. **Analytical Methods**, [s. l.], v. 12, n. 35, p. 4303–4309, 2020.

LU, B.; DAO, P. D.; LIU, J.; HE, Y.; SHANG, J. Recent advances of hyperspectral imaging technology and applications in agriculture. **Remote Sensing**, [s. l.], v. 12, n. 16, p. 2659, 2020.

MAHLEIN, A.-K.; KUSKA, M. T.; BEHMANN, J.; POLDER, G.; WALTER, A. Hyperspectral sensors and imaging technologies in phytopathology: state of the art. **Annual review of phytopathology**, [s. l.], v. 56, p. 535–558, 2018.

MANGENA, P. Analysis of correlation between seed vigour, germination and multiple shoot induction in soybean (Glycine max L. Merr.). **Heliyon**, [s. l.], v. 7, n. 9, 2021.

MARCOS FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia agricola**, [s. l.], v. 72, p. 363–374, 2015.

MCDONALD, M. B.; JOO, K. Seed vigor testing handbook. **Ithaca: AOSA**, [s. l.], 2009.

MENEGUZZO, M. R. R.; MENEGHELLO, G. E.; NADAL, A. P.; XAVIER, F. da M.; DELLAGOSTIN, S. M.; CARVALHO, I. R.; GONÇALVES, V. P.; LAUTENCHLEGER, F.; LÂNGARO, N. C. Seedling length and soybean seed vigor. **Ciência Rural**, [s. l.], v. 51, 2021.

PELISSARI, F.; COIMBRA, R. de A. Sementes de soja esverdeadas: causas e consequências na qualidade fisiológica. **Scientific Electronic Archives**, [s. l.], v. 16, n. 4, 2023.

PINTO, J.; POWELL, S.; PETERSON, R.; ROSALEN, D.; FERNANDES, O. Detection of defoliation injury in peanut with hyperspectral proximal remote Sensing. **Remote Sensing**, [s. l.], v. 12, n. 22, p. 3828, 2020.

PRABHAKAR, M.; PRASAD, Y. G.; RAO, M. N. Remote sensing of biotic stress in crop plants and its applications for pest management. **Crop stress and its management: Perspectives and strategies**, [s. l.], p. 517–545, 2011.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química nova**, [s. l.], v. 27, p. 771–780, 2004.

ROSSI, R. F.; CAVARIANI, C.; FRANÇA-NETO, J. de B. Vigor de sementes, população de plantas e desempenho agronômico de soja. **Revista de Ciências Agrarias - Amazon Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, [s. l.], v. 60, n. 3, p. 215–222, 2017.

SAHOO, R. N.; RAY, S. S.; MANJUNATH, K. R. Hyperspectral remote sensing of agriculture. **Current science**, [s. l.], p. 848–859, 2015.

SANTANA, D. C.; COTRIM, M. F.; FLORES, M. S.; ROJO BAIO, F. H.; SHIRATSUCHI, L. S.; SILVA JUNIOR, C. A. Da; TEODORO, L. P. R.; TEODORO, P. E. UAV-based multispectral sensor to measure variations in corn as a function of nitrogen topdressing. **Remote Sensing Applications: Society and Environment**, [s. l.], v. 23, 2021.

SANTANA, D. C.; TEIXEIRA FILHO, M. C. M.; DA SILVA, M. R.; CHAGAS, P. H. M. Das; DE OLIVEIRA, J. L. G.; BAIO, F. H. R.; CAMPOS, C. N. S.; TEODORO, L. P. R.; DA SILVA JUNIOR, C. A.; TEODORO, P. E. Machine Learning in the Classification of Soybean Genotypes for Primary Macronutrients' Content Using UAV–Multispectral Sensor. **Remote Sensing**, [s. l.], v. 15, n. 5, p. 1457, 2023. a.

SANTANA, D. C.; TEODORO, L. P. R.; BAIO, F. H. R.; DOS SANTOS, R. G.; CORADI, P. C.; BIDUSKI, B.; DA SILVA JUNIOR, C. A.; TEODORO, P. E.; SHIRATSUCHI, L. S. Classification of soybean genotypes for industrial traits using UAV multispectral imagery and machine learning. **Remote Sensing Applications: Society and Environment**, [s. l.], v. 29, p. 100919, 2023. b.

SISHODIA, R. P.; RAY, R. L.; SINGH, S. K. Applications of remote sensing in precision agriculture: A review. **Remote Sensing**, [s. l.], v. 12, n. 19, p. 3136, 2020.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A.; CARACELLI, I. **Princípios de análise instrumental**. [s.l: s.n.].

WEISS, M.; JACOB, F.; DUVEILLER, G. Remote sensing for agricultural applications: A meta-review. **Remote sensing of environment**, [s. l.], v. 236, p. 111402, 2020.

WENDT, L.; DE MATOS MALAVASI, M.; DRANSKI, J. A. L.; MALAVASI, U. C.; JUNIOR, F. G. G. Relação entre testes de vigor com a emergência a campo em sementes de soja. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 166–171, 2017.

ZHU, L.; SUOMALAINEN, J.; LIU, J.; HYYPPÄ, J.; KAARTINEN, H.; HAGGREN, H. A review: Remote sensing sensors. **Multi-purposeful application of geospatial data**, [s. l.], p. 19–42, 2018.

ZHU, W.; SUN, Z.; PENG, J.; HUANG, Y.; LI, J.; ZHANG, J.; YANG, B.; LIAO, X. Estimating maize above-ground biomass using 3D point clouds of multi-source unmanned aerial vehicle data at multi-spatial scales. **Remote Sensing**, [s. l.], v. 11, n. 22, 2019.

CAPÍTULO 1 - A POSIÇÃO DO LEGUME NA PLANTA DE SOJA INFLUENCIA O VIGOR DAS SEMENTES

RESUMO

Os lotes de sementes são avaliados por sua viabilidade e vigor, diferindo de acordo com a procedência e os locais onde as sementes foram produzidas, porém observa-se diferença no vigor dentro de um mesmo lote de sementes, resultante da deposição de fotoassimilados. Diante disso, a hipótese deste trabalho se baseia na possibilidade de locais distintos da planta resultarem sementes com qualidade fisiológica distintas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar como a posição do legume influencia o vigor das sementes de diferentes genótipos de soja. Os experimentos foram realizados durante as safras de 2021/22 e 2022/23, conduzidos na área experimental da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campus Chapadão do Sul – MS. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições e 32 populações de soja do Programa de Melhoramento da UFMS/CPCS. Nos estádios reprodutivos R4, R5, R6 e R7 da soja, na ocasião da formação dos legumes, as plantas de cada bloco foram marcadas, com auxílio de barbante, delimitando o ponto máximo que haviam legumes formados. As marcações ocorreram conforme a mudança de estádio era verificada, com intervalo aproximado de oito dias. Na ocasião da colheita, os legumes foram colhidos até o ponto máximo da marcação em cada planta de soja. Para análise da qualidade fisiológica, inicialmente as sementes foram submetidas a determinação do teor de água e testes de germinação, primeira contagem de germinação e tetrazólio vigor e viabilidade. Foi possível verificar que a posição do legume na planta exerce influência na qualidade fisiológica das sementes que estão sendo formadas, especialmente no que se refere ao vigor. Os legumes presentes no estádio reprodutivo R4 de plantas de soja são responsáveis responsável pelos melhores resultados em relação aos testes de qualidade de sementes realizados.

Palavras-chave: Fotoassimilados. Germinação. Genótipos. Potencial fisiológico.

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merril) é uma importante leguminosa e uma das oleaginosas mais valorizadas no mundo devido a sua composição, responsável pela oferta de proteína

vegetal (WIJEWARDANA; REDDY; BELLALOUI, 2019). A produtividade (rendimento é quanto rende) da sojicultura depende do suprimento de suas exigências durante o período de crescimento e desenvolvimento vegetal, evitando perdas quantitativas e qualitativas nas sementes formadas (MERTZ-HENNING et al., 2018).

As fases reprodutivas englobam a floração, formação e enchimento dos legumes, responsáveis pelas maiores perdas produtivas no cultivo da soja, por sua relação com a diminuição do desempenho fotossintético e consequentemente, prejuízo síntese e translocação de fotoassimilados, que geram problemas na divisão celular e desenvolvimento de sementes (SOBA; ARRESE-IGOR; ARANJUELO, 2022). A produção de sementes recebe influência do número de flores produzidas pela planta-mãe e a proporção de flores que se desenvolvem em legumes, sendo períodos críticos na formação de sementes de qualidade (JUMRANI; BHATIA, 2018). Portanto, a qualidade de sementes de soja é o resultado de seus atributos genéticos, fisiológicos, físicos e sanitários (MARCOS FILHO, 2015). O potencial fisiológico é estimado por meio da viabilidade e vigor, métricas que determinam a capacidade da semente germinar de forma rápida e uniforme (WEN et al., 2018).

A germinação é a denominação empregada para avaliar a viabilidade das sementes pela emissão da raiz primária e formação de plântula normal, com raiz e parte aérea bem desenvolvida (ZHANG et al., 2023). Porém, a realização do teste em laboratório com o suprimento de todas as exigências da semente, resulta em divergências quando essas sementes são levadas a campo, motivos pelos quais os testes de vigor são empregados, submetendo as sementes a condições adversas e avaliando sua capacidade, velocidade e uniformidade de germinação (EBONE et al., 2020).

A avaliação do vigor ocorre através da realização de testes e comparação entre os lotes avaliados, uma vez que, lotes com maior porcentagem de vigor são compostos por sementes com germinação homogênea, resultado em rápido fechamento do stand de plantas e consequentemente, contribuindo com a qualidade e produtividade do cultivo (MASINO et al., 2018). Logo, as diferenças encontradas entre os lotes de sementes são esperadas, mas a diferença no vigor das sementes dentro do mesmo lote resulta em questionamentos sobre os motivos da sua ocorrência, uma vez que teoricamente, o lote é homogêneo.

A intensidade de luz que uma planta de soja recebe, difere em relação a diferentes locais da planta, especialmente pelo sombreamento das folhas inferiores, resultando em menor condutância estomática e menor desempenho fotossintético (GAO et al., 2023). Em contrapartida, folhas das partes superiores da planta, mesmo que em formação inicial, recebem maior quantidade e qualidade de luz solar, resultando em melhor condutância estomática e

desempenho fotossintético (FAN et al., 2019). A menor taxa fotossintética resulta em menos fotoassimilados sendo enviados para o a formação dos legumes e enchimentos das sementes, logo, menores taxas fotossintéticas em posições específicas podem ser relacionadas com menor qualidade fisiológica das sementes, influenciando sua viabilidade e vigor.

Diante do exposto, a hipótese deste trabalho se baseia na possibilidade de locais distintos da planta produzirem sementes com qualidade fisiológica distintas. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar como a posição do legume influencia o vigor das sementes de diferentes genótipos de soja.

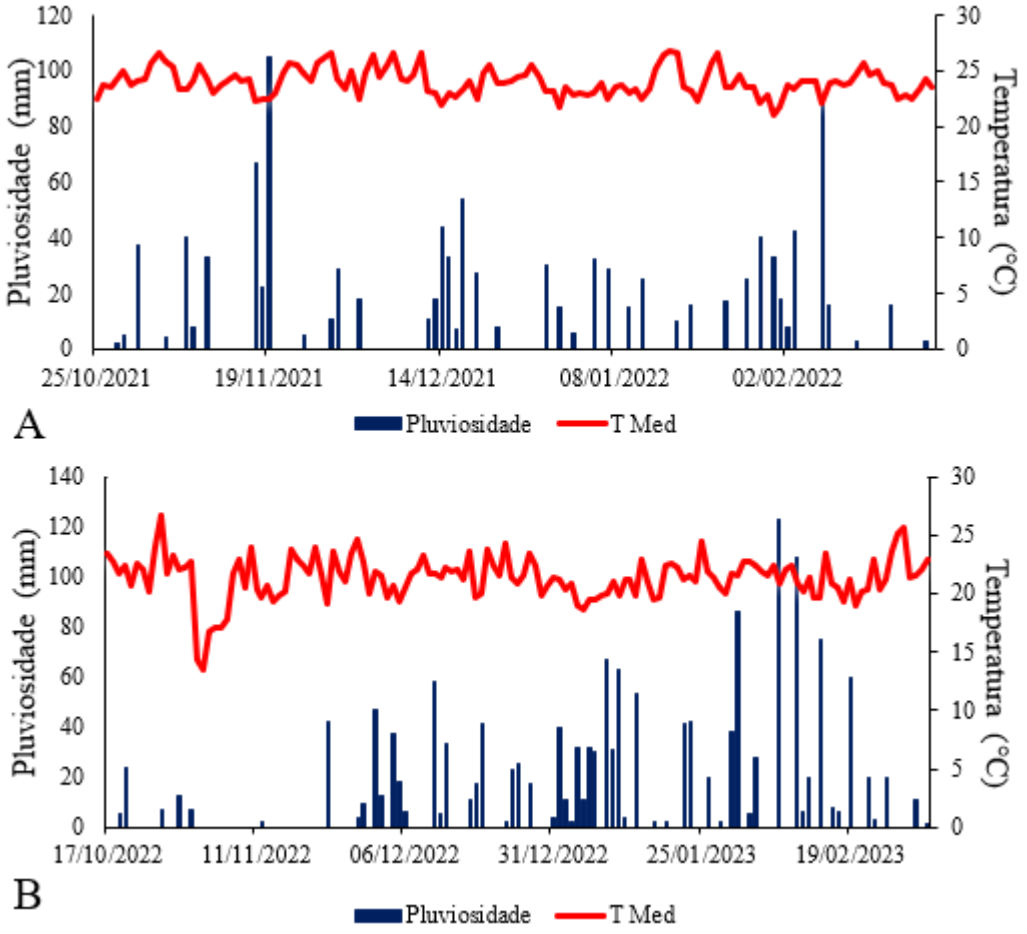
2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

Os experimentos foram realizados durante a safra agrícola de 2021/22 e 2022/23, conduzidos na área experimental da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campus Chapadão do Sul – MS. A localização da unidade se encontra em 18°41’33’’S e 52°40’45’’W, com 810 m de altitude.

O solo é classificado como Latossolo Vermelho Distrófico Argiloso, com as características na camada de 0-0.2m: pH (H_2O) = 6.2; Al trocável, Ca+Mg, K, Soma de Bases e CTC com valores de 0.0, 4.31, 0.2, 2.3 e 5.1 cmolc dm^{-3} respectivamente, P = 41.3 mg dm-^{3}, Matéria orgânica = 19.74 g dm^{-3}, e V e m = 45 e 0.0%, segundo análise de solo. O clima da região é classificado como Tropical de Savana (AW), segundo classificação climática de Köppen-Geiger. A precipitação e temperatura média durante as safras 2021/22 e 2022/23 são apresentadas na Figura 1.

Figura 1 - Gráfico de pluviosidade e temperatura média durante as safras 2021/22 (A) e 2022/23 (B) na área experimental da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, campus de Chapadão do Sul.



Fonte: Elaboração da própria autora.

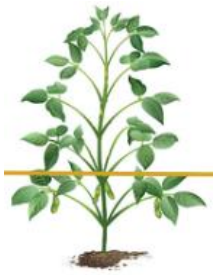
O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições e 32 genótipos de soja do Programa de Melhoramento da UFMS/CPCS, de hábito de crescimento indeterminado. As parcelas experimentais foram compostas por cinco linhas de um metro e meio, espeçadas 0,45 m e população de 15 plantas por metro.

A semeadura manual foi realizada no início do período chuvoso em ambos os anos, sendo a área preparada de forma convencional, com aração e gradagem. As sementes foram tratadas com fungicida (Piraclotrobina + Metil Tiofanato), inseticida (Fipronil) e inoculante (*Bradyrhizobium* spp.) na dosagem de 200 mL dos produtos para cada 100 kg de sementes. Os tratos culturais para controle de pragas, patógenos e plantas daninhas foram realizados conforme necessidade da cultura.

2.2 MARCAÇÃO DOS LEGUMES NA PLANTA DE SOJA

No estádio reprodutivo da soja, na ocasião da formação dos legumes, as plantas de cada bloco foram marcadas, com auxílio de barbante, delimitando o ponto máximo em que os legumes foram formados. A Tabela 1 apresenta o estádio reprodutivo e a descrição de cada posição marcada.

Tabela 1 - Marcação dos legumes na planta de soja

Posição	Estádio Reprodutivo (R)	Descrição	Figura representativa
P1	R4	Legumes completamente desenvolvidas, com 2 cm de comprimento em um dos quatro últimos nós do caule.	
P2	R5	Legumes em estágios de enchimento de grãos, perceptíveis ao tato e com diferentes níveis de granação.	
P3	R6	Legumes cheias, com grãos ocupando a maior parte do legume, acompanhado do início do amarelecimento das folhas.	
P4	R7	Início da maturação fisiológica dos grãos, com pelo menos um legume madura na haste principal.	

Fonte: Elaborado pela própria autora, adaptação conforme Oliveira Junior et al. (2016).

As marcações ocorreram conforme a mudança de estádio era verificada, com intervalo aproximado de oito dias. As marcações ocorreram em todas as plantas de soja, visando obter maior quantidade de sementes para realização dos testes fisiológicos. Cada uma das marcações foi realizada em um bloco experimental, onde a marcação das plantas na posição P1 ocorreram no bloco 1, marcação das plantas na posição P2 ocorrera no bloco 2, marcação das plantas na posição P3 ocorrera no bloco 3, marcação das plantas na posição P4 ocorrera no bloco 4. Logo, cada bloco recebeu uma marcação e posteriormente, cada parcela pertencente ao bloco foi subdividida em quatro repetições, visando a realização dos testes para avaliar a qualidade fisiológica de sementes.

2.3 COLHEITA E SEPARAÇÃO DAS SEMENTES

Na ocasião da colheita, quando as plantas se encontravam no estádio R8, os legumes de cada planta folham colhidos até o ponto máximo que havia sido marcado anteriormente. Dessa forma, os legumes da posição P1 foram colhidas somente até onde a marcação se encontrava. O mesmo ocorreu para os legumes das posições P2, P3 e P4. Plantas sem marcação foram descartadas. Os legumes foram abertos manualmente, com sementes identificadas de acordo com o genótipo a que pertenciam e armazenadas em sala com temperatura de 16 ºC, com objetivo de conservar a qualidade das sementes até a realização dos testes.

2.4 ANÁLISE DE SEMENTES

Para análise da qualidade fisiológica, inicialmente as sementes foram submetidas a determinação do teor de água e apresentando teores adequados, procedeu-se a realização dos testes de germinação (GERM), primeira contagem de germinação (PCG) e tetrazólio vigor (TZVG) e viabilidade (TZVB).

O teor de água foi obtido através do método da estufa, onde duas subamostras de aproximadamente 4.0 g de sementes, foram dispostas em recipiente, pesadas e condicionadas em estufa de circulação de ar forçado, durante 24 horas a 105±3 ºC. A metodologia obedece aos pressupostos propostos por Brasil (2009) e os resultados foram expressos em porcentagem de base úmida.

No teste de GERM, quatro subamostras de 50 sementes foram distribuídas em papel Germitest, umedecido com água destilada em concentração equivalente a 2.5 vezes o peso do papel e posteriormente mantidas em germinador durante oito dias à 25 ºC (Brasil, 2009). Os

resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais, ou seja, com parte aérea e raiz bem desenvolvida, após oito dias. O teste de PCG foi realizado em conjunto com o teste de germinação, através da contagem de plântulas normais aos cinco dias após o teste ser realizado, com resultados expressos em porcentagem de plântulas normais.

O teste de tetrazólio foi realizado com a pré-embebição de quatro subamostras de 50 sementes em papel germitest, umedecido ao equivalente a 2.5 vezes seu peso, permanecendo em germinador à 25 ºC durante 16 h. Encerrado o período de pré-embebição, as sementes foram colocadas em copos com solução 2,3,5-cloreto de trigeniltetrazólio, permanecendo em incubadora B.O.D. à 40 ºC no escuro, durante 3 h. Após o período, as sementes foram lavadas com água destiladas, seccionadas e avaliadas individualmente em relação ao vigor (TZVG) e viabilidade (TZVB), com resultados expressos em porcentagem. A metodologia segue as recomendações de França-Neto e Krzyzanowski (2018).

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F. Os efeitos de posição e genótipos foram considerados fixos, enquanto o efeito de safra foi considerado aleatório. Nos casos de significância dos efeitos fixos e sua interação, as médias foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott (SCOTT; KNOTT, 1974). Em todos os casos adotou-se 5% de significância.

Um gráfico de correlação de Pearson também foi contribuído visando analisar a correlação de Pearson apresentada entre as variáveis estudadas. As análises estatísticas foram realizadas nos softwares Sisvar (FERREIRA, 2014) e R (R CORE TEAM, 2013).

3 RESULTADOS

As sementes apresentavam teor de água entre 11,5 e 12,0%. Os efeitos isolados de safras, posições e genótipos foram significativos para primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GERM), tetrazólio vigor (TZVG) e tetrazólio viabilidade (TZVB) (Tabela 2). Houve interação dupla e tripla entre esses fatores para todas as variáveis avaliadas. A interação entre os fatores demonstra que as posições do legume na planta aliadas ao genótipo utilizado, influenciam as variáveis fisiológicas de qualidade de sementes. Com isso, foram realizados os desdobramentos entre os efeitos fixos de posições × genótipos nas Tabelas 3, 4, 5 e 6.

Tabela 2 - Resumo da análise de variância para as variáveis primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GERM), tetrazólio vigor (TZVG) e tetrazólio viabilidade (TZVB) de 32 genótipos de soja analisados em relação as posições do legume na planta durante duas safras em Chapadão do Sul/MS.

FV	GL	PCG	GERM	TZVG	TZVB
Safras (S)	1	154907,24*	6033,97*	44249,45*	4289,10*
Posições (P)	3	37454,86*	5350,66*	15385,28*	1320,64*
Genótipos (G)	31	532,09*	171,59*	452,09*	161,81*
P x G	93	316,98*	116,58*	329,64*	141,15*
P x S	3	20701,37*	1797,50*	5928,25*	1021,24*
G x S	31	137,84*	66,55*	256,22*	50,74*
P x S x G	92	149,27*	58,89*	175,35*	56,42*
Resíduo	769	27,67	29,21	47,69	34,24
CV (%)	-	6,82	5,97	9,74	6,42

* significativo pelo teste F à 5% de probabilidade. FV: Fontes de variação; GL: graus de liberdade; CV: coeficiente de variação.

Fonte: Elaborado pela própria autora.

No desdobramento da variável PCG, observa-se que os genótipos apresentam maior porcentagem de PCG quando na posição P1, com exceção dos genótipos G4, G6, G18, G26, G28, G30 e G31 (Tabela 3). Os genótipos G4, G18, G26, G30 e G31 apresentam as maiores porcentagens de PCG nas posições P1 e P2. O genótipo G6 apresentou a maior porcentagem de PCG para as posições P1 e P4. Já o genótipo G28 apresentou a maior porcentagem de PCG para as posições P2 e P3.

Tabela 3 - Desdobramento da interação entre genótipos e posições do legume na planta para a variável fisiológica de sementes porcentagem de primeira contagem de germinação (PCG), durante duas safras em Chapadão do Sul/MS.

Genótipo	P1	P2	P3	P4
G1	98,5 aB	79,5 bB	76,0 bA	59,5 cB
G2	97,5 aA	76,0 bCc	77,5 bA	70,5 bA
G3	100,0 aA	71,5 bC	77,5 bA	64,5 bB
G4	99,5 aA	96,5 aA	76,5 bA	67,5 bA
G5	98,0 aA	87,5 bA	77,0 cA	66,5 cA
G6	94,5 aA	80,5 bB	74,0 bA	87,5 aA
G7	100,0 aA	81,5 bB	77,5 bA	71,5 bA
G8	99,0 aA	77,5 bB	74,0 bA	72,5 bA
G9	96,0 aA	75,5 bC	79,5 bA	70,0 bA
G10	97,5 aA	75,5 bC	79,5 bA	63,5 cB
G11	100,0 aA	73,5 bC	79,5 bA	63,5 cB
G12	99,0 aA	72,0 bC	77,5 bA	60,0 cB
G13	100,0 aA	67,0 cC	76,5 bA	60,5 cB
G14	99,0 aA	62,5 cC	75,0 bA	56,5 cB
G15	97,5 aA	66,0 bC	57,5 bB	58,5 bB
G16	99,5 aA	71,0 bC	74,5 bB	61,5 cB
G17	91,5 aA	74,0 bC	64,0 bB	63,5 bB
G18	72,0 aB	72,5 aC	60,0 bB	62,5 bB
G19	97,0 aA	70,5 bC	71,5 bA	60,0 cB
G20	96,0 aA	67,5 cC	81,0 bA	64,5 cB
G21	94,5 aA	73,5 bC	70,5 bA	65,0 bB
G22	97,5 aA	74,5 bC	70,5 bA	63,5 cB
G23	93,5 aA	70,5 bC	73,5 bA	59,0 cB
G24	95,5 aA	65,5 bC	62,5 bB	58,5 bB
G25	98,0 aA	77,5 bB	74,5 bA	67,5 bA
G26	88,0 aA	78,5 aB	71,5 bA	67,0 bA
G27	92,5 aA	71,0 bC	73,5 bA	71,5 bA
G28	60,5 bC	73,0 aC	81,5 aA	68,5 bA
G29	97,0 aA	77,5 bB	77,5 bA	62,5 cB
G30	89,0 aA	80,5 aB	72,5 bA	69,5 bA
G31	82,0 aB	81,0 aB	76,5 bA	65,5 bB
G32	93,5 aA	73,5 bC	77,0 bA	73,5 bA

Letras iguais, minúsculas linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott à 5% de probabilidade.
Fonte: Elaborado pela própria autora.

Em relação as posições do legume na planta, com exceção dos genótipos G1, G28 e G31, não houve diferença entre a porcentagem de PCG para os genótipos na posição P1. Na posição P2, os genótipos G4 e G5 apresentam as maiores porcentagens de PCG, diferindo dos demais. A posição P3 apresentou as piores porcentagens de PCG em relação aos genótipos G15, G16, G17 e G18. E, na posição P4, os genótipos G2, G4, G5, G6, G7, G8, G9, G25, G26, G27, G28, G30 e G31 apresentaram as maiores porcentagens de PCG.

No desdobramento da variável GERM, os genótipos G2, G3, G8, G12, G13, G14, G15, G16, G19, G20, G21, G22, G23, G24, G25 e G29 apresentaram as maiores porcentagens de GERM na posição P1 (Tabela 4). Os genótipos G1, G4, G6, G17, G18 e G30 apresentaram melhores porcentagens de GERM nas posições P1 e P2.

Tabela 4 - Desdobramento da interação entre genótipo e posições do legume na planta para a variável fisiológica de sementes porcentagem de germinação (GERM), durante duas safras em Chapadão do Sul/MS.

Genótipo	Posição 1	Posição 2	Posição 3	Posição 4
G1	98,5 aA	95,0 aA	91,5 bA	85,0 bB
G2	98,0 aA	91,0 bA	92,5 bA	87,5 bA
G3	100,0 aA	87,5 bB	92,5 bA	86,5 bA
G4	99,5 aA	96,5 aA	92,0 bA	87,5 bA
G5	98,5 aA	95,0 aA	92,0 aA	85,5 bB
G6	96,0 aA	95,5 aA	88,5 bA	86,5 bA
G7	100,0 aA	96,5 aA	92,5 aA	82,5 bB
G8	99,5 aA	92,5 bA	91,5 bA	93,5 bA
G9	97,0 aA	90,5 bA	94,5 aA	89,5 bA
G10	98,0 aA	90,5 aA	94,5 aA	77,5 bB
G11	100,0 aA	89,5 bB	94,5 aA	84,5 bB
G12	99,0 aA	91,5 bA	92,0 bA	84,5 cB
G13	100,0 aA	88,5 bB	91,5 bA	81,0 cB
G14	99,0 aA	82,5 cC	90,5 bA	83,5 cB
G15	99,0 aA	81,0 bC	86,5 bB	84,5 bB
G16	99,5 aA	86,0 bB	89,5 bA	84,0 bB
G17	94,5 aA	89,0 aB	82,5 bC	82,0 bB
G18	86,0 aB	87,5 aB	78,0 bC	84,5 aB
G19	98,0 aA	85,5 bB	86,5 bB	82,5 bB
G20	96,0 aA	82,5 bC	96,0 aA	82,5 bB
G21	96,5 aA	88,5 bB	90,0 bA	81,5 cB
G22	98,5 aA	89,5 bB	87,5 bB	82,5 cB
G23	95,0 aA	85,5 bB	91,5 aA	87,5 bA
G24	97,0 aA	80,5 bC	84,2 bB	82,5 bB
G25	99,0 aA	92,5 bA	92,0 bA	88,5 bA
G26	91,0 aA	93,5 aA	88,0 aB	86,5 aA
G27	94,5 aA	86,0 bB	87,5 bB	93,5 aA
G28	83,5 bB	88,5 bB	95,5 aA	86,0 bA
G29	98,0 aA	92,5 bA	91,0 bA	79,5 cB
G30	93,0 aA	95,5 aA	89,5 bA	86,5 bA
G31	90,0 aA	96,0 aA	91,0 aA	91,5 aA
G32	95,0 aA	88,5 aB	91,5 aA	90,5 aA

Letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott à 5% de probabilidade.
Fonte: Elaborado pela própria autora.

Os genótipos G11, G13, G16, G20, G21 e G23 apresentaram melhores porcentagem de GERM nas posições P1 e P3. O genótipo G26 apresentou a melhor porcentagem de GERM na

posição P2. O genótipo G27 apresentou as melhores porcentagens de GERM nas posições P1 e P4. O genótipo G31 apresentou a melhor porcentagem de GERM nas posições P2, P3 e P4. E o genótipo G32 apresentou a melhor porcentagem de GERM nas posições P1, P3 e P4.

Não houve diferença estatística entre os genótipos em relação a porcentagem de GERM na posição P1, com exceção dos genótipos G18 e G28. Na posição P2, os genótipos G1, G2, G4, G5, G6, G7, G8, G9, G10, G12, G25, G26, G29, G30 e G31 presentaram as maiores porcentagens de GERM. Na posição P3, somente os genótipos G15, G17, G18, G19, G22, G24, G26 e G27 não apresentaram boas porcentagens de GERM para essa posição. E, na posição P4, os genótipos G2, G3, G4, G6, G8, G9, G23, G25, G26, G27, G28, G30, G31 e G32 apresentaram as maiores porcentagens de GERM.

No desdobramento da variável TZVG, observa-se que, com exceção dos genótipos G4, G5, G7, G10, G18, G19, G25 e G28, os demais genótipos apresentaram as maiores porcentagens de TZVG quando na posição P1 (Tabela 5). Os genótipos G4, G5 e G7 apresentam as maiores porcentagens de TZVG nas posições P1 e P2 Os genótipos G10 e G19 não apresentaram diferença estatística em relação as posições do legume na planta para a variável TZVG. O genótipo G18 apresentou as maiores porcentagens de TZVG nas posições P2 e P4. E o genótipo G25 apresentou as melhores porcentagens de TZVG nas posições P1 e P4.

Tabela 5 - Desdobramento da interação entre genótipo e posições do legume na planta para a variável fisiológica de sementes porcentagem de tetrazólio vigor (TZVG), durante duas safras em Chapadão do Sul/MS.

Genótipo	Posição 1	Posição 2	Posição 3	Posição 4
G1	93,0 aA	71,5 bA	67,0 bA	58,5 cB
G2	88,5 aA	61,0 bB	69,5 bA	60,5 bB
G3	85,5 aA	70,5 bA	70,0 bA	58,0 cB
G4	85,0 aA	87,5 aA	67,4 bA	72,5 bB
G5	85,0 aA	78,5 aA	68,0 bA	67,0 bB
G6	89,0 aA	75,5 bA	73,5 bA	72,0 bA
G7	83,0 aA	77,0 aA	63,0 bB	70,5 bA
G8	83,0 aA	72,5 bA	63,0 bB	67,0 bA
G9	82,0 aA	68,0 bB	67,0 bA	72,0 bA
G10	75,0 aB	65,5 aB	65,0 aA	70,5 aA
G11	86,0 aA	68,5 bB	66,5 bA	68,0 bA
G12	83,5 aA	65,5 bB	68,0 bA	67,0 bA
G13	89,5 aA	67,0 bB	66,0 bA	68,0 bA
G14	84,0 aA	73,5 bA	68,5 bA	68,5 bA
G15	92,0 aA	60,5 bB	68,5 bA	61,0 bB
G16	87,0 aA	70,5 bA	71,0 bA	70,5 bA
G17	92,5 aA	58,0 bB	57,0 bB	64,5 bB
G18	54,0 cC	71,0 aA	57,5 bB	69,5 aA
G19	73,0 aB	63,0 aB	61,5 aB	66,0 aA
G20	85,5 aA	68,0 bB	64,0 bB	59,0 bB
G21	89,0 aA	70,5 bA	66,5 bA	57,5 cB
G22	90,5 aA	71,5 bA	68,5 bA	71,0 bA
G23	82,0 aA	74,0 bA	70,5 bA	69,0 bA
G24	76,5 aB	64,5 bB	67,5 bA	65,0 bA
G25	71,0 aA	64,0 bB	58,5 bB	70,5 aA
G26	76,0 aB	67,0 bB	57,5 bB	62,5 bB
G27	87,0 aA	67,5 bB	68,0 bA	72,0 bA
G28	54,0 bC	61,0 bB	75,5 aA	57,5 bB
G29	85,0 aA	67,0 bB	68,0 bA	65,5 bA
G30	85,0 aA	64,0 bB	67,0 bA	64,0 bB
G31	85,0 aA	74,5 bA	66,0 bA	75,5 bA
G32	84,5 aA	62,5 bB	64,0 bB	72,0 bA

Letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott à 5% de probabilidade.
Fonte: Elaborado pela própria autora.

Em relação as posições do legume na planta, os genótipos G10, G18, G19, G24, G26 e G28 foram os únicos que não apresentaram boas porcentagens de TZVG na posição P1. Na posição P2, os genótipos G1, G3, G4, G5, G6, G7, G8, G14, G16, G18, G21, G22, G23 e G31 apresentaram os melhores valores de TZVG. Na posição P3, os genótipos G7, G8, G17, G18, G19, G20, G25, G26 e G32 apresentaram as piores porcentagens de TZVG, diferindo dos demais. E, na posição P4, os genótipos G1, G2, G3, G4, G5, G15, G17, G20, G21, G26, G28 e G30 diferiram dos outros genótipos por apresentar os piores valores de TZVG.

No desdobramento da variável TZVB em relação ao comportamento dos genótipos, observa-se que os genótipos G1, G2, G6, G9, G14, G15, G16, G23, G24 e G26 apresentaram as maiores porcentagens de TZVB quando na posição P1 (Tabela 6). Os genótipos G4, G5, G7, G8, G12, G13, G17, G20, G21, G22, G25, G27, G29 e G31 não apresentaram diferença em TZVB em relação as posições estudadas.

Tabela 6 - Desdobramento da interação entre genótipo e posições do legume na planta para a variável fisiológica de sementes porcentagem de tetrazólio viabilidade (TZVB), durante duas safras em Chapadão do Sul/MS.

Genótipo	Posição 1	Posição 2	Posição 3	Posição 4
G1	98,0 aA	91,0 bB	89,5 bA	81,5 cA
G2	97,5 aA	84,5 bB	88,5 bA	83,5 bA
G3	95,0 aA	86,5 bB	86,5 bA	85,0 bA
G4	96,0 aA	96,0 aA	91,5 aA	89,5 aA
G5	97,5 aA	90,5 aB	94,0 aA	89,5 aA
G6	99,0 aA	94,5 bA	91,5 bA	90,0 bA
G7	94,0 aA	92,5 aA	96,5 aA	88,5 aA
G8	96,0 aA	93,0 aA	94,0 aA	93,0 aA
G9	99,0 aA	86,0 bB	96,5 aA	92,0 bA
G10	98,0 aA	85,5 bB	93,5 aA	91,5 aA
G11	98,0 aA	90,5 bB	97,0 aA	86,5 bA
G12	91,5 aA	90,0 aB	89,5 aA	87,5 aA
G13	91,5 aA	87,5 aB	91,5 aA	89,0 aA
G14	99,0 aA	89,0 bB	93,0 bA	88,5 bA
G15	96,5 aA	89,5 bB	91,5 bA	87,5 bA
G16	98,5 aA	92,5 bA	93,0 bA	90,5 bA
G17	95,5 aA	88,0 aB	93,0 aA	93,5 aA
G18	70,0 bB	88,5 aB	93,0 aA	91,0 aA
G19	98,0 aA	84,5 bB	93,0 aA	90,0 bA
G20	95,0 aA	89,5 aB	87,5 aA	88,0 aA
G21	91,5 aA	91,0 aB	93,5 aA	88,0 aA
G22	93,0 aA	90,0 aB	87,5 aA	89,5 aA
G23	97,0 aA	90,0 bB	90,0 bA	90,5 bA
G24	96,5 aA	88,0 bB	89,0 bA	89,0 bA
G25	96,0 aA	93,0 aA	89,5 aA	93,5 aA
G26	98,0 aA	89,0 bB	91,0 bA	87,5 bA
G27	94,5 aA	91,5 aA	89,0 aA	90,5 aA
G28	67,5 bB	90,0 aB	91,0 aA	87,5 aA
G29	95,0 aA	90,5 aB	90,5 aA	88,5 aA
G30	96,0 aA	96,5 aA	88,5 bA	86,5 bA
G31	94,0 aA	95,0 aA	90,5 aA	89,0 aA
G32	95,5 aA	93,5 aA	88,5 bA	88,5 bA

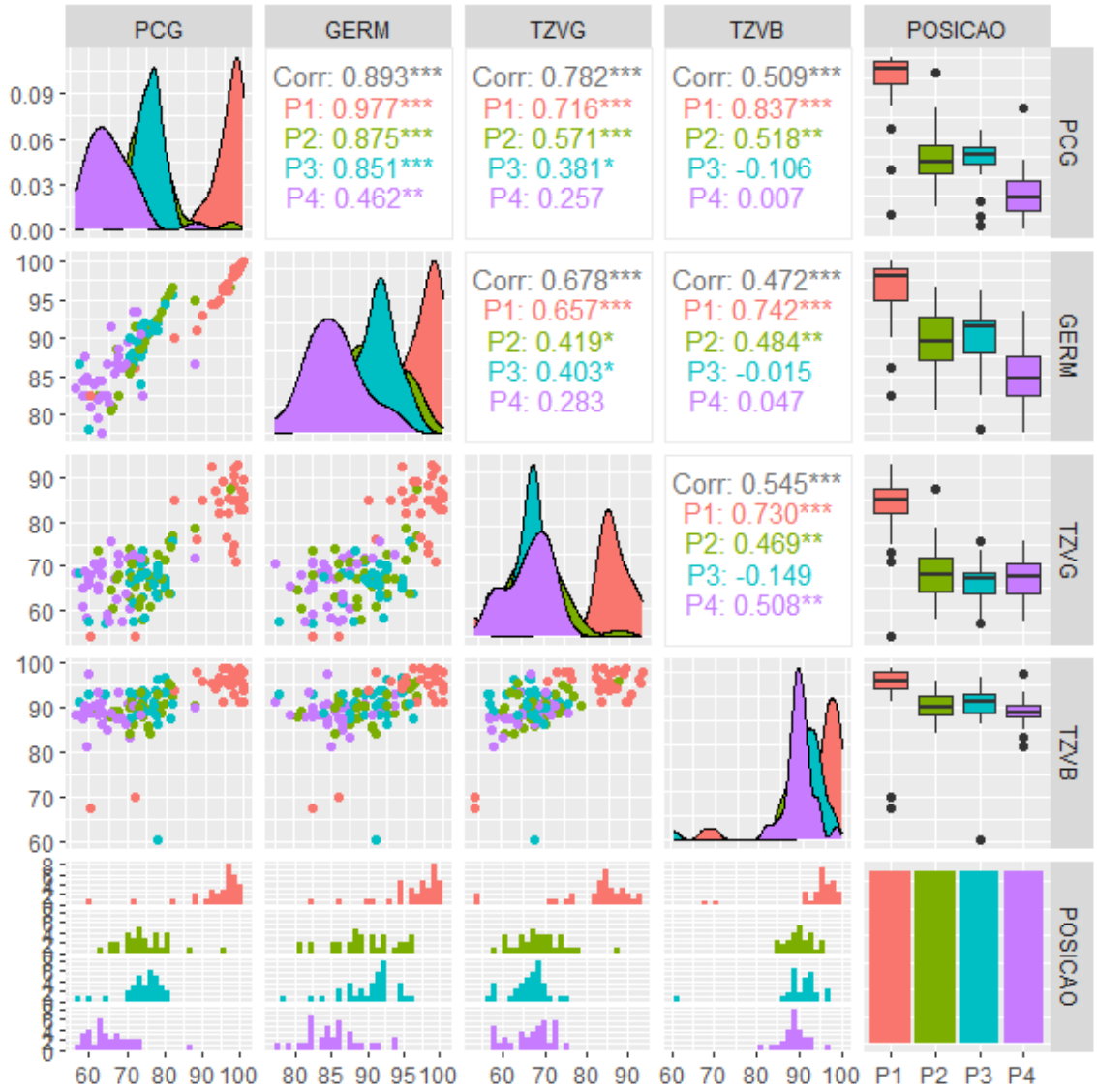
Letras iguais, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott à 5% de probabilidade.
Fonte: Elaborado pela própria autora.

O genótipo G10 apresentou os melhores valores de TZVB quando nas posições P1, P3 e P4. As posições P1 e P3 proporcionaram os melhores valores de TZVB para o genótipo G11. Os genótipos G18 e G28 apresentaram melhores porcentagens de TZVB nas posições P2, P3 e P4. E as posições P1 e P2 apresentaram os melhores valores de TZVB para os genótipos G30 e G32.

Em relação as posições do legume na planta, observou-se que os genótipos G18 e G28 foram os únicos que diferiram dos demais em relação a porcentagem de TZVB, com valores de 70 e 67%, respectivamente. Na posição P2, os genótipos G4, G6, G7, G8, G16, G25, G27, G30, G31 e G32 apresentaram os melhores valores de TZVB. As posições P3 e P4 não apresentaram diferença estatística em relação aos genótipos estudados.

O gráfico de correlação e dispersão entre as posições do legume na planta e as variáveis fisiológicas de sementes estudadas apresenta que a variável PCG detém alta correlação com as variáveis GERM nas posições P1 (0.9), P2 (0.8) e P3 (0.8), TZVG nas posições P1 (0.7) e P2 (0.5), e TZVB nas posições P1 (0.8) e P2 (0.5) (Figura 2). A variável GERM apresenta correlação com TZVG nas posições P1, P2 e P3, com valores de 0.6, 0.4 e 0.4 na devida ordem, e correlação com TZVG para as posições P1 e P2 com valores de 0.7 e 0.4, respectivamente. Já a variável TZVG apresenta alta correlação com TZVB na posição P1 e P2, com valores de 0.7 e 0.4, de modo respectivo.

Figura 2 - Gráfico de correlações e dispersão entre as posições do legume na planta e as variáveis primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GERM), tetrazólio vigor (TZVG) e tetrazólio viabilidade (TZVB) de 32 genótipos estudados durante duas safras em Chapadão do Sul/MS.



Correlações seguidas por ***, ** e *, apresentam respectivamente significância de 0,1, 1 e 5% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pela própria autora.

No estudo de como as posições do legume na planta influencia as variáveis fisiológicas de sementes, foi possível observar que a posição P1 foi responsável pelos melhores resultados para as variáveis estudadas, com exceção do genótipo G18 e G28. Esse resultado indica que os legumes da primeira posição geram sementes com maior capacidade de germinar e de gerar plântulas normais. Porém, os genótipos ainda se encontram em processo de melhoramento e

assim, não apresentam estabilidade. Todavia, os resultados encontrados evidenciam a relação das posições do legume na planta com as variáveis fisiológicas de sementes.

4 DISCUSSÃO

A interação significativa entre posições do legume e genótipos (Tabela 2) indica que as posições do legume na planta aliada ao genótipo, influencia as variáveis fisiológicas de sementes. A semente de soja é composta por proteínas, lipídeos, açúcar, ácido fítico e outros componentes químicos que são influenciados pelo genótipo e ambiente de cultivo (DANG et al., 2023). Todavia, a avaliação da qualidade das sementes ocorre através de dois parâmetros fundamentais, a viabilidade e o vigor, que governam a capacidade teórica das sementes expressarem suas funções vitais em condições favoráveis e desfavoráveis (MARCOS-FILHO, 2015). A viabilidade das sementes é definida como a capacidade da semente germinar, quando todas as suas exigências em umidade e temperatura são supridas, enquanto o vigor se refere a habilidade da semente germinar e gerar plântulas normais rapidamente em condições ambientais adversas (XIA et al., 2019).

A viabilidade e vigor se encontram em sua máxima capacidade quando a semente se encontra em maturidade fisiológica, momento em que deixa de receber fotoassimilados da planta-mãe e se encontra pronta para ser colhida e realizar suas funções. Durante o desenvolvimento do legume e da semente, grande parte dos fotoassimilados produzidos são direcionados para sua formação e enchimento, sendo as perdas no rendimento diretamente relacionadas com a diminuição no desempenho fotossintético (SOBA; ARRESE-IGOR; ARANJUELO, 2022). A produção da soja é limitada por vários fatores abióticos, como temperatura, precipitação e luminosidade (OSTMEYER et al., 2020). Dentre esses fatores, a luminosidade está diretamente relacionada com a capacidade fotossintética, de forma que, os locais onde a semente se encontra, influenciam o recebimento fotossintético e quando em baixo desempenho fotossintético, ocorre má síntese e translocação de assimilados para sementes de soja (LI et al., 2014).

Os genótipos de soja apresentam maior porcentagem de primeira contagem de germinação (PCG) quando na posição P1, mesmo quando compartilham os melhores resultados com outras posições (Tabela 3). As folhas têm um papel primordial na produção e transporte de fotoassimilados para as sementes (ZANDALINAS et al., 2018). A radiação fotossinteticamente ativa interceptada e o índice de área foliar são parâmetros utilizados para

estimar o crescimento da cultura, englobando o período de desenvolvimento de nós e gemas axilares, onde flores são formadas, dando origem a legumes e sementes (BIANCHI et al., 2020). O desempenho da atividade fotossintética é dependente da luminosidade que, quando em condição de sombra, pode resultar em declínio da taxa fotossintética e área foliar (FAN et al., 2019). Logo, entende-se que os legumes que se encontravam na posição P1, foram as primeiras formadas pela planta e mesmo em condição de sombreamento pelas outras folhas, por serem as primeiras formadas, receberam maior carga de fotoassimilados e assim, geraram sementes mais vigorosas. Ainda em relação a PCG, observa-se que as posições P1 e P3 promoveram melhores resultados para os genótipos estudados, indicando que os legumes formadas nessas posições são mais vigorosas em comparação com as demais posições. Esse resultado pode ser relacionado ao fato dos legumes na posição P3 receberem maior quantidade de luz direta, enquanto as folhas da posição P1, por conta do sombreamento, são folhas mais finas que aquelas sob luz normal, todavia tem mais chances de interceptar luz do que as folhas mais grossas, mesmo gerando a desvantagem de apresentar cloroplastos menores e menor fixação de CO_2 (LI et al., 2014). Além disso, os legumes da posição P1 apresentam o benefício de serem as primeiras desenvolvidas e assim, receberam maior quantidade de fotoassimilados pelo seu papel inicial de dreno, enquanto as sementes da posição P3 apresentam vigor pela deposição da fotossíntese das folhas dessa posição.

Em relação a germinação (GERM), observa-se que as sementes oriundas da posição P1 apresentam melhores valores para essa variável, diferindo das demais posições (Tabela 4). As plantas de soja podem apresentar hábito de crescimento determinado, com característica de folhas maiores em toda planta, e indeterminado, com folhas menores na parte superior e maiores na parte mediana e inferior, característica que influencia a captação de luz solar, fotossíntese e disponibilidade de fotoassimilados (WERNER et al., 2016). Além da influência na captação de luz solar, a arquitetura das plantas pode influenciar a quantidade de luz que está sendo captada, uma vez que folhas pequenas no terço superior permitem maior penetração de luz nos terços inferiores, que por possuírem maiores áreas foliares tem maior contato com a luz (GAO et al., 2022). As posições P1 e P3 apresentaram os melhores resultados para GERM em relação aos genótipos estudados, podendo esse resultado ser atribuído ao fato de que os genótipos eram de crescimento indeterminado e assim, as ramificações laterais podem ter contribuído para a maior captação de luz e taxa fotossintética, contribuindo para que maior quantidade de assimilados fossem transferidos para as sementes (BIANCHI et al., 2020).

Os genótipos de soja apresentaram maiores porcentagens de tetrazólio vigor (TZVG) quando na posição P1 (Tabela 5), com exceção dos genótipos G18 e G28, este último que

também não apresentou os melhores resultados nesta posição para as variáveis anteriormente estudadas. Porém, por se tratar de materiais em fase de melhoramento, com progenitores diferentes, as variações apresentadas são esperadas, decorrente da herança genética (ROSSI; CAVARIANI; FRANÇA-NETO, 2017). O TZVG é parte de um teste que visa apresentar a capacidade teórica das sementes realizarem sua função de germinar e perpetuar a espécie e, tais resultados precisam estar alinhados com os apresentados pelo PCG (Tabela 3), uma vez que ambos buscam elucidar o vigor apresentado pelas sementes, mas o PCG a capacidade prática. Dessa forma, observa-se que as posições P1, P3 e P4 apresentaram melhores resultados em relação a TZVG e semelhantes aos encontrados em PCG. O crescimento e desenvolvimento da soja são resultados da coordenação e promoção mútua das funções morfológicas, onde o aumento da biomassa dos legumes se eleva nos estágios reprodutivos pela maior translocação de produtos fotossintéticos para as sementes (LIAO et al., 2022). Ao observar que a posição P1 corresponde ao estádio vegetativo R4, com legumes de 2 cm em um dos quatro últimos nós da haste principal e folha completamente desenvolvida, entende-se que, pelos resultados obtidos em relação a qualidade de sementes, neste estádio as plantas se encontravam com máximo desempenho fotossintético e translocação, contribuindo a divisão celular e enchimento de legumes e grãos (SOBA; ARRESE-IGOR; ARANJUELO, 2022).

Em relação a variável tetrazólio viabilidade (TZVB), a maior parte dos genótipos não apresentaram diferença estatística em relação a posição do legume na planta, onde apenas parte deles se destacaram na posição P1 (Tabela 6). Esse resultado indica que para essa variável, o local onde o legume se encontra na planta não exerce influência em sua capacidade teórica de germinar. A deposição de moléculas resultantes da fotossíntese cessa quando as sementes alcançam maturidade fisiológica, porém, sementes com altas taxas de vigor e viabilidade são consequências do que a planta-mãe foi submetida em campo, incluindo fatores de ordem biótica e abiótica (PELISSARI; COIMBRA, 2023).

No gráfico de correlação e dispersão é possível observar que a variável PCG apresenta correlação com GERM, TZVG e TZVB (Figura 2). A variável GERM apresenta correlação com TZVG e TZVB, enquanto a variável TZVG apresenta correlação com a variável TZVB. As correlações encontradas entre as variáveis estão relacionadas as posições P1 e P2, com exceção da PCG e GERM com correlação na posição P3. As correlações encontradas são esperadas, uma vez que PCG e GERM são variáveis obtidas em teste realizado de forma conjunta e TZVG avalia o vigor da mesma forma que PCG, enquanto a viabilidade é estimada através de GERM e TZVB. Porém, a resposta obtida em relação a posição que o legume se encontrava na planta evidencia que a maturidade fisiológica das sementes é encontrada

precocemente nos locais onde as primeiros legumes foram formadas. As sementes de soja são formadas por 40% de proteínas, 21% de óleo de 39% de compostos como carboidratos, que podem sofrer alterações e resultar em implicações na qualidade das sementes, uma vez que a síntese de proteínas depende da mobilização de nitrogênio após a senescência foliar, e de carboidratos e lipídios da integridade do sistema fotossintético (TAMAGNO et al., 2022).O acúmulo de reservas pela semente segue três fases, com fase inicial de rápida divisão celular e diferenciação tecidual, fase de enchimento efetivo e fase de maturação, porém a fase inicial e final se diferem apenas em relação as frações químicas, com deposição de carboidratos, proteínas e lipídios (BEWLEY; BLACK, 2013; POETA et al., 2014). O padrão de deposição de reservas é alterado de acordo com o genótipo utilizado, estresse hídrico, e manipulações fonte-dreno durante o enchimento de grãos, que são fatores determinante para a obtenção de sementes de qualidade (TAMAGNO et al., 2022). Dessa forma, é possível inferir que o padrão de deposição é resultado do genótipo que está sendo utilizado, todavia, o recebimento das reservas ocorre conforme os legumes e sementes são formadas. Sendo assim, os legumes formadas na primeira posição (P1) recebem fotoassimilados de forma exclusiva, até a formação de novos legumes e sementes, explicando sua melhor qualidade fisiológica e assim, melhores resultados nos testes utilizados para avaliação.

Diante do exposto, é possível observar que a posição do legume na planta exerce influência na qualidade fisiológica das sementes que estão sendo formadas, especialmente no que se refere ao vigor. Perspectivas futuras para o assunto se baseiam na possibilidade de quantificar os componentes presentes nas sementes e expor sua relação com a deposição de fotoassimilados pela planta-mãe, assim como obter os principais elementos químicos que regem o vigor e a viabilidade de sementes de soja.

5 CONCLUSÃO

As posições do legume na planta de soja influenciam a qualidade fisiológicas das sementes de soja.

De forma geral, a posição P1, quando as plantas se encontram em estádio reprodutivo R4, com legumes de 2 cm, completamente desenvolvidas e em um dos quatro últimos nós do caule, são as responsáveis pelos melhores resultados nos testes de qualidade fisiológica de sementes para a maioria dos genótipos de soja avaliados.

REFERÊNCIAS

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. [s.l.] : Springer Science & Business Media, 2013.

BIANCHI, J. S.; QUIJANO, A.; GOSPARINI, C. O.; MORANDI, E. N. Changes in leaflet shape and seeds per pod modify crop growth parameters, canopy light environment, and yield components in soybean. **Crop Journal**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 351–364, 2020.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, P. e Abastecimento. S. de D. A. **Regras para análise de sementes**. [s.l: s.n.].

DANG, Y.; REN, J.; GUO, Y.; YANG, Q.; LIANG, J.; LI, R.; ZHANG, R.; YANG, P.; GAO, X.; DU, S. kui. Structural, functional properties of protein and characteristics of tofu from small-seeded soybeans grown in the Loess Plateau of China. **Food Chemistry: X**, [s. l.], v. 18, 2023.

EBONE, L. A.; CAVERZAN, A.; TAGLIARI, A.; CHIOMENTO, J. L. T.; SILVEIRA, D. C.; CHAVARRIA, G. Soybean seed vigor: Uniformity and growth as key factors to improve yield. **Agronomy**, [s. l.], v. 10, n. 4, 2020.

FAN, Y.; CHEN, J.; WANG, Z.; TAN, T.; LI, S.; LI, J.; WANG, B.; ZHANG, J.; CHENG, Y.; WU, X.; YANG, W.; YANG, F. Soybean (Glycine max L. Merr.) seedlings response to shading: leaf structure, photosynthesis and proteomic analysis. **BMC Plant Biology**, [s. l.], v. 19, n. 1, 2019.

FERREIRA, D. F. Sisvar: um guia dos seus procedimentos de comparações múltiplas Bootstrap. **Ciência e Agrotecnologia**, [s. l.], v. 38, p. 109–112, 2014.

GAO, H. wei; SUN, R. jian; YANG, M. yuan; YAN, L.; HU, X. zhong; FU, G. hui; HONG, H. long; GUO, B. fu; ZHANG, X.; LIU, L. ke; ZHANG, S. zhen; QIU, L. juan. Characterization of the petiole length in soybean compact architecture mutant M657 and the breeding of new lines. **Journal of Integrative Agriculture**, [s. l.], v. 21, n. 9, p. 2508–2520, 2022.

GAO, J.; CHEN, J.; LEI, Y.; WANG, Q.; ZOU, J.; NING, Z.; TAN, X.; YANG, F.; YANG, W. Functional consequences of light intensity on soybean leaf hydraulic conductance: Coordinated variations in leaf venation architecture and mesophyll structure. **Environmental and Experimental Botany**, [s. l.], v. 210, 2023.

JUMRANI, K.; BHATIA, V. S. Impact of combined stress of high temperature and water deficit on growth and seed yield of soybean. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, [s. l.], v. 24, n. 1, p. 37–50, 2018.

LIAO, Z.; ZENG, H.; FAN, J.; LAI, Z.; ZHANG, C.; ZHANG, F.; WANG, H.; CHENG, M.; GUO, J.; LI, Z.; WU, P. Effects of plant density, nitrogen rate and supplemental irrigation on photosynthesis, root growth, seed yield and water-nitrogen use efficiency of soybean under ridge-furrow plastic mulching. **Agricultural Water Management**, [s. l.], v. 268, 2022.

LI, T.; LIU, L.-N.; JIANG, C.-D.; LIU, Y.-J.; SHI, L. Effects of mutual shading on the regulation of photosynthesis in field-grown sorghum. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, [s. l.], v. 137, p. 31–38, 2014.

MARCOS FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia agricola**, [s. l.], v. 72, p. 363–374, 2015.

MASINO, A.; RUGERONI, P.; BORRÁS, L.; ROTUNDO, J. L. Spatial and temporal plant-to-plant variability effects on soybean yield. **European Journal of Agronomy**, [s. l.], v. 98, p. 14–24, 2018.

MERTZ-HENNING, L. M.; FERREIRA, L. C.; HENNING, F. A.; MANDARINO, J. M. G.; SANTOS, E. D.; OLIVEIRA, M. C. N. D.; NEPOMUCENO, A. L.; FARIAS, J. R. B.; NEUMAIER, N. Effect of water deficit-induced at vegetative and reproductive stages on protein and oil content in soybean grains. **Agronomy**, [s. l.], v. 8, n. 1, 2018.

OLIVEIRA JUNIOR, A. De; CASTRO, C. De; PEREIRA, L. R.; DOMINGOS, C. da S. Estádios fenológicos e marcha de absorção de nutrientes da soja. [s. l.], 2016.

OSTMEYER, T.; PARKER, N.; JAENISCH, B.; ALKOTAMI, L.; BUSTAMANTE, C.; JAGADISH, S. V. K. **Impacts of heat, drought, and their interaction with nutrients on physiology, grain yield, and quality in field crops**, Springer, 2020.

PELISSARI, F.; COIMBRA, R. de A. Sementes de soja esverdeadas: causas e consequências na qualidade fisiológica. **Scientific Electronic Archives**, [s. l.], v. 16, n. 4, 2023.

POETA, F. B.; ROTUNDO, J. L.; BORRÁS, L.; WESTGATE, M. E. Seed water concentration and accumulation of protein and oil in soybean seeds. **Crop Science**, [s. l.], v. 54, n. 6, p. 2752–2759, 2014.

R CORE TEAM, R. R: A language and environment for statistical computing. [s. l.], 2013.

ROSSI, R. F.; CAVARIANI, C.; FRANÇA-NETO, J. de B. Vigor de sementes, população de plantas e desempenho agronômico de soja. **Revista de Ciências Agrarias - Amazon Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, [s. l.], v. 60, n. 3, p. 215–222, 2017.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. **A Cluster Analysis Method for Grouping Means in the Analysis of Variance**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <http://www.jstor.orgURL:http://www.jstor.org/stable/2529204Accessed:30/04/200815:58>.

SOBA, D.; ARRESE-IGOR, C.; ARANJUELO, I. Additive effects of heatwave and water stresses on soybean seed yield is caused by impaired carbon assimilation at pod formation but not at flowering. **Plant Science**, [s. l.], v. 321, 2022.

TAMAGNO, S.; SADRAS, V. O.; AZNAR-MORENO, J. A.; DURRETT, T. P.; CIAMPITTI, I. A. Selection for yield shifted the proportion of oil and protein in favor of low-energy seed fractions in soybean. **Field Crops Research**, [s. l.], v. 279, 2022.

WEN, D.; HOU, H.; MENG, A.; MENG, J.; XIE, L.; ZHANG, C. Rapid evaluation of seed vigor by the absolute content of protein in seed within the same crop. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 8, n. 1, 2018.

WERNER, F.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; FERREIRA, A. S.; E SILVA, M. A. de A.; DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C. Soybean growth affected by seeding rate and mineral nitrogen. **Revista Brasileira de Engenharia Agricola e Ambiental**, [s. l.], v. 20, n. 8, p. 734–738, 2016.

WIJEWARDANA, C.; REDDY, K. R.; BELLALOUI, N. Soybean seed physiology, quality, and chemical composition under soil moisture stress. **Food Chemistry**, [s. l.], v. 278, p. 92–100, 2019.

XIA, Y.; XU, Y.; LI, J.; ZHANG, C.; FAN, S. Recent advances in emerging techniques for non-destructive detection of seed viability: A review. **Artificial Intelligence in Agriculture**, [s. l.], v. 1, p. 35–47, 2019.

ZANDALINAS, S. I.; MITTLER, R.; BALFAGÓN, D.; ARBONA, V.; GÓMEZ-CADENAS, A. **Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures**, Blackwell Publishing Ltd, 2018.

ZHANG, T.; LU, L.; YANG, N.; FISK, I. D.; WEI, W.; WANG, L.; LI, J.; SUN, Q.; ZENG, R. Integration of hyperspectral imaging, non-targeted metabolomics and machine learning for vigour prediction of naturally and accelerated aged sweetcorn seeds. **Food Control**, [s. l.], p. 109930, 2023.

CAPÍTULO 2 – CLASSIFICAÇÃO DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA USANDO SENSOR HIPERESPECTRAL E APRENDIZAGEM DE MÁQUINA

RESUMO

A utilização de sensores hiperespectrais na classificação de genótipos de soja quanto relação a reflectância apresentada por sementes de qualidade fisiológica distintas pode ser uma abordagem promissora. Quando aliada a algoritmos de aprendizado de máquina, podem substituir os testes tradicionais realizados com precisão e eficiência. O objetivo deste trabalho foi avaliar a classificação de genótipos de soja em relação a qualidade fisiológica de sementes através da reflectância hiperespectral e algoritmos de aprendizado de máquina. O experimento foi realizado utilizando delineamento em blocos casualizados com quatro repetições e 32 populações de soja do Programa de Melhoramento da UFMS/CPCS. As amostras de sementes de cada unidade experimental foram acondicionadas em uma placa de petri, resultando em uma camada de 10 mm de sementes para coleta dos dados espectrais e captura da reflectância entre os comprimentos de onda 450 e 824 nm, utilizando o sensor Ocean Optics. A análise da qualidade fisiológica das sementes ocorreu através da realização dos testes de germinação, primeira contagem de germinação, condutividade elétrica e tetrazólio. Os dados foram submetidos à análise de componentes principais associada ao algoritmo k-means. Posteriormente os dados foram submetidos as análises de aprendizagem de máquina, utilizando os clusters como variáveis de saída e as variáveis espectrais como entrada dos modelos. Os modelos de aprendizagem de máquina testados foram Redes neurais artificiais, Árvores de decisão J48, Regressão logística, REPTree, Floresta aleatória e Máquina de vetor suporte. Nas avaliações quanto ao desempenho dos modelos de classificação utilizados foram usadas as métricas de porcentagem de classificações corretas (CC), Kappa e F-score. Os resultados encontrados neste trabalho evidenciam que os genótipos de soja podem ser classificados em relação a qualidade fisiológica de sementes utilizando reflectância hiperespectral e aprendizado de máquina. Os comprimentos de onda entre 541 e 650 nm podem ser utilizados na distinção de sementes com qualidade fisiológica superior e inferior. A utilização do algoritmo RF possibilita a classificação dos genótipos de soja com maior acurácia, independente do input utilizado.

Palavras-chave: Bandas espectrais. Floresta aleatória. Inteligência artificial. Sementes de soja.

1 INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max*) é amplamente utilizada como fonte de nutrientes para humanos e animais, por sua constituição proteica e lipídica (SHI et al., 2022). Os recordes de produtividade e expansão da cultura são alcançados através do melhoramento genético e consequentemente, da propagação de plantas, realizada por meio de sementes (CHEN et al., 2022). Os genótipos e os ambientes causam variações na composição e no rendimento das sementes, resultando em variações na qualidade fisiológica apresentada (TAMAGNO et al., 2022).

A utilização de sementes de qualidade genética, física, fisiológica e sanitária constitui papel fundamental para o sucesso do cultivo (MENEGUZZO et al., 2021). Dentro dos atributos fisiológicos, a mensuração da qualidade de sementes envolve a utilização de testes de germinação e vigor. A germinação das sementes é uma etapa crítica para o sucesso do estabelecimento, crescimento e desenvolvimento das plantas a campo (MANGENA, 2021). Já o vigor, refere-se à capacidade das sementes de gerar plântulas normais rápida e uniformemente, mesmo em condições desfavoráveis de ambiente e armazenamento (MARCOS FILHO, 2015). Porém, os testes utilizados para analisar a qualidade das sementes são onerosos, destrutivos e subjetivos, sendo necessário experiência por parte do avaliador e levando dias para sua execução e assim, obtenção de resultados.

Os avanços tecnológicos aplicados à agricultura possibilitam a utilização de sensores hiperespectrais para a mensuração de diferentes características de forma rápida e não destrutiva (GUO et al., 2023). A utilização de dados hiperespectrais como a reflectância, permite captar informações pelos comprimentos de onda detectados pelo sensor (VOLLMANN et al., 2022). A utilização da reflectância foi relatada na discriminação de cultivares (Silva Junior et al., 2018), monitoramento do estado nutricional das plantas (SANTANA et al., 2021) e seleção de genótipos com características de interesse (ANDRADE et al., 2021). Assim, a utilização da reflectância na discriminação de genótipos em relação a qualidade fisiológica de sementes mostra-se uma abordagem promissora para obtenção de informações confiáveis e rápidas.

O uso de sensores hiperespectrais aliado a técnicas de inteligência computacional como aprendizagem de máquina, permite o processamento dos dados, evidenciando informações que contribuem no processo de tomada de decisão na seleção de genótipos e no avanço do melhoramento de plantas de forma tecnológica e confiável (SANTANA et al., 2022). A classificação é uma das funcionalidades dos algoritmos de aprendizagem de máquina, em que o algoritmo aprende um modelo de classificação em determinado conjunto de dados (KARAKATIČ; PODGORELEC, 2016). Todavia, cada algoritmo de aprendizado de máquina

apresenta um desempenho distinto com o conjunto de dados, o que leva a necessidade de testar diferentes algoritmos para encontrar o melhor classificador (SANTANA et al., 2023).

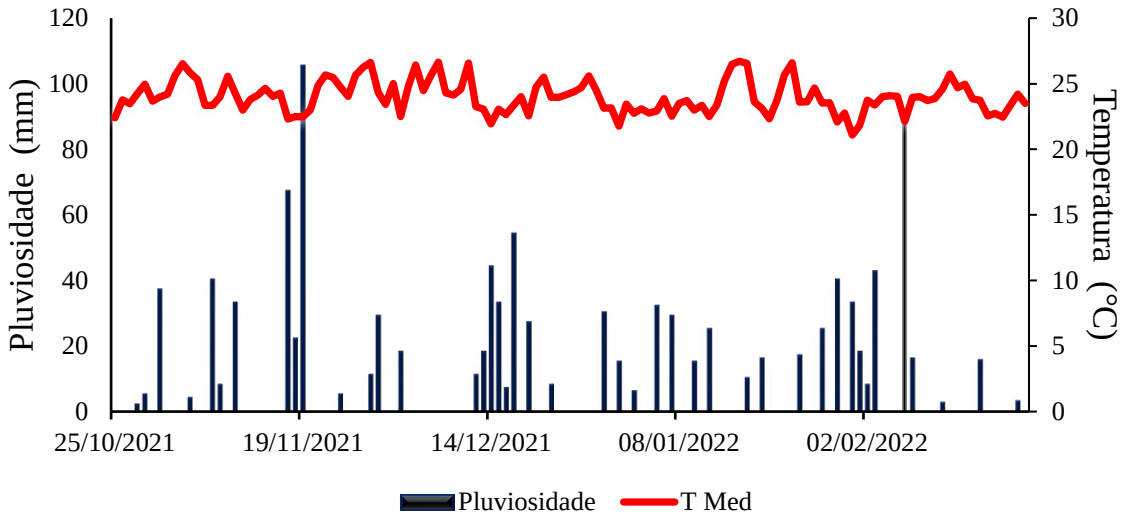
Essa pesquisa teve como hipótese que a utilização de sensores hiperespectrais na classificação de genótipos de soja em relação a reflectância apresentada por sementes de qualidade fisiológica distintas, aliada a algoritmos de aprendizado de máquina, podem complementar e futuramente substituir os testes tradicionais realizados, com precisão e eficiência. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a classificação de genótipos de soja em relação a qualidade fisiológica de sementes através da reflectância hiperespectral e algoritmos de aprendizado de máquina.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO A CAMPO

A condução do experimento foi realizada na safra 2021/22 na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, campus Chapadão do Sul (18°41’33’’S, 52°40’45’’W, com 810 m de altitude). O clima da região é Tropical de Savana (Aw) e solo classificado como Latossolo Vermelho Distrófico Argiloso, com as seguintes características na camada de 0 – 0,20 m: pH (H_2O) = 6,2; Al trocável (cmolc dm^{-3}) = 0,0; Ca+Mg (cmolc dm^{-3}) = 4,31; P (mg dm-^{3}) = 41,3; K (cmolc dm^{-3}) = 0,2; Matéria orgânica (g dm^{-3}) = 19,74; V (%) = 45; m (%) = 0,0; Soma de bases (cmolc dm^{-3}) = 2,3; CTC (cmolc dm^{-3}) = 5,1. A Figura 1 apresenta o gráfico de precipitação e pluviosidade da safra 2021/22 na área experimental da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, campus Chapadão do Sul.

Figura 1 - Gráfico de pluviosidade e temperatura média durante a safra 2021/22 na área experimental da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, campus de Chapadão do Sul.



Fonte: Elaborado pela própria autora.

O experimento foi realizado utilizando delineamento em blocos casualizados com quatro repetições e 32 genótipos de soja do Programa de Melhoramento da UFMS/CPCS, de hábito de crescimento indeterminado. As parcelas apresentavam cinco linhas com um metro e meio de comprimento, espaçadas a 0,45 m e população de 15 plantas por metro.

A semeadura manual foi realizada em outubro de 2021, com preparo convencional do solo através da aração e gradagem niveladora. As sementes foram tratadas com fungicida (Piraclotrobina + Metil Tiofanato) e inseticida (Fipronil), na dose de 200 mL do produto a cada 100 Kg de sementes. Para a fixação biológica de nitrogênio, realizou-se a inoculação das sementes com bactérias do gênero *Bradyrhizobium*, na dose de 200 mL de inoculante líquido concentrado a cada 100 Kg de sementes. Os demais tratos culturais foram realizados conforme necessidade da cultura. Após a maturação dos genótipos, foram colhidas as sementes das quatro linhas laterais de cada parcela, para a realização dos testes para análise de sementes.

2.2 VARIÁVEIS ESPECTRAIS AVALIADAS NAS SEMENTES DE SOJA

As leituras ocorreram em laboratório com temperatura de 26ºC e com a utilização de duas lâmpadas halógenas de 60 W como fonte de luz, posicionadas a 15 cm entre o sensor e a amostra. O sensor utilizado foi o Ocean Optics modelo STS-VIS-L-50-400-SMA, que permitiu capturar a reflectância entre os comprimentos de onda entre 450 e 824 nm.

As amostras de sementes de cada unidade experimental foram acondicionadas em uma placa de petri, resultando em uma camada de 10 mm de sementes para coleta dos dados espectrais. Um dispositivo de reflectância opcional de 99% do feixe de luz foi usado como padrão de calibração do sensor. Os dados espectrais desta placa foram armazenados pelo sistema para posterior determinação do fator de reflectância de cada amostra.

Os comprimentos de onda foram agrupados em médias de intervalos representativos em bandas, baseados no trabalho realizado por Silva Júnior et al. (2018) representados na Tabela 1.

Tabela 1 - Intervalos de comprimento de onda (nm) usados no estabelecimento de 16 bandas espectrais para análise estatística.

Bandas (nº)	Faixa espectral (nm)	Comprimento de onda médio (nm)
B1	450,00 - 475,00	462,50
B2	480,00	480,00
B3	481,00 - 500,00	490,47
B4	501,00 - 530,00	515,34
B5	531,00 - 539,00	534,89
B6	540,00	540,00
B7	541,00 - 649,00	594,80
B8	650,00	650,00
B9	661,00 - 670,00	665,54
B10	675,00	675,00
B11	676,00 - 684,00	680,05
B12	685,00 - 689,00	686,83
B13	690,00 - 700,00	695,07
B14	701,00 - 709,00	705,03
B15	710,00	710,00
B16	711,00 - 730,00	720,60

Fonte: Elaborado pela própria autora, segundo Silva Júnior et al. (2018).

As amostras de sementes de cada unidade experimental foram acondicionadas em uma placa de petri, resultando em uma camada de 10 mm de sementes para coleta dos dados espectrais. Um dispositivo de reflectância opcional de 99% do feixe de luz foi usado como

padrão de calibração do sensor. Os dados espectrais desta placa foram armazenados pelo sistema para posterior determinação do fator de reflectância de cada amostra.

2.3 ANÁLISE DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DAS SEMENTES DE SOJA

Inicialmente as sementes foram submetidas à determinação do teor de água, a partir do método da estufa, retirando-se duas subamostras de cada genótipo com aproximadamente 4,0 g de sementes, condicionadas em estufa de circulação de ar forçado durante 24 horas à 105±3 ºC (Brasil, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem de base úmida. As sementes foram submetidas ao condicionamento em caixas de poliestireno tipo Gerbox, com adição de 40 mL de água destilada, buscando aumentar o teor de água que se encontrada entre 9,32 e 9,60%, durante o período de 24 h que as caixas gerbox foram mantidas no germinador a 25 ºC. Esse condicionamento foi necessário para aumentar o teor de água para 12% e garantir que todas as sementes apresentassem a mesma possibilidade de germinar.

O teste de germinação (GERM) foi realizado utilizando quatro subamostras de 50 sementes de cada genótipo, distribuídas sobre papel germitest, previamente umedecido em 2,5 vezes o seu peso e posteriormente mantidas em germinador à 25 ºC (Brasil, 2009). A avaliação foi realizada aos oito dias, com resultados expressos em porcentagem de plântulas normais. A primeira contagem de germinação (PCG) foi realizada juntamente com o teste de germinação, computando-se a contagem de plântulas normais aos cinco dias após a realização do teste, sendo os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais.

O teste de condutividade elétrica (CE) foi realizado através da pesagem de quatro subamostras de 25 sementes em balança de precisão (0,0001 g) e colocadas para embeber em copos plásticos com 75 mL e água destilada, mantidas no germinador à 25 ºC por 24 horas (VIEIRA; KRZYZANOWSKI, 1999). As leituras foram realizadas com condutivímetro DIGMED DM-31, com valores expressos em $\mu S\ cm^{-1}\ g^{-1}$ de sementes.

O teste de tetrazólio foi realizado em quatro subamostras de 25 sementes que inicialmente foram submetidas a uma pré-embebição em papel germitest umedecido 2,5 vezes seu peso, permanecendo no germinador à 25 ºC por 16 h. Após esse período, as sementes foram embebidas em solução 2,3,5-cloreto de trigeniltetrazólio e acondicionadas em B.O.D. no escuro, à temperatura de 40 ºC durante quatro horas. Posteriormente as sementes foram avaliadas e classificadas individualmente em vigorosas (TZVG) e viáveis (TZVB), de acordo com metodologia proposta por França Neto (1998).

2.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS E MODELOS DE APRENDIZAGEM DE MÁQUINA

Após obtidos os dados espectrais e fisiológicas das sementes os dados foram tabelados e submetidos a análises estatísticas. Na divisão dos genótipos os dados foram submetidos à análise de componentes principais (PCA) associada ao algoritmo k-means. Foram gerados dois clusters e um biplot foi construído com os dois primeiros componentes principais devido à fácil interpretação desses resultados. Neste biplot, dois clusters (C1, C2) foram definidos com base no desempenho dos genótipos de acordo com as variáveis fisiológicas da semente. O uso do algoritmo k-means agrupa tratamentos cujos centróides estão mais próximos até que não haja variação significativa em a distância mínima de cada observação a cada um dos centróides.

Tendo os genótipos separados de acordo com as características fisiológicas semelhantes entre esses genótipos dentro de cada grupo foi construído um gráfico de dispersão de correlações entre as variáveis avaliadas para cada clusters formado. As análises de agrupamento, o PCA e o gráfico de dispersão foram gerados com o pacote ggfortify do software R (TEAM, 2013).

Posteriormente os dados foram submetidos as análises de aprendizagem de máquina (Tabela 2), os clusters formados foram utilizados como variáveis de saída (output) dos modelos, enquanto que as variáveis espectrais foram utilizadas como entrada dos modelos. A classificação dos clusters foi realizada por meio de validação cruzada estratificada com k-fold = 10 e dez repetições (100 execuções para cada modelo). Todos os parâmetros dos modelos foram estabelecidos de acordo com a configuração default do software Weka 3.8.5, com exceção das Redes neurais artificias, as quais foi determinada a utilização de duas camadas com 10 neurônios em cada.

Tabela 2 - Relação dos modelos de aprendizagem de máquinas utilizados na classificação

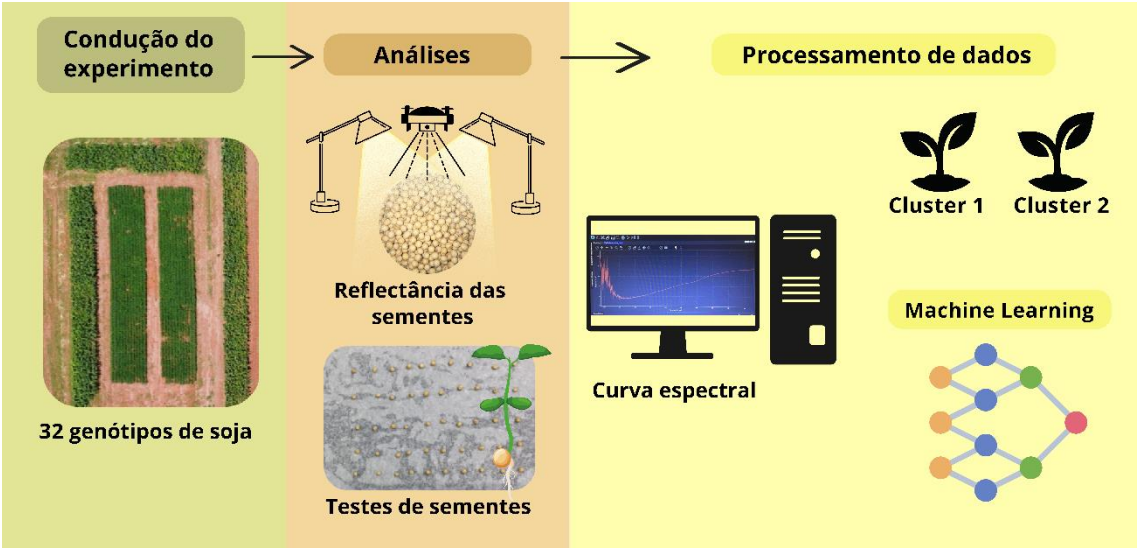
Sigla	Modelo de aprendizagem de máquinas	Referência
ANN	Redes neurais artificiais	(EGMONT-PETERSEN; DE RIDDER; HANDELS, 2002)
J48	Árvores de decisão J48	(QUINLAN, 1993)
LR	Regressão logística	(ŠTEPANOVSKÝ et al., 2017)
DT	REPTree	(SNOUSY et al., 2011)
RF	Floresta aleatória	(BELGIU; DRĂGUŢ, 2016)
SVM	Máquina de vetor suporte	(NALEPA; KAWULOK, 2019)

Fonte: Elaborado pela própria autora.

Nas avaliações quanto ao desempenho dos modelos de classificação utilizados foram usadas as métricas de porcentagem de classificações corretas (CC), Kappa e F-score. Na ilustração do desempenho dos modelos de aprendizagem de máquina foram utilizados boxplots com as médias dos modelos de acurácia segundo o agrupamento de médias do teste de Scott-Knott (SCOTT; KNOTT, 1974) a 5% de significância. O agrupamento de médias foi realizado como o auxílio do software R e os boxplots foram gerados utilizando os pacotes ggplot2 e ExpDes.pt, também do software R.

A Figura 2 representa de forma resumida o que foi realizado na aquisição e processamento dos dados.

Figura 2 - Fluxograma das atividades realizadas na aquisição e processamento dos dados.



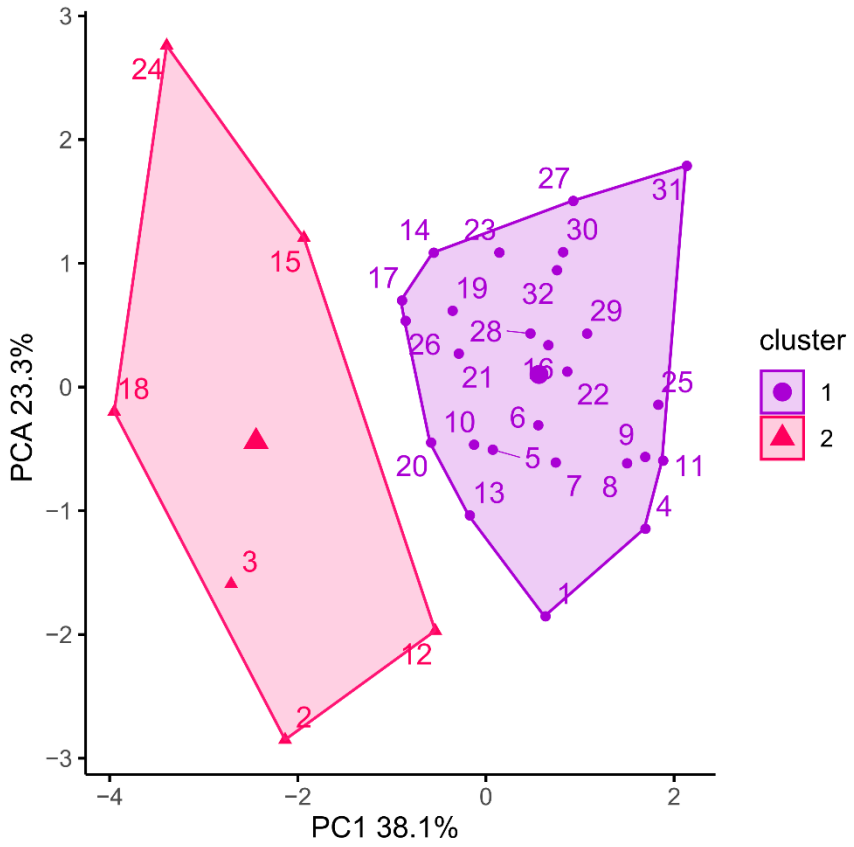
Fonte: Elaborado pela própria autora.

3 RESULTADOS

3.1 FORMAÇÃO DOS GRUPOS E RELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS

Os genótipos de soja foram divididos em dois clusters, por meio do algoritmo k-means, associado a análise de componentes principais (PCA) (Figura 3). Os clusters foram divididos de acordo com a similaridade que os genótipos apresentavam em relação as variáveis de qualidade fisiológica de sementes. Os genótipos presentes no cluster 1 possuem similaridade entre si e distinção do cluster 2.

Figura 3 - Análise de Componentes Principais (PCA) para os clusters formados pelo algoritmo k-means de acordo com as variáveis de vigor e viabilidade de 32 genótipos de soja.

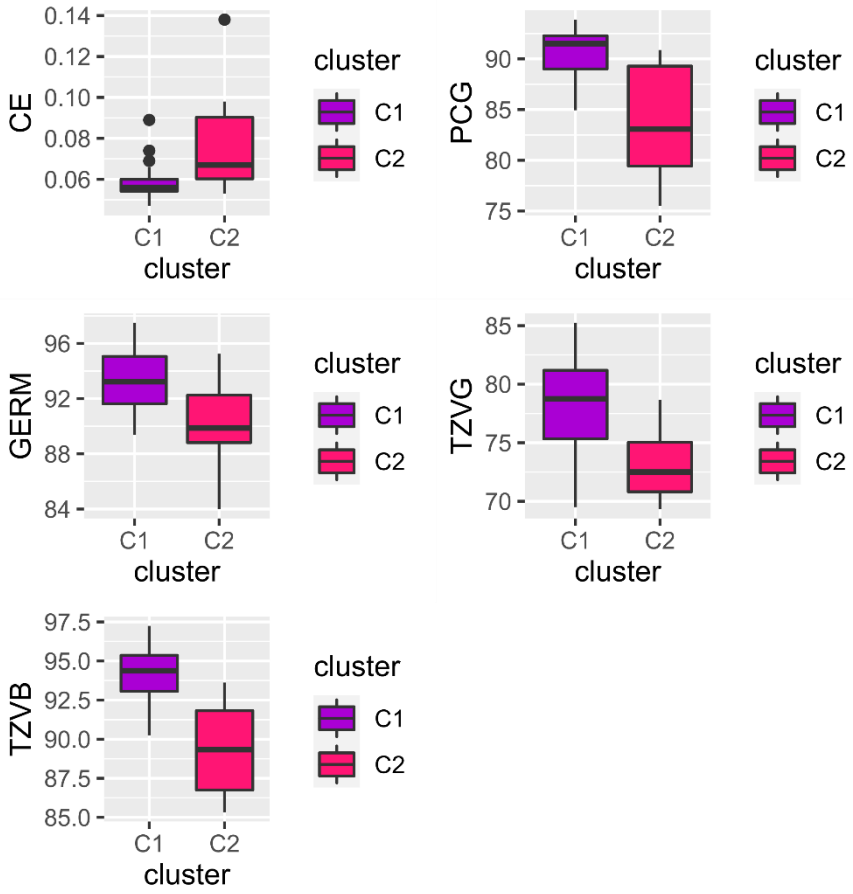


Fonte: Elaborado pela própria autora.

O cluster 1 apresentou os melhores resultados em relação a todas as variáveis de qualidade fisiológica de sementes (Figura 4). Esse resultado indica que os genótipos

pertencentes ao cluster 1 apresentam maior viabilidade e vigor, e diferem do cluster 2, que apresenta qualidade fisiológica inferior.

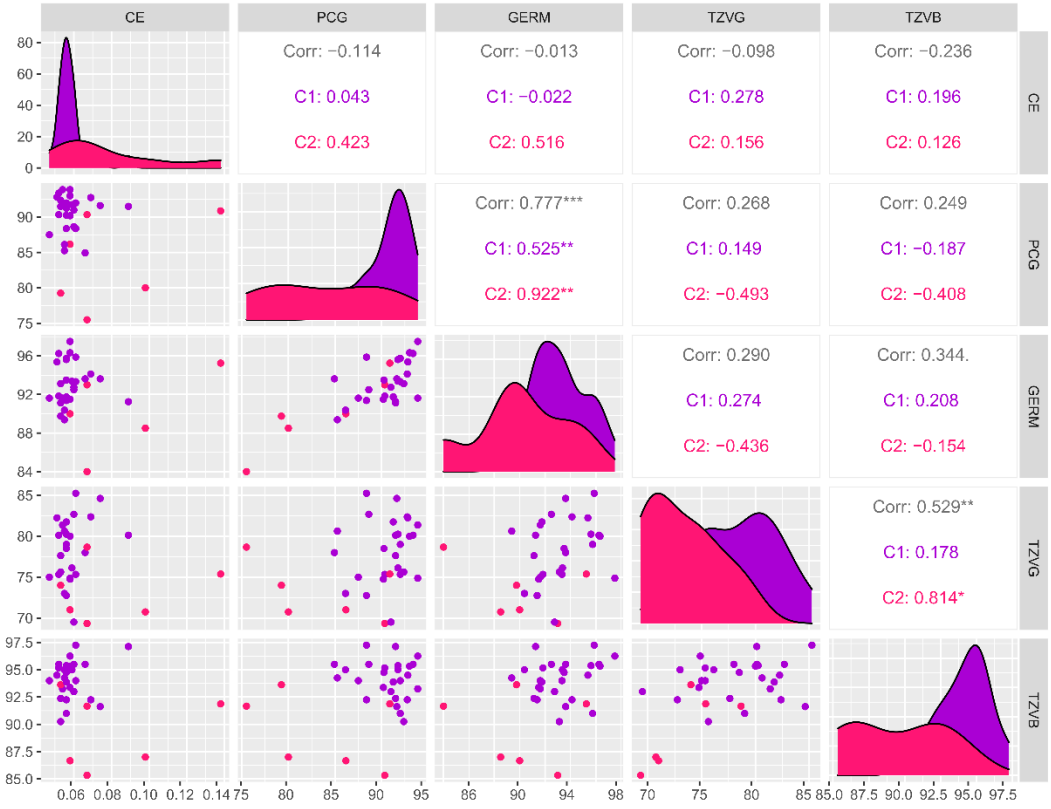
Figura 4 - Boxplot com as médias dos cluster formados para as variáveis: condutividade elétrica (CE), primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GERM), tetrazólio vigor (TZVG) e tetrazólio viabilidade (TZVG) de 32 genótipos de soja.



Fonte: Elaborado pela própria autora.

O gráfico de correlação e dispersão entre clusters apresenta que as variáveis GERM e PCG possuem uma alta correlação entre si, especialmente em relação ao cluster 2 (Figura 5). As variáveis TZVB e TZVG também apresentam uma alta correlação entre si em relação ao cluster 2.

Figura 5 - Gráfico de correlações e dispersão entre os clusters e as variáveis condutividade elétrica (CE), primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GERM), tetrazólio vigor (TZVG) e tetrazólio viabilidade (TZVG) de 32 genótipos de soja.



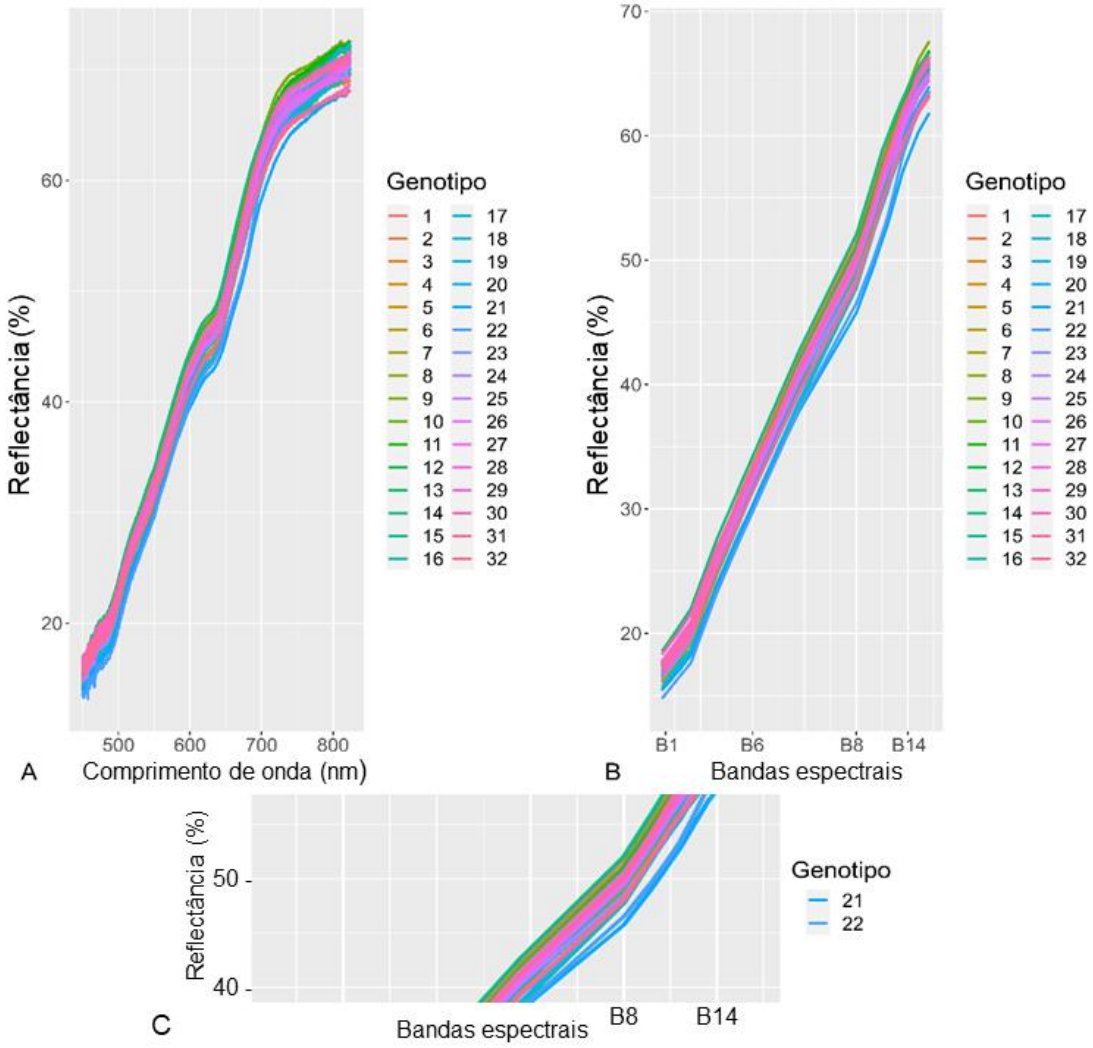
Correlações seguidas por ***, ** e *, apresentam respectivamente significância de 0,1, 1 e 5% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pela própria autora.

3.2 COMPORTAMENTO ESPECTRAL DOS GRUPOS

Avaliando a reflectância de 32 genótipos de sementes de soja (Figura 6A) e a reflectância de 32 genótipos em relação a separação de bandas (Figura 6B), observa-se menor sobreposição dos dados e separação dos genótipos 21 e 22 entre as bandas B8 e B14 e reflectância 45 à 55% (Figura 6C).

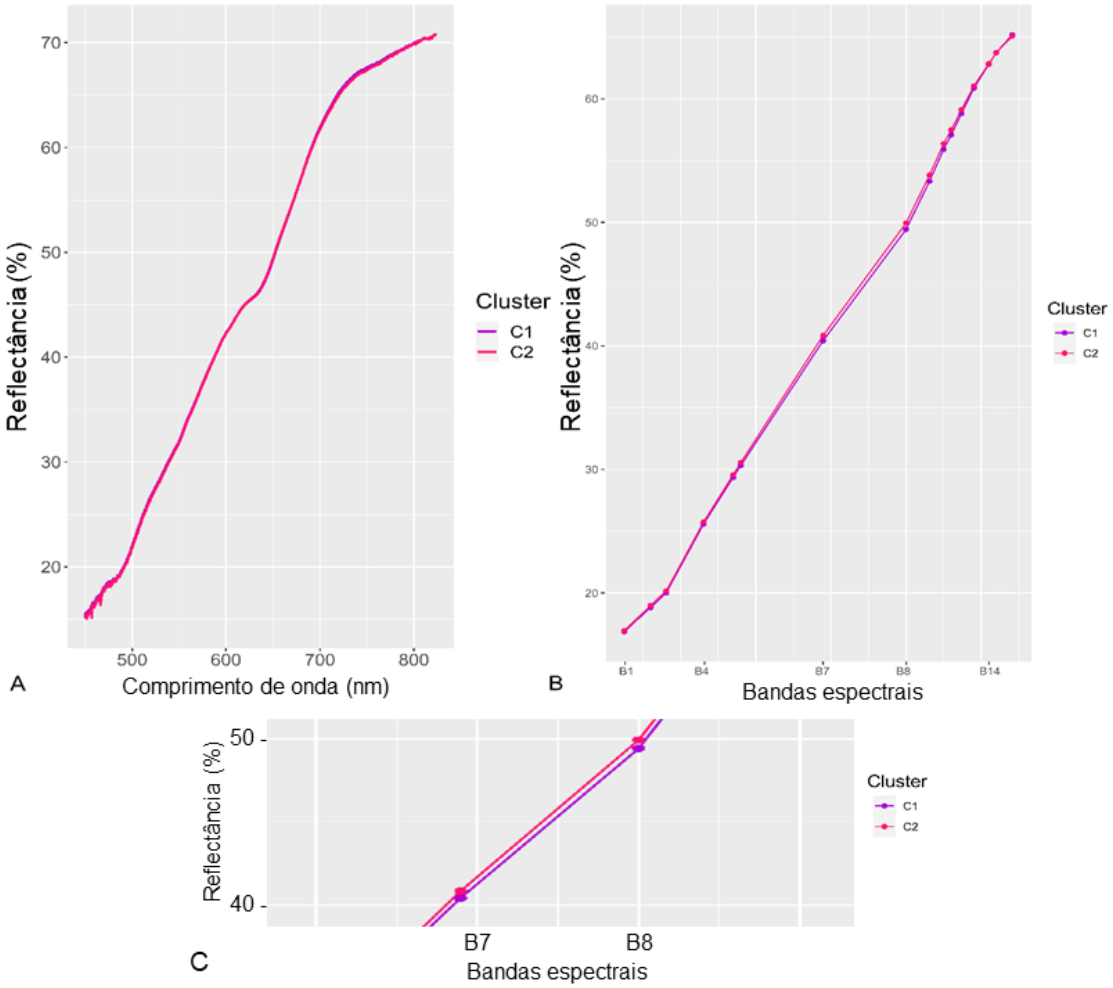
Figura 6 - Reflectância de 32 genótipos de sementes soja (A), refletância das bandas espectrais formadas (B), e ampliação dos genótipos 21 e 22 em relação aos demais genótipos (C).



Fonte: Elaborado pela própria autora.

Avaliando a reflectância dos clusters formados em relação a reflectância (Figura 7A) e em relação as bandas (Figura 7B), observou-se que, entre as bandas B7 e B8 há um espaço sutil que difere os clusters (Figura 7C), e pode estar relacionado a alguma variável de discriminação. As demais reflectâncias e bandas apresentam sobreposição dos clusters.

Figura 7 - Reflectância de genótipos de sementes soja separados em cluster (A), bandas espectrais separadas em cluster (B) e ampliação entre as bandas B7 e B8 (C) formados com base na análise de componentes principais e algoritmo k-means.



Fonte: Elaborado pela própria autora.

3.3 MODELOS DE APRENDIZAGEM DE MÁQUINA PARA CLASSIFICAÇÃO DOS GRUPOS

Os algoritmos de aprendizagem de máquina foram avaliados de acordo com seu desempenho em relação a três parâmetros de acurácia: classificação correta, kappa e f-score. Na análise de variância, nota-se interação significativa entre os algoritmos de ML e inputs para todos os parâmetros testados (Tabela 3).

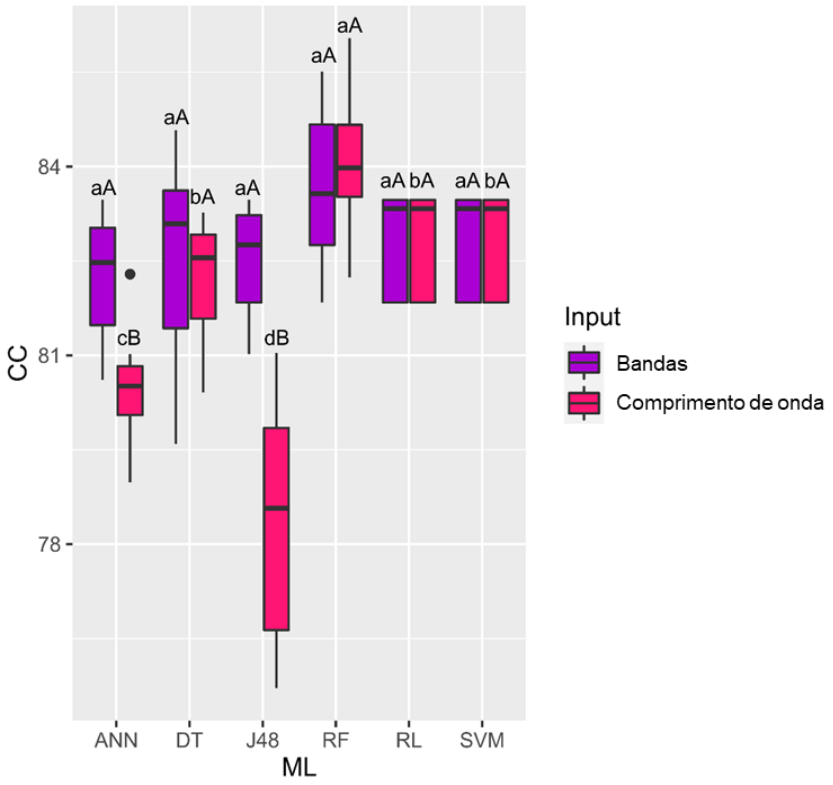
Tabela 3 - Resumo da análise de variância para as variáveis de acurácia classificação correta (CC), Kappa e F-score obtidas para os modelos de aprendizagem de máquina (ML) e diferentes inputs testados.

FV	GL	CC	Kappa	F-score
ML	5	29.92*	0.15*	0.00*
Input	1	26.03*	0.04*	0.00*
ML*Input	5	15.44*	0.02*	0.00*

*significativo a 5% pelo teste F; FV: fonte de variação; GL: Grau de liberdade; ML: inteligência computacional.
Fonte: Elaborado pela própria autora.

Na classificação correta da interação entre modelos de aprendizado de máquina e inputs, as bandas não apresentaram diferença significativa para os algoritmos e parâmetro utilizados (Figura 8). A reflectância apresentou os melhores resultados utilizando os algoritmos DT, RF, RL e SVM na classificação correta. O algoritmo RF apresentou o melhor desempenho dentre os algoritmos, independente do input utilizado.

Figura 8 - Boxplot para porcentagem de classificação correta para a interação significativa entre os modelos de aprendizado de máquinas e os inputs testados.



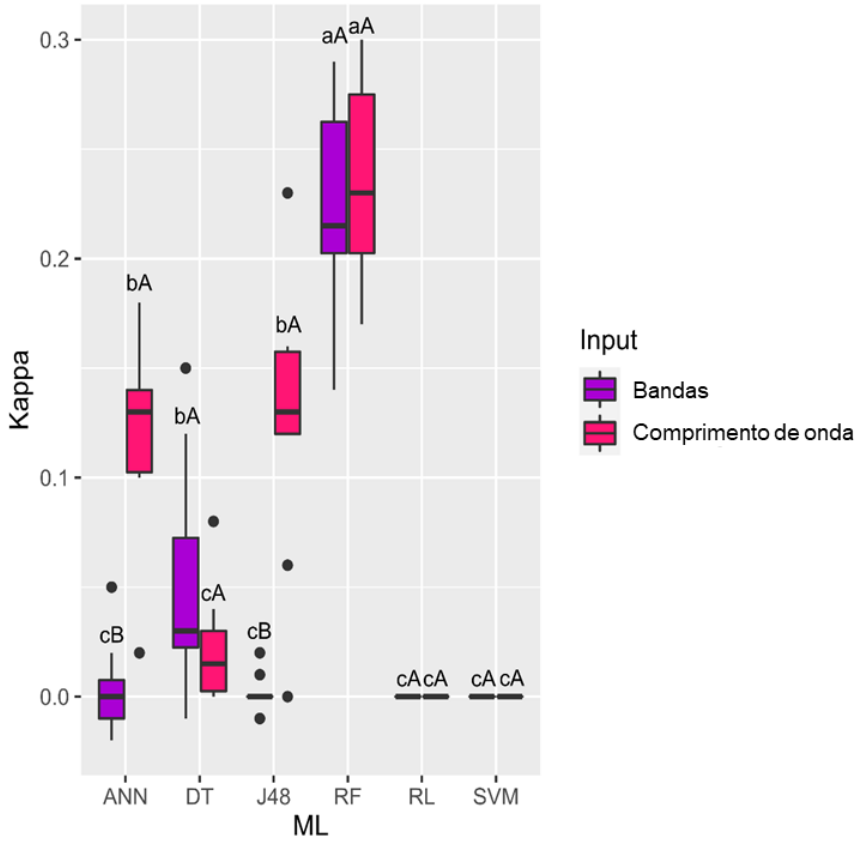
As médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não diferem entre si em relação aos inputs e pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si em relação aos modelos de aprendizado de máquina pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

ANN: Redes neurais artificiais; J48: Árvore de decisão J48; LR: Regressão logística; DT: REPTree; RF: Floresta aleatória; SVM: Máquina de vetor suporte.

Fonte: Elaborado pela própria autora.

No modelo coeficiente Kappa, as bandas apresentaram melhor desempenho com os algoritmos DT, RF, RL e SVM (Figura 9). A reflectância não apresentou diferença significativa em relação aos algoritmos. O algoritmo RF apresentou melhor desempenho, tanto na utilização de bandas como de reflectância.

Figura 9 - Boxplot para coeficiente de Kappa para a interação significativa entre os modelos de aprendizado de máquinas e os inputs testados.



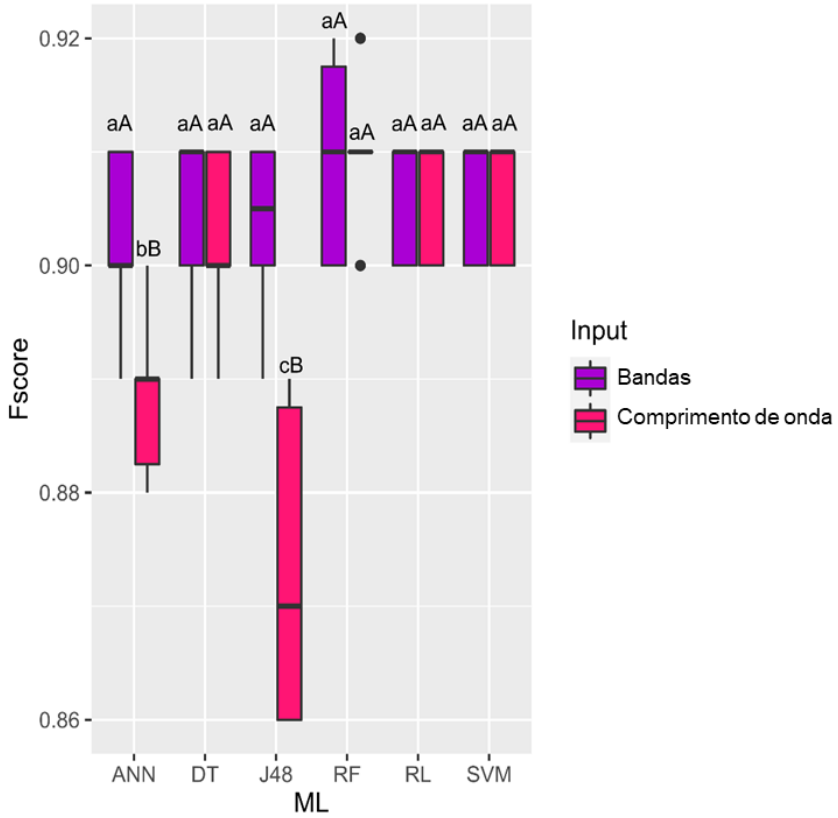
As médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não diferem entre si em relação aos inputs e pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si em relação aos modelos de aprendizado de máquina pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

ANN: Redes neurais artificiais; J48: Árvore de decisão J48; LR: Regressão logística; DT: REPTree; RF: Floresta aleatória; SVM: Máquina de vetor suporte.

Fonte: Elaborado pela própria autora.

As bandas não apresentaram diferença significativa em relação aos algoritmos no modelo F-score (Figura 10). A reflectância apresentou melhor desempenho com os algoritmos DT, RF, RL e SVM. Em relação a ML, o algoritmo RF apresenta bom desempenho independente do input utilizado.

Figura 10 - Boxplot para F-score para a interação significativa entre os modelos de aprendizado de máquinas e os inputs testados.



As médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas não diferem entre si em relação aos inputs e pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si em relação aos modelos de aprendizado de máquina pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

ANN: Redes neurais artificiais; J48: Árvore de decisão J48; LR: Regressão logística; DT: REPTree; RF: Floresta aleatória; SVM: Máquina de vetor suporte.

Fonte: Elaborado pela própria autora.

O algoritmo RF apresentou os melhores resultados para as três métricas de acurácia testadas. Os inputs testados para o algoritmo RF não apresentaram diferença estatística entre eles. Diante disso, utilizar refletância como input se encontra como a maneira mais prática para processamento de dados, com a mesma por possuir a mesma eficiência com economia de tempo.

4 DISCUSSÃO

A separação do conjunto de dados em dois clusters (Figura 3) ocorre a partir da similaridade apresentada pelos genótipos em relação as variáveis da qualidade fisiológica de

sementes. Dessa forma, genótipos que apresentam vigor e viabilidade semelhantes, participarão do mesmo grupo. A formação de dois grupos pela análise de componentes principais (PCA) indica a presença de genótipos com qualidade fisiológica superior e inferior, resultado confirmado quando se observa a Figura 4. O cluster 1 apresenta os melhores resultados para todas as variáveis da qualidade fisiológica de sementes, diferindo do cluster 2, que apresenta resultados inferiores de qualidade fisiológica de sementes. A qualidade das sementes é afetada por fatores de ordem fisiológica, física, sanitária e genética, influenciando sua capacidade de expressar suas funções vitais, como germinar e gerar plântulas normais (MARCOS FILHO, 2015). A utilização de sementes com alta qualidade fisiológica é um dos pilares para a construção de altas produtividade de soja (LUDWIG et al., 2021).

A alta correlação apresentada pelas variáveis primeira contagem de germinação (PCG) e germinação (GERM), assim como tetrazólio vigor (TZVG) e tetrazólio viabilidade (TZVB) (Figura 5), pode ser relacionada ao fato dessas variáveis serem interrelacionadas. O teste de PCG é realizado junto ao teste de GERM, sendo os dados obtidos na PCG contabilizados na GERM. O mesmo ocorre para TZVG e TZVB, onde os dados obtidos no TZVG são contabilizados para compor o resultado de TZVB. A variável PCG, assim como a TZVG são variáveis que analisam o vigor das sementes, refletindo o potencial de germinar e emergir no campo de forma rápida e uniforme, mesmo em condições desfavoráveis, assim como a capacidade das sementes se manteres viáveis durante o armazenamento, mesmo em condições diferentes das ideais (XIA et al., 2019). A variável GERM por sua vez, diz respeito a viabilidade das sementes, analisada separadamente através do TZVB, que avaliam a qualidade das sementes a partir da emissão da raiz primária, mesmo sob a ação de fatores que retardam a germinação (REED; BRADFORD; KHANDAY, 2022). Apesar das altas correlações encontradas, elas se referem ao cluster 2, que apresenta o agrupamento de genótipos com qualidade fisiológica inferior. Este resultado pode ser relacionado ao fato do menor número de genótipos presentes no cluster 2 e da menor variabilidade em relação ao comportamento dos dados em relação a essas variáveis. Os genótipos ainda estão em fase de melhoramento, podendo apresentar variações decorrentes da herança genética de seus progenitores (ROSSI; CAVARIANI; DE BARROS FRANÇA-NETO, 2017), explicando o resultado encontrado neste trabalho.

Os dados de reflectância (Figura 6A) e os dados das bandas formadas (Figura 6B) possuem sobreposição pelo número de genótipos avaliados. Porém, observa-se que os genótipos 21 e 22 se separam dos demais genótipos entre as bandas B8 e B14 (Figura 6C), que representam o intervalo espectral entre os comprimentos 650 e 705 nm (Tabela 1). As bandas de reflectância presentes entre 650 e 700 nm representam a região principal do vermelho

(HENNESSY; CLARKE; LEWIS, 2020). Yoosefzadeh-Najafabadi et al. (2021), identificaram bandas associadas ao rendimento de sementes de soja centradas em 665 e 675 nm, relacionadas a absorção de pigmentos vegetais, como carotenoides, antocianinas e clorofila.

As curvas espectrais conhecidas se referem a vegetação, sendo o comprimento de onda entre os intervalos espectrais 650 e 700 nm, referentes a síntese de clorofila em folhas (DA SILVA et al., 2020; JENSEN; EPIPHANIO, 2009). Vollmann et al. (2022)utilizaram a medição da reflectância hiperespectral do dossel de plantas como método de fenotipagem para estimar a fixação de nitrogênio de genótipos de soja e sua ação no conteúdo de proteínas de sementes. Os autores observaram que o comprimento entre 690-730 nm relaciona-se ao nitrogênio, e que sua presença nas sementes está relacionada a mobilização e transferência para a biossíntese de proteínas nas sementes. Assim, o resultado obtido neste trabalho pode estar relacionado a discriminação de genótipos através de sementes que receberam maior quantidade de fotoassimilados, apresentando assim, qualidade fisiológica superior.

A reflectância dos genótipos após a formação dos clusters (Figura 7A) e com a utilização de bandas espectrais (Figura 7B) possibilitou a detecção do espaço sutil presente entre os clusters no intervalo das bandas B7 e B8 (Figura 7C), compreendendo o comprimento de onda de 541 a 650 nm (Tabela 1). Esse intervalo foi verificado entre b-caroteno e síntese de clorofila em vegetais (DA SILVA JUNIOR et al., 2018; JENSEN; EPIPHANIO, 2009). Segundo Silva Junior et al. (2018), em folhas verdes saudáveis, a diminuição da reflectância está associada à absorção pelos pigmentos foliares devido a presença de clorofila, resultando em baixa reflectância. Carotenoides e clorofilas possuem correlações significativas com característica de qualidade, embora influenciados por fatores genéticos (GEBREGZIABHER et al., 2022). A produção de carotenoides e clorofilas está relacionada ao metabolismo de defesa, resposta a diferentes tipos de estresse (XIE et al., 2019). Assim, ao observar a menor porcentagem de reflectância apresentado pelo cluster 1, que apresenta sementes com qualidade fisiológica superior, permite inferir que genótipos com qualidade superior de sementes refletem em menor quantidade que sementes com qualidade fisiológica inferior.

Os parâmetros classificação correta (Figura 8), coeficiente kappa (Figura 9) e f-score (Figura 10) usados para avaliar os algoritmos de aprendizagem de máquina, apresentaram resultados semelhantes, evidenciando RF como o melhor algoritmo na classificar genótipos de soja, independente do input utilizado. O desempenho do algoritmo RF decorre de sua natureza, no qual as árvores são treinadas usando várias subamostras aleatórias do conjunto de dados original, gerando precisões melhores e mais estáveis para novas instâncias não incluídas no conjunto de dados de treinamento (LIAW; WIENER, 2002; YOOSEFZADEH-NAJAFABADI

et al., 2021). A modelagem de dados a partir de RF apresenta a fase de treinamento computacional eficiente e preciso, motivo por ser amplamente utilizado na fenômica vegetal (FALK et al., 2020); genômica (BOWDISH et al., 2013), mapeamento de espécies de árvores (CAVALLARO et al., 2015), plantas invasoras (PEERBHAY; MUTANGA; ISMAIL, 2015) e espécies de gramíneas (Mansour et al., 2012).

A utilização da reflectância e das bandas espectrais não diferiram como inputs de entrada, independente do parâmetro utilizado. Comparando os inputs, a utilização de bandas apresenta rápido processamento, porém existe a complicação dos cálculos, enquanto na utilização da reflectância, não há necessidade de realização de cálculos, porém pela extensa quantidade de dados, exige maior tempo para processamento. Silva Junior et al. (2020), relata que a utilização de bandas contribuiu para a discriminação de cultivares de soja. (GAVA et al., 2022)utilizando algoritmos de aprendizagem de máquina e algoritmos descrevem que a utilização de bandas espectrais como entrada nos modelos foi eficiente na identificação de cultivares de soja. Portanto, a escolha do input de entrada dependerá do conjunto de dados, do tempo disponível e do poder de processamento que o pesquisador dispõe para processar as informações.

As descobertas encontradas neste trabalho demonstram que a separação realizada pelo algoritmo k-means e representada na PCA possui precisão na formação de clusters e distinção de genótipos com qualidade fisiológica superior e inferior, resultado que se repete nas correlações encontradas. A reflectância dos genótipos e dos cluster evidenciam a existência de separação de sementes em relação a qualidade em bandas específicas, podendo ser utilizadas para futuras identificações. E por fim, o algoritmo RF apresentou superioridade em classificar genótipos de soja em relação a qualidade das sementes por meio de aprendizagem de máquina, utilizando reflectância ou bandas espectrais como input. Esses resultados são promissores, acelerando o processo de classificação de sementes em relação a sua viabilidade, substituindo análises que são onerosas e levam dias até a obtenção de resultados, dando lugar a análises computadorizadas e não destrutivas. Perspectivas futuras se encontram na possível obtenção da assinatura espectral de sementes em relação a diferentes comprimentos de onda, acelerando a distinção dos componentes presentes e sua relação com a qualidade fisiológica de sementes.

5 CONCLUSÃO

Os genótipos de soja podem ser classificados em relação a qualidade fisiológica de sementes utilizando reflectância hiperespectral e aprendizado de máquina.

Os comprimentos de onda entre 541 e 650 nm podem ser utilizados na distinção de sementes com qualidade fisiológica superior e inferior.

A utilização do algoritmo RF possibilita a classificação dos genótipos de soja com maior acurácia, independente do input utilizado.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, S. M.; TEODORO, L. P. R.; BAIO, F. H. R.; CAMPOS, C. N. S.; ROQUE, C. G.; SILVA JÚNIOR, C. A. Da; CORADI, P. C.; TEODORO, P. E. High-throughput phenotyping of soybean genotypes under base saturation stress conditions. **Journal of Agronomy and Crop Science**, [s. l.], v. 207, n. 5, p. 814–822, 2021.

BELGIU, M.; DRĂGUŢ, L. Random forest in remote sensing: A review of applications and future directions. **ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**, [s. l.], v. 114, p. 24–31, 2016.

BOWDISH, D. M. E.; SAKAMOTO, K.; LACK, N. A.; HILL, P. C.; SIRUGO, G.; NEWPORT, M. J.; GORDON, S.; HILL, A. V. S.; VANNBERG, F. O. Genetic variants of MARCO are associated with susceptibility to pulmonary tuberculosis in a Gambian population. **BMC medical genetics**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 1–7, 2013.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, P. e A. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília.

CAVALLARO, G.; DALLA MURA, M.; BENEDIKTSSON, J. A.; BRUZZONE, L. Extended self-dual attribute profiles for the classification of hyperspectral images. **IEEE Geoscience and Remote Sensing Letters**, [s. l.], v. 12, n. 8, p. 1690–1694, 2015.

CHEN, Z.; FAN, W.; LUO, Z.; GUO, B. Soybean seed counting and broken seed recognition based on image sequence of falling seeds. **Computers and Electronics in Agriculture**, [s. l.], v. 196, p. 106870, 2022.

DA SILVA, E. E.; BAIO, F. H. R.; TEODORO, L. P. R.; DA SILVA JUNIOR, C. A.; BORGES, R. S.; TEODORO, P. E. UAV-multispectral and vegetation indices in soybean grain yield prediction based on in situ observation. **Remote Sensing Applications: Society and Environment**, [s. l.], v. 18, p. 100318, 2020.

DA SILVA JUNIOR, C. A.; NANNI, M. R.; SHAKIR, M.; TEODORO, P. E.; DE OLIVEIRA-JÚNIOR, J. F.; CEZAR, E.; DE GOIS, G.; LIMA, M.; WOJCIECHOWSKI, J. C.; SHIRATSUCHI, L. S. Soybean varieties discrimination using non-imaging hyperspectral sensor. **Infrared Physics & Technology**, [s. l.], v. 89, p. 338–350, 2018.

DA SILVA JUNIOR, C. A.; NANNI, M. R.; TEODORO, P. E.; SILVA, G. F. C. Vegetation Indices for Discrimination of Soybean Areas: A New Approach. **Agronomy Journal**, [s. l.], v. 109, n. 4, p. 1331–1343, 2017.

DA SILVA JUNIOR, C. A.; TEODORO, L. P. R.; TEODORO, P. E.; BAIO, F. H. R.; DE ANDREA PANTALEÃO, A.; CAPRISTO-SILVA, G. F.; FACCO, C. U.; DE OLIVEIRA-JÚNIOR, J. F.; SHIRATSUCHI, L. S.; SKRIPACHEV, V. Simulating multispectral MSI bandsets (Sentinel-2) from hyperspectral observations via spectroradiometer for identifying soybean cultivars. **Remote Sensing Applications: Society and Environment**, [s. l.], v. 19, p. 100328, 2020.

EGMONT-PETERSEN, M.; DE RIDDER, D.; HANDELS, H. Image processing with neural networks—a review. **Pattern Recognition**, [s. l.], v. 35, n. 10, p. 2279–2301, 2002.

FALK, K. G.; JUBERY, T. Z.; MIRNEZAMI, S. V; PARMLEY, K. A.; SARKAR, S.; SINGH, A.; GANAPATHYSUBRAMANIAN, B.; SINGH, A. K. Computer vision and machine learning enabled soybean root phenotyping pipeline. **Plant methods**, [s. l.], v. 16, p. 1–19, 2020.

FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSK, F. C. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: Embrapa. v. Documentos, 116.

GAVA, R.; SANTANA, D. C.; COTRIM, M. F.; ROSSI, F. S.; TEODORO, L. P. R.; DA SILVA JUNIOR, C. A.; TEODORO, P. E. Soybean Cultivars Identification Using Remotely Sensed Image and Machine Learning Models. **Sustainability**, [s. l.], v. 14, n. 12, p. 7125, 2022.

GEBREGZIABHER, B. S.; ZHANG, S.; AZAM, M.; QI, J.; AGYENIM-BOATENG, K. G.; FENG, Y.; LIU, Y.; LI, J.; LI, B.; SUN, J. Natural variation and geographical distribution of seed carotenoids and chlorophylls in 1167 Chinese soybean accessions. **Journal of Integrative Agriculture**, [s. l.], 2022.

GUO, Z.; ZHANG, J.; MA, C.; YIN, X.; GUO, Y.; SUN, X.; JIN, C. Application of visible-near-infrared hyperspectral imaging technology coupled with wavelength selection algorithm for rapid determination of moisture content of soybean seeds. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s. l.], v. 116, p. 105048, 2023.

HENNESSY, A.; CLARKE, K.; LEWIS, M. Hyperspectral classification of plants: A review of waveband selection generalisability. **Remote Sensing**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 113, 2020.

JENSEN, J. R.; EPIPHANIO, J. C. N. **Sensoriamento remoto do ambiente: uma perspectiva em recursos terrestres**. [s.l.] : Parêntese Editora São José dos Campos, 2009.

KARAKATIČ, S.; PODGORELEC, V. Improved classification with allocation method and multiple classifiers. **Information Fusion**, [s. l.], v. 31, p. 26–42, 2016.

LIAW, A.; WIENER, M. Classification and regression by randomForest. **R news**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. 18–22, 2002.

LUDWIG, V.; BERGHETTI, M. R. P.; ROSSATO, F. P.; WENDT, L. M.; SCHULTZ, E. E.; BOTH, V.; BRACKMANN, A. Impact of controlled atmosphere storage on physiological quality of soybean seed. **Journal of Stored Products Research**, [s. l.], v. 90, p. 101749, 2021.

MANGENA, P. Analysis of correlation between seed vigour, germination and multiple shoot induction in soybean (Glycine max L. Merr.). **Heliyon**, [s. l.], v. 7, n. 9, p. e07913, 2021.

MANSOUR, K.; MUTANGA, O.; EVERSON, T.; ADAM, E. Discriminating indicator grass species for rangeland degradation assessment using hyperspectral data resampled to AISA Eagle resolution. **ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**, [s. l.], v. 70, p. 56–65, 2012.

MARCOS FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia agricola**, [s. l.], v. 72, p. 363–374, 2015.

MENEGUZZO, M. R. R.; MENEGHELLO, G. E.; NADAL, A. P.; XAVIER, F. da M.; DELLAGOSTIN, S. M.; CARVALHO, I. R.; GONÇALVES, V. P.; LAUTENCHLEGER, F.; LÂNGARO, N. C. Seedling length and soybean seed vigor. **Ciência Rural**, [s. l.], v. 51, 2021.

NALEPA, J.; KAWULOK, M. Selecting training sets for support vector machines: a review. **Artificial Intelligence Review**, [s. l.], v. 52, n. 2, p. 857–900, 2019.

PEERBHAY, K. Y.; MUTANGA, O.; ISMAIL, R. Random forests unsupervised classification: The detection and mapping of solanum mauritianum infestations in plantation forestry using hyperspectral data. **IEEE Journal of Selected Topics in Applied Earth Observations and Remote Sensing**, [s. l.], v. 8, n. 6, p. 3107–3122, 2015.

QUINLAN, J. R. C4. 5: Programming for machine learning. **Morgan Kauffmann**, [s. l.], v. 38, n. 48, p. 49, 1993.

REED, R. C.; BRADFORD, K. J.; KHANDAY, I. Seed germination and vigor: ensuring crop sustainability in a changing climate. **Heredity**, [s. l.], v. 128, n. 6, p. 450–459, 2022.

ROSSI, R. F.; CAVARIANI, C.; DE BARROS FRANÇA-NETO, J. Vigor de sementes, população de plantas e desempenho agronômico de soja. **Revista de Ciências Agrárias-Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, [s. l.], v. 60, n. 3, p. 215–222, 2017.

SANTANA, D. C.; COTRIM, M. F.; FLORES, M. S.; ROJO BAIO, F. H.; SHIRATSUCHI, L. S.; SILVA JUNIOR, C. A. Da; TEODORO, L. P. R.; TEODORO, P. E. UAV-based multispectral sensor to measure variations in corn as a function of nitrogen topdressing. **Remote Sensing Applications: Society and Environment**, [s. l.], v. 23, p. 100534, 2021.

SANTANA, D. C.; DE OLIVEIRA CUNHA, M. P.; DOS SANTOS, R. G.; COTRIM, M. F.; TEODORO, L. P. R.; DA SILVA JUNIOR, C. A.; BAIO, F. H. R.; TEODORO, P. E. High-throughput phenotyping allows the selection of soybean genotypes for earliness and high grain yield. **Plant Methods**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 13, 2022.

SANTANA, D. C.; TEODORO, L. P. R.; BAIO, F. H. R.; DOS SANTOS, R. G.; CORADI, P. C.; BIDUSKI, B.; DA SILVA JUNIOR, C. A.; TEODORO, P. E.; SHIRATSUCHI, L. S. Classification of soybean genotypes for industrial traits using UAV multispectral imagery and machine learning. **Remote Sensing Applications: Society and Environment**, [s. l.], p. 100919, 2023.

SCOTT, A. A. J.; KNOTT, M. A Cluster Analysis Method for Grouping Means in the Analysis of Variance Published by : International Biometric Society Stable URL : http://www.jstor.org/stable/2529204. **Biometrics**, [s. l.], v. 30, n. 3, p. 507–512, 1974.

SHI, M.; LIAO, X.; QIAN, Y. E.; ZHANG, W.; LI, Y.; BHAT, J. A.; KAN, G.; YU, D. Linkage and association mapping of wild soybean (Glycine soja) seeds germinating under salt stress. **Journal of Integrative Agriculture**, [s. l.], v. 21, n. 10, p. 2833–2847, 2022.

SNOUSY, M. B. Al; EL-DEEB, H. M.; BADRAN, K.; KHLIL, I. A. Al. Suite of decision tree-based classification algorithms on cancer gene expression data. **Egyptian Informatics Journal**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 73–82, 2011.

ŠTEPANOVSKÝ, M.; IBROVÁ, A.; BUK, Z.; VELEMÍNSKÁ, J. Novel age estimation model based on development of permanent teeth compared with classical approach and other modern data mining methods. **Forensic Science International**, [s. l.], v. 279, p. 72–82, 2017.

TAMAGNO, S.; SADRAS, V. O.; AZNAR-MORENO, J. A.; DURRETT, T. P.; CIAMPITTI, I. A. Selection for yield shifted the proportion of oil and protein in favor of low-energy seed fractions in soybean. **Field Crops Research**, [s. l.], v. 279, p. 108446, 2022.

TEAM, R. C. R: A language and environment for statistical computing. [s. l.], 2013.

VIEIRA, R. D.; KRZYZANOWSKI, F. C. Electrical conductivity test. **Seed Vigor: Concepts and Tests**, [s. l.], p. 1–26, 1999.

VOLLMANN, J.; RISCHBECK, P.; PACHNER, M.; ĐORĐEVIĆ, V.; MANSCHADI, A. M. High-throughput screening of soybean di-nitrogen fixation and seed nitrogen content using spectral sensing. **Computers and Electronics in Agriculture**, [s. l.], v. 199, p. 107169, 2022.

XIA, Y.; XU, Y.; LI, J.; ZHANG, C.; FAN, S. Recent advances in emerging techniques for non-destructive detection of seed viability: A review. **Artificial Intelligence in Agriculture**, [s. l.], v. 1, p. 35–47, 2019.

XIE, X.; HE, Z.; CHEN, N.; TANG, Z.; WANG, Q.; CAI, Y. The roles of environmental factors in regulation of oxidative stress in plant. **BioMed research international**, [s. l.], v. 2019, 2019.

YOOSEFZADEH-NAJAFABADI, M.; EARL, H. J.; TULPAN, D.; SULIK, J.; ESKANDARI, M. Application of machine learning algorithms in plant breeding: predicting yield from hyperspectral reflectance in soybean. **Frontiers in plant science**, [s. l.], v. 11, p. 624273, 2021.

CAPÍTULO 3 - FLAVONÓIDES E SUA RELAÇÃO COM A QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE SOJA

RESUMO

Os flavonóides são compostos resultantes do metabolismo secundário das plantas, apresentando funções no desenvolvimento vegetal e na mitigação de estresses de ordem biótica e abiótica. As maiores concentrações de flavonóides são observadas em leguminosas como a soja. Os programas de melhoramento genético visam incrementar características desejáveis, como maiores concentrações de flavonóides e sementes vigorosas. As sementes de soja são uma das fontes de proteínas mais ricas do reino vegetal e principal fonte dos derivados de flavonóides para a saúde humana. Diante disso, a hipótese deste trabalho se baseia na possibilidade da concentração de isoflavonas em sementes de soja contribuir para a qualidade fisiológica das sementes. Assim, o objetivo deste trabalho é analisar a quantidade de flavonóides presentes em genótipos de soja e sua influência na qualidade fisiológica das sementes. As sementes de 32 genótipos de soja foram obtidas mediante condução de experimento durante a safra 2021/22 na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, campus Chapadão do Sul - MS. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com quatro repetições e 32 populações F_3 de soja. As sementes obtidas foram submetidas ao teste de germinação, primeira contagem de germinação, condutividade elétrica e tetrazólio vigor e viabilidade. Após a secagem e moagem do material de cada genótipo, se procedeu a análise de cromatografia líquida para obtenção de flavonóides, realizadas em grau UPLC, com maior velocidade da fase móvel e detectabilidade das isoflavonas daidzeína, genisteína, daidzina e genistina. Os dados obtidos foram submetidos a análise da variância e quando significativos, comparados pelo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade. Realizou-se também análise multivariada dos dados, através da obtenção do gráfico de variáveis canônicas e gráfico de correlação de Pearson. Os resultados encontrados neste trabalho indicam que há diferença entra a concentração de flavonóides nos genótipos de soja, com maior concentração do flavonóide genistina. A concentração de flavonóides não influencia a qualidade fisiológica de sementes, mas contribui para o aumento da viabilidade e vigor.

Palavras-chave: Cromatografia. Genistina. Germinação. Isoflavonas. Viabilidade.

1 INTRODUÇÃO

Os flavonóides são polifenóis vegetais biossintetizados no metabolismo secundário, com função antioxidante por proteger a planta de estresses bióticos e abióticos (CHEN et al., 2022). Tais moléculas desempenham papeis cruciais no metabolismo das plantas, incluindo o desenvolvimento, crescimento e amadurecimento, prevenção de danos causados por patógenos e pragas, e atuação como mensageiros químicos em associações com micorrizas e bactéria (SHEN et al., 2022).

Os flavonóides geralmente se acumulam no vacúolo das células vegetais na forma de glicosídeos, sendo a classe de isoflavonas, as principais moléculas que se acumulam em leguminosas, especialmente na soja e seus derivados (KU et al., 2020). A capacidade antioxidante dos flavonóides está relacionada a sua estrutura estabilizada, permitindo que atuam com radicais livres reativos, protegendo as células vegetais contra ocorrência que prejudiquem seu metabolismo (JABBARI; JABBARI, 2016). Os benefícios dos flavonóides não se encontram apenas para os vegetais, mas também para a saúde humana, com utilização no tratamento de doenças e redução do risco de diversos tipos de câncer (HSIAO; HO; PAN, 2020).

A soja (*Glycine max* (L.) Merr.) é uma cultura importante em todo o mundo, principalmente devido a seu teor nutricional, composto por proteínas, aminoácidos, fibras, minerais, vitaminas e isoflavonas benéficas aos seres humanos (JIANG et al., 2020). O aumento das áreas plantadas de soja e a melhoria de suas características e composição são resultado do melhoramento genético vegetal, por meio da seleção de genótipos que apresentem expressão gênica para os conteúdos desejáveis e que estes sejam expressos no desenvolvimento das sementes (SUN et al., 2020).

As sementes de soja por sua vez, são as responsáveis pela perpetuação da espécie e propagação de características herdadas por seus progenitores, como o conteúdo de isoflavonas, mesmo que em quantidades menores, como a genisteína e daidzeína, e seus glicosídeos daidzina e genistina (KULIGOWSKI et al., 2022). A variação na composição e no rendimento das sementes são resultado da qualidade fisiológica apresentada, que é influenciada por fatores genéticos, físicos, fisiológicos e sanitários (MENEGUZZO et al., 2021). A mensuração dos atributos das sementes é realizada através de testes de germinação e vigor, buscando encontrar a capacidade das sementes em germinar e gerar plântulas normais mesmo em condições desfavoráveis de cultivo (MARCOS FILHO, 2015). Dentre os testes de vigor, o teste de primeira contagem de germinação (PCG) e tetrazólio vigor (TZVG) e viabilidade (TZVB) são

os mais utilizados, obtendo respostas sobre a qualidade do lote de sementes de forma rápida e acurada.

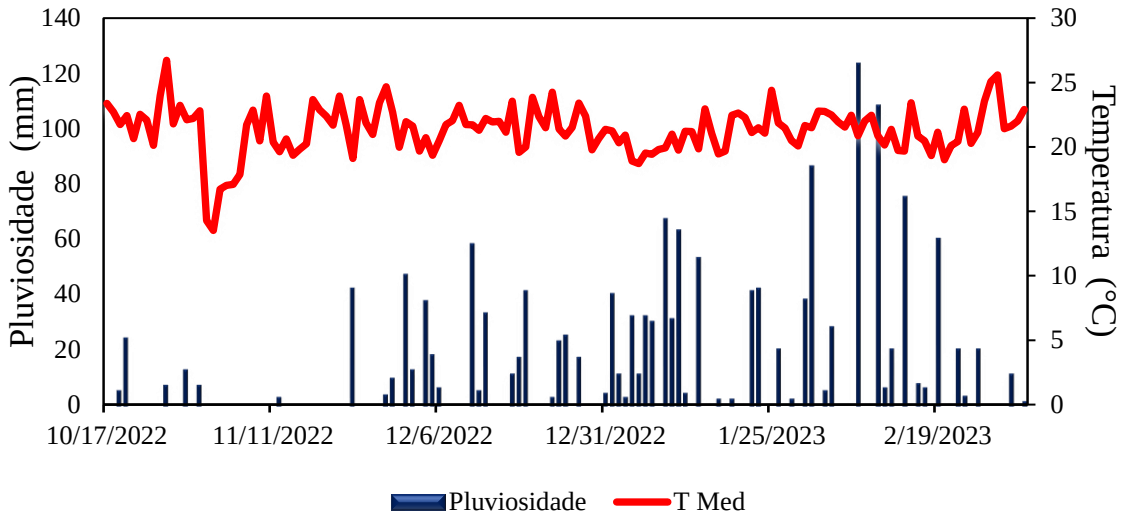
As sementes de soja são uma das fontes de proteínas mais ricas do reino vegetal e principal fonte dos derivados de flavonóides para a saúde humana. Diante disso, a hipótese deste trabalho se baseia na possibilidade da concentração de isoflavonas em sementes de soja contribuir para a qualidade fisiológica das sementes. Assim, o objetivo deste trabalho é analisar a quantidade de flavonóides presentes em genótipos de soja e sua influência na qualidade fisiológica das sementes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO DAS SEMENTES

As sementes de 32 populações de soja foram obtidas do programa de melhoramento da UFMS/CPCS, mediante condução de experimento na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, campus Chapadão do Sul – MS (Latitude 18°41’33’’S, Longitude 52°40’45’’W e Altitude 810). O solo se classifica como Latossolo Vermelho Distrófico Argiloso com pH (H_2O) = 6,2; Al trocável (cmolc dm^{-3}) = 0,0; Ca+Mg (cmolc dm^{-3}) = 4,31; P (mg dm^{-3}) = 41,3; K (cmolc dm^{-3}) = 0,2; Matéria orgânica (g dm^{-3}) = 19,74; V (%) = 45; m (%) = 0,0; Soma de bases (cmolc dm^{-3}) = 2,3; CTC (cmolc dm^{-3}) = 5,1 na camada de 0-0.2 m. O clima é classificado como Tropical de Savana (Aw), com inverso seco e verão chuvoso. A Figura 1 apresenta a pluviosidade e temperatura média durante a condução do experimento.

Figura 1 - Gráfico de pluviosidade e temperatura média durante a safra 2022/23 na área experimental da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, campus de Chapadão do Sul.



Fonte: Elaborado pela própria autora.

O experimento a campo foi conduzido na safra 2022/2023 em delineamento experimental blocos casualizados com quatro repetições e 32 genótipos. As parcelas experimentais apresentavam cinco linhas com um metro e meio de comprimento, espaçadas a 0.45 m e população de 15 plantas por metro.

A semeadura manual ocorreu em outubro de 2021 com preparo convencional do solo por meio de aração e gradagem. As sementes foram tratadas com fungicida (Piraclotrobina + Metil Tiofanato), inseticida (Fipronil) e inoculante (*Bradyrhizobium* spp.) na dosagem de 200 mL dos produtos para cada 100 kg de sementes. Os demais tratos culturais foram realizados conforme necessidade da cultura, visando controle de patógenos, insetos e plantas daninhas.

Após a maturação dos genótipos, as sementes foram colhidas e levadas para a realização dos testes de sementes em laboratório. Os testes de qualidade fisiológica de sementes e de cromatografia líquida foram realizados através de amostragem composta dos quatro blocos colhidos à campo, adotando-se a partir de então, delineamento experimental inteiramente casualizado.

2.2 ANÁLISE DA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES

As sementes foram inicialmente submetidas a determinação do teor de água através do método da estufa, onde duas subamostras de cada genótipo com aproximadamente 4.0 g de

sementes foram condicionadas em estufa de circulação de ar forçado à 105±3 ºC durante 24 h (Brasil, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem de base úmida.

O teste de germinação (GERM) foi realizado segundo metodologia proposta por Brasil (2009), onde quatro subamostras de 50 sementes de cada genótipo foram distribuídas sobre papel germitest previamente umedecido em 2.5 vezes seu peso e posteriormente mantidas em germinador à 25 ºC. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais aos oito dias. O teste de primeira contagem de germinação (PCG) foi realizado juntamente com o teste de germinação, através da contagem de plântulas normais aos cinco dias após a realização do teste, sendo esse resultado expresso em porcentagem de plântulas normais.

O teste de condutividade elétrica (CE) foi realizado com a pesagem de quatro subamostras de 25 sementes de cada genótipo em balança de precisão (0.0001 g) e colocadas em copos plásticos onde se adicionou 75 mL de água destilada, permanecendo no germinador por 24 horas à 25 ºC (PRADO et al., 2019). Os resultados foram obtidos através de leituras realizadas com auxílio de condutivímetro (DIGMED DM-31), com valores expressos em µS cm^{-1} g^{-1} de sementes.

O teste de tetrazólio foi realizado segundo metodologia de França-Neto e Krzyzanowski (2018), onde quatro subamostras de 25 sementes de cada genótipo, foram inicialmente submetidas a pré-embebição em papel Germitest umedecido 2.5 vezes seu peso e permanecendo no germinador à 25 ºC durante 16 horas. Após esse período as sementes foram embebidas em solução 2,3,5-cloreto de trigeniltetrazólio e acondicionadas em B.O.D no escuro à 40 ºC durante três horas. Posteriormente as sementes foram avaliadas e classificadas individualmente em relação a vigor (TZVG) e viabilidade (TZVB), com resultados expressos em porcentagem.

Após a realização dos testes de qualidade fisiológica, se procedeu a secagem e moagem de 40 g de sementes de cada genótipo e posterior pesagem de 0.005 g para obtenção da quantificação dos flavonóides presentes nas sementes de soja.

2.3 ANÁLISE DE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA PARA OBTENÇÃO DE FLAVONÓIDES

Para as análises as amostras de sementes foram secas e posteriormente moidas. Para a extração das isoflavonas, 50 mg das amostras foram adicionadas em eppendorf de 2 mL, no qual adicionou-se 1,5 mL de metanol 70% contendo ácido acético (0,1%). A mistura foi agitada brevemente e depois incubado por 2 horas em ultrasom. Posteriormente, as amostras foram

centrifugadas a 5.000 rpm por 20 min e o sobrenadante obtido foi filtrado por meio de uma seringa com um filtro de 0,2 µm e trasnferidos para vials de 1,5 mL antes da injeção em um sistema de cromatografia líquida de ultra performace (UPLC). Alíquotas de 10 µL foram utilizadas para injeção direta no equipamento. Cada amostra teve três repetições de análise (CARRÃO-PANIZZI; FAVONI; KIKUCHI, 2002).

A separação e quantificação das isoflavonas foram realizadas em cromatógrafo líquido no sistema UPLC Waters Acquity série 1100, com injetor automático de amostras. Utilizou-se uma coluna de fase reversa do tipo HSS C18, 1,8 µm (diâmetro interno de 2,1 mm (i.d.) £ 100 mm) com uma pré-coluna Acquity HSS C18, 1,8 µm (2,1 mm i.d. £ 5 mm). Para a separação das isoflavonas, adotou-se o sistema de gradiente linear binário, tendo como fases móvel: água Milli-Q e ácido acético 0,1% como solvente A e acetonitrila e ácido acético 0,1% como solvente B. O gradiente inicial foi de 99% para o solvente A e 1,0% para o solvente B de 0 a 9 minutos, 41,2% A e 58,8% B de 9 a 9,1 minutos, 100% B de 9,1 a 11 minutos e retorrnando a 99% A e 1% B aos 11 minutos e permanecendo assim até 15 minutos, que foi o tempo de corrida para cada amostra (CARRÃO-PANIZZI; FAVONI; KIKUCHI, 2002). A vazão da fase móvel foi de 0,289 mL min^{-1} e a temperatura da coluna durante a corrida foi de 30 ºC. A detecção das isoflavonas foi realizada utilizando o detector de arranjo de foto diodo da marca Waters, ajustado para o comprimento de onda igual a 254 nm. Para a detecção das isoflavonas, foram utilizados padrões adquiridos comercalmente de daidzeína (FLVD_D1), genisteína (FLVD_G1) e genistina (FLVD_G2), solubilizados em metanol 70% e ácido acético (0,1%), nas seguintes concentraçõs: 0,000125, 0,0002, 0,0005, 0,001, 0,01, 0,02 mg mL^{-1}. A identidade qualitativa e quantitativa do pico foi confirmada comparando os tempos de retenção e os espectros de UV de compostos individuais e pelo método de adição padrão.

Todos os solventes utilizados nas análises cromatográficas foram grau HPLC, e antes da utilização foram filtrados à vácuo em membrana de 0,2 µm de porosidade e posteriormente desgaseificados em sistema a vácuo utilizando ultrasom. A água utilizada foi destilada e em seguida ultrapurificada em sistema Milli-Q sendo posteriormente desgaseificada.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados inicialmente foram submetidos a análise de variância. Para as análises estatísticas, os dados foram considerados em delineamento inteiramente casualizado pelo teste F, à 5% de probabilidade e quando significativas, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade (SCOTT; KNOTT, 1974).

Posteriormente um gráfico de variáveis canônicas foi construído para avaliar a relação das variáveis analisadas e as 32 populações de soja, e uma análise de correlação de Pearson foi realizada para observar a correlação entre as variáveis estudadas. Todas as análises foram realizadas no software estatístico R (R CORE TEAM, 2013).

3 RESULTADOS

As variáveis fisiológicas e os teores de flavonóides dos 32 genótipos de soja diferiram em relação as variáveis de primeira contagem de germinação (PCG) e genistina (G2) (Tabela 1). Dessa forma, as variáveis PCG e G2 foram comparadas em relação as suas médias, evidenciando os genótipos que apresentavam diferença em relação aos demais.

Tabela 1 - Resumo da análise de variância para as variáveis fisiológicas de sementes condutividade elétrica (CE), primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GERM), tetrazólio vigor (TZVG) e tetrazólio viabilidade (TZVB) e teores de flavonóides daidzeína (FLVD_D1), genisteína (FLVD_G1) e genistina (FLVD_G2) para 32 genótipos de soja.

FV	GL	CE	PCG	GERM	TZVG	TZVB
Genótipos	31	$0{,}0027^{ns}$	65,6*	$31{,}2^{ns}$	$75{,}84^{ns}$	$27{,}08^{ns}$
Resíduo	62	0,0028	31	20,84	77,78	19,11
CV (%)		78,02	6,33	4,95	11,61	4,7
FV	GL	FLVD_D1		FLVD_G1		FLVD_G2
Genótipos	31	$5{,}80^{-08\ ns}$		$2{,}20^{-05\ ns}$		$5{,}78^{-07}$*
Resíduo	62	$4{,}31^{-08}$		$2{,}23^{-05}$		$3{,}50^{-07}$
CV (%)		100,85		343,84		107,65

FV: fonte de variação; CV (%).: coeficiente de variação; GL: Graus de liberdade; * significativo e ^{ns} não significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Elaborado pela própria autora.

No teste de comparação de médias nota-se que os genótipos G14, G15, G17, G18, G19, G23 e G24 apresentaram comportamento inferior para PCG (Tabela 2). Os demais genótipos demonstraram comportamento superior para essa variável, com resultados acima de 88% de PCG. Os genótipos G1, G2 e G3 destacaram-se dos demais para os teores de G2.

Tabela 2 - Comparação de médias para as variáveis primeira contagem de germinação (PCG) e concentração de flavonóide genistina (FLVD_G2) para 32 genótipos de soja.

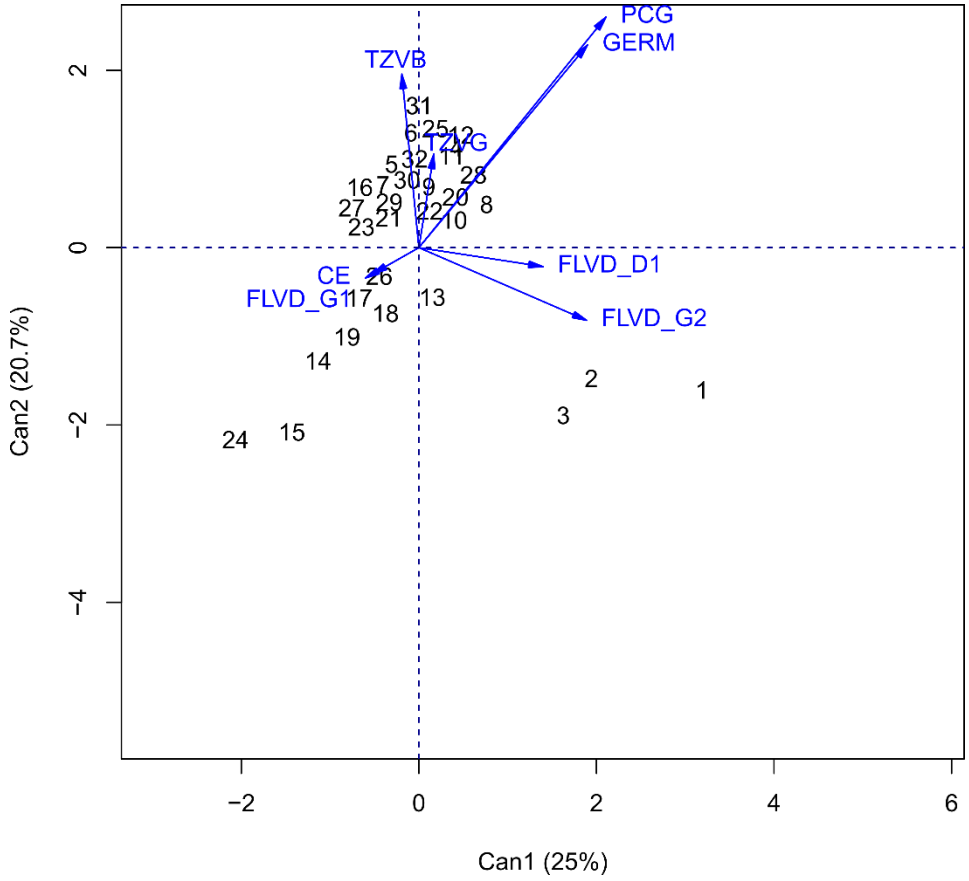
Genótipos	PCG (%)	FLVD_G2 (mg mL^{-1})
G1	89,33 a	0,00214 a
G2	90,33 a	0,00168 a
G3	86,67 a	0,00182 a
G4	93,00 a	0,00045 b
G5	89,67 a	0,00039 b
G6	90,33 a	0,00043 b
G7	92,00 a	0,00038 b
G8	89,00 a	0,00043 b
G9	90,67 a	0,00043 b
G10	89,67 a	0,00037 b
G11	92,00 a	0,00047 b
G12	88,00 a	0,00037 b
G13	88,00 a	0,00039 b
G14	80,67 b	0,00044 b
G15	74,00 b	0,00043 b
G16	90,67 a	0,00040 b
G17	84,67 b	0,00042 b
G18	82,00 b	0,00038 b
G19	83,67 b	0,00041 b
G20	90,00 a	0,00044 b
G21	88,67 a	0,00037 b
G22	90,00 a	0,00043 b
G23	83,33 b	0,00041 b
G24	75,00 b	0,00041 b
G25	92,00 a	0,00042 b
G26	87,67 a	0,00039 b
G27	88,00 a	0,00041 b
G28	92,00 a	0,00043 b
G29	91,00 a	0,00043 b
G30	90,67 a	0,00040 b
G31	91,00 a	0,00041 b
G32	91,67 a	0,00042 b

Letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott à 5% de probabilidade.

Fonte: Elaborado pela própria autora.

Um gráfico de variáveis canônicas foi construído para avaliar a relação das variáveis analisadas e os 32 genótipos de soja (Figura 2). Nota-se uma certa proximidade do vetor FLVD_G2 com os genótipos de soja G1, G2 e G3, como também foi indicado no teste de comparação de médias (Tabela 2). Nota-se também proximidade dos genótipos G14, G17, G18, G19, G26 e uma relação dos genótipos G15 e G24 com os vetores das variáveis flavonóide genisteína (FLVD_G1) e condutividade elétrica (CE). Os demais genótipos ficaram agrupados e próximos das demais variáveis.

Figura 2 - Análise de variáveis canônicas para as variáveis fisiológicas de sementes condutividade elétrica (CE), primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GERM), tetrazólio vigor (TZVG) e tetrazólio viabilidade (TZVB) e teores de flavonóides daidzeína (FLVD_D1), genisteína (FLVD_G1) e genistina (FLVD_G2) para 32 genótipos de soja.

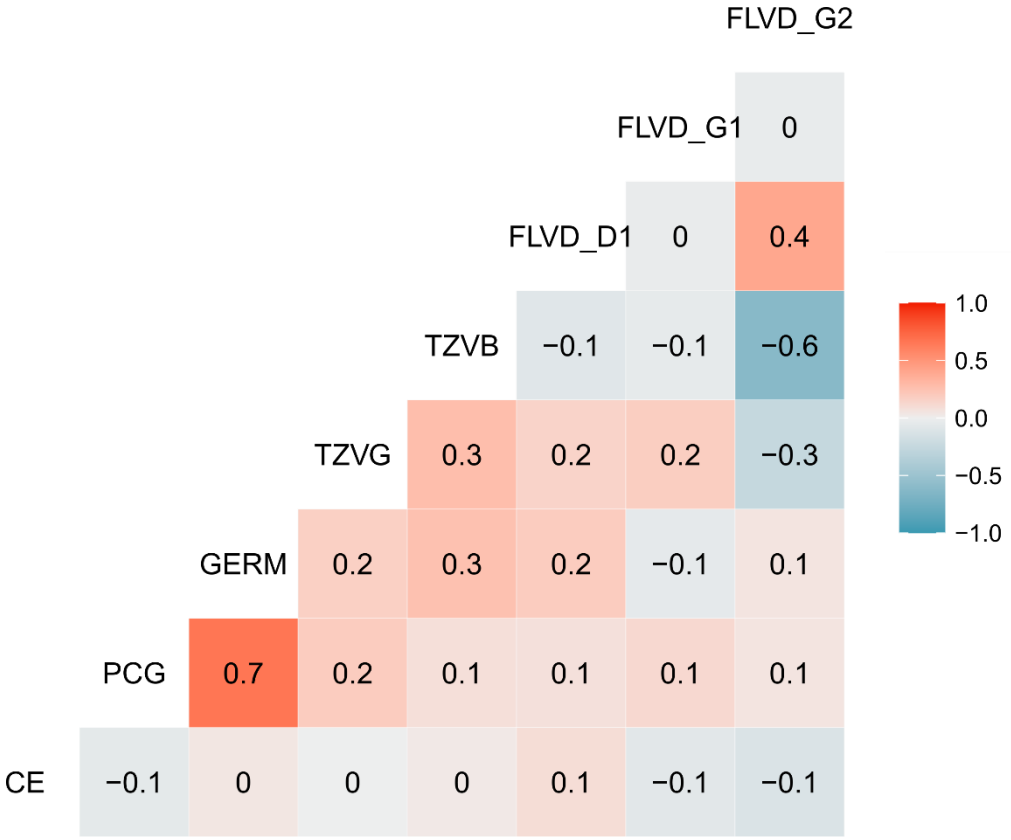


Fonte: Elaborado pela própria autora.

O gráfico de correlação de Pearson apresenta correlações em destaque as variáveis PCG e germinação (GERM), e negativa entre tetrazólio vigor (TZVB) e FLVD_G2 (Figura 3). Correlação de grau moderado pode ser observado entre o flavonóide daidzeína (FLVD_D1) e FLVD_G2. As demais correlações entre as variáveis foram de grau muito fraco ou inexistente.

Figura 3 - Correlação de Pearson para as variáveis fisiológicas de sementes condutividade elétrica (CE), primeira contagem de germinação (PCG), germinação (GERM), tetrazólio vigor

(TZVG) e tetrazólio viabilidade (TZVB) e teores de flavonóides daidzeína (FLVD_D1), genisteína (FLVD_G1) e genistina (FLVD_G2) para 32 genótipos de soja.



Fonte: Elaborado pela própria autora.

Os resultados encontrados nesse trabalho evidenciam a ocorrência de genótipos com maiores quantidades de flavonóides quando comparados a seus pares. O flavonóide FLVD_G2 apresentou maior concentração e diferiu dos demais. Dessa forma, é possível inferir que o tipo e a concentração de flavonóides não influenciam a qualidade fisiológica de sementes de diferentes genótipos de soja, mas contribui indiretamente para a viabilidade e o vigor, uma vez que os genótipos que apresentaram maiores teores de FLVD_G2 apresentavam melhores valores de PCG.

4 DISCUSSÃO

Os genótipos estudados foram significativos para as variáveis primeira contagem de germinação (PCG) e genistina (FLVD_G2) (Tabela 1). O PCG é um teste de vigor realizado em sementes com a finalidade de obter os genótipos com maior capacidade de germinar e gerar plântulas normais de forma rápida sob condições ambientais desfavoráveis (REED;

BRADFORD; KHANDAY, 2022). Já os flavonóides são compostos resultantes do metabolismo secundário das plantas, desempenhando papel importante no metabolismo antioxidante e de defesa das plantas (HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ; BAQUERO; LARROTA, 2019). Dessa forma, entende-se que as duas variáveis analisam quais as sementes com melhores características fisiológicas de sementes, diretamente relacionadas com maior controle de radicais livres e metabolismo oxidativo, fatores que interferem a capacidade de germinar e gerar plantas vigorosas (CHEN et al., 2022).

As maiores concentrações de FLVD_G2 foram observadas nos genótipos G1, G2 e G3 (Tabela 2). Com exceção dos genótipos G14, G15, G17, G18, G19, G23 e G24, os demais genótipos apresentaram valores acima de 85% de PCG. Os flavonóides são compostos secretados pelas raízes das plantas como forma de estabelecer uma associação com rizóbios, colaborando com a formação de nódulos nas raízes e melhorando a absorção de nutrientes (LI et al., 2018). Todavia, existem classes de flavonóides que também são encontrados em folhas, flores e sementes, desempenhando função de proteção contra a luz ultravioleta, defesa contra estresses abióticos e regulação do movimento de auxinas nas plantas (SANDOVAL-YAÑEZ; MASCAYANO; MARTÍNEZ-ARAYA, 2018). A genisteína é uma isoflavona, uma classe de flavonóides, que corresponde a aproximadamente 50% de todas as isoflavonas presentes na soja, porém, as propriedades bioativas presentes nas folhas e sementes são dependentes da composição genômica e condições ambientais onde as plantas são cultivadas (KIM; KIM, 2020). Entre as leguminosas, a soja apresenta a maior riqueza de isoflavonas, incluindo genisteína e daidzeína, desempenhando papel importante no metabolismo de defesa (ROJAS et al., 2014). Assim, é possível inferir que os genótipos G1, G2 e G3 apresentaram maior concentração de FLVD_G2 por sua composição genética, contribuindo para que as sementes apresentassem bons resultados no PCG.

A análise de variáveis canônicas verificou a proximidade do vetor FLVD_G2 com os genótipos G1, G2 e G3 (Figura 2). Esse resultado corrobora com o encontrado na Tabela 2, onde esses genótipos apresentam maiores concentrações desse flavonóide. A ocorrência de maior concentração de genistina indica que esses genótipos apresentam alto potencial intrínseco para induzir a eliminação de espécies reativas de oxigênio (EROs) quando as sementes são submetidas a atividades que promovam seu desenvolvimento, como estresse de ordem abiótica que ative a respiração celular (SHEN et al., 2022). A ação antioxidante ocorre devido ao grande número de grupos hidroxilas em suas moléculas, eliminando radicais livres e inibindo enzimas geradoras de radicais livres (NAGARAJAN et al., 2020). Porém, como já citado, a regulação da produção de flavonóides, mas especificamente isoflavonas na soja, é uma atividade mediada

geneticamente, explicando a alta concentração nos genótipos G1, G2 e G3 e a não ocorrência nos demais genótipos.

Os vetores do flavonóide genisteína (FLVD_G1) e condutividade elétrica (CE) foram sobrepostos, com proximidade aos genótipos G14, G17, G18, G19 e G26. O CE é um teste de vigor baseado na integridade do sistema de membranas celulares, onde o teor de lixiviados, principalmente açúcares e aminoácidos, determina o nível de vigor das sementes de soja (PRADO et al., 2019). O FLVD_G1 por sua vez, evidencia a presença de genisteína, uma isoflavona que juntamente com a daidzeína, compõe a maior concentração de flavonóides nas sementes de soja, que podem ocorrer também da forma de seus glicosídeos, uma vez que a genistina é um subproduto da genisteína (KIM; KIM, 2020). A proximidade de ambos os vetores, indica que as sementes dos genótipos citados, apresentam resultados semelhantes em relação a composição de FLVD_G1, todavia os genótipos G14, G17 e G19 não apresentam bons resultados em relação ao vigor, como observado no teste de PCG. Dessa forma, este resultado pode estar relacionado a concentrações superiores de FLVD_G1 no genótipo G26 e resultados elevados de CE para os genótipos G14, G17, G18 e G19, indicando que esses genótipos não apresentam boa integridade de membranas e devido a isso, são mais susceptíveis ao ataque de patógenos durante a emissão da raiz primária, resultando em baixo vigor.

Os vetores de PCG e germinação (GERM) se encontram sobrepostos, e os vetores de tetrazólio vigor (TZVG) e tetrazólio viabilidade (TZVB) apresentam proximidade entre si, com os demais genótipos próximos a eles. Os genótipos G20 e G28 se encontram sobre os vetores de PCG e GERM, indicando que ambos apresentam bons resultados para essas variáveis que são intimamente relacionadas. A qualidade fisiológica de sementes, estudada pelos testes de GERM e vigor, como PCG, TZVG e TZVB, recebe influência de fatores de ordem fisiológica, física, sanitária e genética, que são pilares fundamentais para as sementes expressarem suas funções vitais (MARCOS FILHO, 2015).

A correlação encontrada entre PCG e GERM (Figura 3) é esperada, uma vez que as análises são realizadas de forma conjunta no mesmo teste. A correlação entre o flavonóide daidzeína (FLVD_D1) e FLVD_G2, pode ser relacionado ao fato de a soja ser fontes de isoflavonas como daidzeína e genistina, sendo a daidzeína o produto mais abundante e a genistina um glicosídeo da genisteína, o segundo produto mais abundante (LIU et al., 2020). Já a correlação negativa entre TZVB e FLVD_G2 pode ser resultado da baixa presença de daidzina nas sementes dos genótipos, especialmente em relação a sua viabilidade, avaliada pelo TZVB. A daidzina é a forma de glicosídeo da daidzeína, uma forma mais solúvel em água e, portanto, mais adequadas para armazenamento nos vacúolos das células vegetais, além de mais estáveis

e resistentes as degradações enzimáticas (KU et al., 2020). A variável TZVB, por sua vez, avalia de forma teórica a capacidade das sementes emitirem a raiz primária quando sob ação de fatores que retardam a germinação (REED; BRADFORD; KHANDAY, 2022). Assim, a correlação negativa encontrada entre TZVB e FLVD_2 pode estar relacionada a ocorrência de sementes viáveis, não sendo necessário a ativação de moléculas antioxidantes como a daidzina.

Dessa forma, observa-se que os genótipos de soja apresentam diferença na concentração de flavonóides, sendo essa característica modulada geneticamente. A ocorrência de genótipos com maior quantidade do flavonóide genistina não influenciou a ocorrência de sementes com maior qualidade fisiológica, porém contribuiu de forma indireta para a viabilidade e o vigor das sementes, por sua contribuição na minimização de radiais livres que prejudicariam as sementes de expressar seu máximo potencial. Perspectivas futuras para o assunto seriam a obtenção da quantificação de moléculas de isoflavonas em sementes de soja e sua relação com o vigor de sementes de diferentes genótipos de soja.

5 CONCLUSÃO

Os genótipos de soja apresentam diferença na concentração de flavonóides em suas sementes. O flavonóide genistina apresenta maior concentração em determinados genótipos de soja. A concentração de flavonóides não influencia a qualidade fisiológica de sementes de soja, mas contribui para o aumento da viabilidade e vigor.

REFERÊNCIAS

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, P. e Abastecimento. S. de D. A. **Regras para análise de sementes**. [s.l: s.n.].

CARRÃO-PANIZZI, M. C.; FAVONI, S. P. de G.; KIKUCHI, A. Extraction time for soybean isoflavone determination. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, [s. l.], v. 45, p. 515–518, 2002.

CHEN, Z.; ZHONG, W.; ZHOU, Y.; JI, P.; WAN, Y.; SHI, S.; YANG, Z.; GONG, Y.; MU, F.; CHEN, S. Integrative analysis of metabolome and transcriptome reveals the improvements of seed quality in vegetable soybean (Glycine max (L.) Merr.). **Phytochemistry**, [s. l.], v. 200, 2022.

FRANCA NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A. A importancia do Uso de Semente de Soja de Alta Qualidade. [s. l.], 2010.

HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, P.; BAQUERO, L. P.; LARROTA, H. R. Flavonoids. Em: **Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications**. [s.l.] : Elsevier, 2019. p. 265–288.

HSIAO, Y. H.; HO, C. T.; PAN, M. H. **Bioavailability and health benefits of major isoflavone aglycones and their metabolites**, Elsevier Ltd, 2020.

JABBARI, M.; JABBARI, A. Antioxidant potential and DPPH radical scavenging kinetics of water-insoluble flavonoid naringenin in aqueous solution of micelles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, [s. l.], v. 489, p. 392–399, 2016.

JIANG, G. L.; KATUURAMU, D. N.; XU, Y.; REN, S.; RUTTO, L. K. Analysis and comparison of seed protein, oil, and sugars in edamame dried using two oven-drying methods and mature soybeans. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l.], v. 100, n. 10, p. 3987–3994, 2020.

KIM, M. A.; KIM, M. J. Isoflavone profiles and antioxidant properties in different parts of soybean sprout. **Journal of Food Science**, [s. l.], v. 85, n. 3, p. 689–695, 2020.

KULIGOWSKI, M.; SOBKOWIAK, D.; POLANOWSKA, K.; JASIŃSKA-KULIGOWSKA, I. Effect of different processing methods on isoflavone content in soybeans and soy products. **Journal of Food Composition and Analysis**, [s. l.], v. 110, 2022.

KU, Y. S.; NG, M. S.; CHENG, S. S.; LO, A. W. Y.; XIAO, Z.; SHIN, T. S.; CHUNG, G.; LAM, H. M. **Understanding the composition, biosynthesis, accumulation and transport of flavonoids in crops for the promotion of crops as healthy sources of flavonoids for human consumption**, MDPI AG, 2020.

LI, K.; FAN, H.; YIN, P.; YANG, L.; XUE, Q.; LI, X.; SUN, L.; LIU, Y. Structure-activity relationship of eight high content flavonoids analyzed with a preliminary assign-score method and their contribution to antioxidant ability of flavonoids-rich extract from Scutellaria baicalensis shoots. **Arabian Journal of Chemistry**, [s. l.], v. 11, n. 2, p. 159–170, 2018.

LIU, J. Y. H.; SUN, M. Y. Y.; SOMMERVILLE, N.; NGAN, M. P.; PONOMAREV, E. D.; LIN, G.; RUDD, J. A. Soy flavonoids prevent cognitive deficits induced by intra-gastrointestinal administration of beta-amyloid. **Food and Chemical Toxicology**, [s. l.], v. 141, p. 111396, 2020.

MARCOS FILHO, J. Seed vigor testing: an overview of the past, present and future perspective. **Scientia agricola**, [s. l.], v. 72, p. 363–374, 2015.

MENEGUZZO, M. R. R.; MENEGHELLO, G. E.; NADAL, A. P.; XAVIER, F. D. M.; DELLAGOSTIN, S. M.; CARVALHO, I. R.; GONÇALVES, V. P.; LAUTENCHLEGER, F.; LÂNGARO, N. C. Seedling length and soybean seed vigor. **Ciencia rural**, [s. l.], v. 51, n. 7, 2021.

NAGARAJAN, S.; NAGARAJAN, R.; KUMAR, J.; SALEMME, A.; TOGNA, A. R.; SASO, L.; BRUNO, F. Antioxidant activity of synthetic polymers of phenolic compounds. **Polymers**, [s. l.], v. 12, n. 8, p. 1646, 2020.

PRADO, J. P. Do; KRZYZANOWSKI, F. C.; MARTINS, C. C.; VIEIRA, R. D. Physiological potential of soybean seeds and its relationshipto electrical conductivity. **Journal of Seed Science**, [s. l.], v. 41, p. 407–415, 2019.

R CORE TEAM, R. R: A language and environment for statistical computing. [s. l.], 2013.

REED, R. C.; BRADFORD, K. J.; KHANDAY, I. Seed germination and vigor: ensuring crop sustainability in a changing climate. **Heredity**, [s. l.], v. 128, n. 6, p. 450–459, 2022.

ROJAS, C. M.; SENTHIL-KUMAR, M.; TZIN, V.; MYSORE, K. S. **Regulation of primary plant metabolism during plant-pathogen interactions and its contribution to plant defense**, Frontiers Research Foundation, 2014.

SANDOVAL-YAÑEZ, C.; MASCAYANO, C.; MARTÍNEZ-ARAYA, J. I. A theoretical assessment of antioxidant capacity of flavonoids by means of local hyper–softness. **Arabian Journal of Chemistry**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 554–563, 2018.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. **A Cluster Analysis Method for Grouping Means in the Analysis of Variance**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <http://www.jstor.orgURL:http://www.jstor.org/stable/2529204Accessed:30/04/200815:58>.

SHEN, N.; WANG, T.; GAN, Q.; LIU, S.; WANG, L.; JIN, B. **Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity**, Elsevier Ltd, 2022.

SUN, S.; YI, C.; MA, J.; WANG, S.; PEIRATS-LLOBET, M.; LEWSEY, M. G.; WHELAN, J.; SHOU, H. Analysis of spatio-temporal transcriptome profiles of soybean (*Glycine max*) tissues during early seed development. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 21, n. 20, p. 1–21, 2020.