

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Fenotipagem de alto rendimento durante o desenvolvimento de plantas e produção de sementes de soja sob deficiência hídrica

Carlos Henrique Queiroz Rego

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

**Piracicaba
2023**

Carlos Henrique Queiroz Rego
Bacharel em Agronomia

**Fenotipagem de alto rendimento durante o desenvolvimento de plantas e
produção de sementes de soja sob deficiência hídrica**

Orientador:
Prof. Dr. Silvio Moure Cicero

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Rego, Carlos Henrique Queiroz Rego

Fenotipagem de alto rendimento durante o desenvolvimento de plantas e produção de sementes de soja sob deficiência hídrica / Carlos Henrique Queiroz Rego. - - Piracicaba, 2023.

141 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

1 *Glycine max* (L.) Merrill 2. Imagens hiperespectrais 3. Inteligência artificial.
I. Título

DEDICATÓRIA

À Deus, causa primordial de todas as coisas.

À minha família, em especial ao meu avô José Carlos de Queiroz (*in memoriam*), um dos maiores incentivadores das realizações dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida, por toda proteção, amor e misericórdia

À minha família, em especial meus pais Telma e Agmar, ao meu irmão Thiago, aos meus avós José Carlos (*in memorian*), Maria D' Lourdes, Armindo (*in memorian*) e Ana, por todo apoio e dedicação para que eu chegasse até aqui.

À Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz, pela oportunidade de me aperfeiçoar profissionalmente.

Ao meu orientador Prof. Dr. Silvio Moure Cicero, por todos os ensinamentos, conselhos e discussões, que contribuíram muito para minha evolução pessoal e profissional.

Ao Prof. Dr. Francisco Guilhien Gomes Junior, pelos ensinamentos, amizade e contribuição em minha formação e no desenvolvimento desse projeto.

Aos demais docentes, técnicos e funcionários do Departamento de Produção Vegetal da Esalq/USP pelo conhecimento e suporte dispensados.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos (40571/2020-5) no período de fevereiro de 2020 a junho de 2021.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa concedida (2021/01266-0) no período de julho de 2021 a fevereiro de 2024, e demais auxílios financeiros.

Ao Instituto de Química – Unicamp, em especial ao Prof. Dr. Celio Pasquini e a Dra. Cristiane Vidal por permitirem a utilização do equipamento SisuChema para aquisição das imagens hiperespectrais.

Ao técnico do Laboratório Multiusuário em Produção Vegetal Edson de Moraes pelo auxílio nas análises laboratoriais bioquímicas.

Aos amigos e colegas da pós-graduação, em especial a Fabiano França, Livia Rohr, Mayara Rodrigues, Rafael Alves, Abimael Santos, Glória Freitas e Daniele Horz por auxiliarem não apenas na condução desse projeto, mas por todos os momentos de convivência ao longo dessa etapa.

À empresa GDM Seeds, pelo fornecimento das sementes utilizadas nessa pesquisa.

Aos membros da banca examinadora, pelo interesse, disponibilidade e conhecimentos transmitidos.

À todos aqueles que tenham contribuído de alguma maneira para este projeto, o meu agradecimento!

“Conhece-te, aceita-te, supera-te.”
Santo Agostinho

SUMÁRIO

RESUMO	8
ABSTRACT	9
LISTA DE FIGURAS.....	10
LISTA DE TABELAS.....	13
1. INTRODUÇÃO.....	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1. IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E DESAFIOS NA PRODUÇÃO DE SEMENTES DE SOJA	17
2.2. EFEITOS DO DÉFICIT HÍDRICO EM PLANTAS DE SOJA.....	18
2.3. FENOTIPAGEM DE PLANTAS	20
2.4. FUNDAMENTOS DE ESPECTROSCOPIA.....	21
2.5. MODELOS QUIMIOMÉTRICOS PARA PROCESSAMENTO DE DADOS HIPERESPECTRAIS	26
2.6. APLICAÇÕES DE IMAGENS HIPERESPECTRAIS EM ESTUDOS DO DÉFICIT HÍDRICO.....	29
3. MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1. EXPERIMENTO I: ESTUDO DO DÉFICIT HÍDRICO EM PLANTAS DE SOJA.....	31
3.2. EXPERIMENTO II: ESTUDO DA DISSIMILARIDADE FENOTÍPICA ENTRE CULTIVARES DE SOJA A PARTIR DE DADOS HIPERESPECTRAIS	40
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
4.1. EXPERIMENTO I.....	45
4.2. EXPERIMENTO II	83
5. CONCLUSÕES.....	105
REFERÊNCIAS.....	107
APÊNDICE A.....	127
APÊNDICE B.....	141

RESUMO

Fenotipagem de alto rendimento durante o desenvolvimento de plantas e produção de sementes de soja sob deficiência hídrica

O objetivo desse estudo foi observar o efeito do estresse hídrico no desenvolvimento de plantas, nos componentes de produção e na qualidade fisiológica de sementes, além de verificar a eficácia do uso de imagens hiperespectrais em conjunto com técnicas quimiométricas para avaliar a dissimilaridade fenotípica entre cultivares de soja submetidas ao déficit hídrico. Para tal, foram utilizados dois cultivares, que diferem em suas respostas quanto ao estresse hídrico, sendo BRASMAX COMPACTA IPRO (suscetível) e DM 66168 IPRO (tolerante). O ensaio foi realizado em vasos e cultivados em casa de vegetação, onde foram aplicadas as seguintes condições de restrição hídrica: controle (65 % da capacidade de retenção de água do substrato - CRAS); déficit moderado (50 % da CRAS) em V2; déficit severo (30 % da CRAS) em V2; déficit moderado em R6; déficit severo em estágio R6; déficit moderado em V2 e R6; déficit severo em V2 e R6. No primeiro experimento, as plantas de soja oriundas das diferentes condições de restrição hídrica foram amostradas em diversos estádios fenológicos e, partir destas, foram realizadas as seguintes análises: massa de matéria seca; teor de açúcar solúvel; teor de proteínas; teor de lipídeos; avaliação dos componentes de produção; análise do teor de água e da qualidade fisiológica das sementes. No segundo experimento: as plantas (folhas e sementes) coletadas em diferentes estádios de desenvolvimento, foram destinadas para aquisição de imagens hiperespectrais, por meio do sensor Sisuchema. Posteriormente, as imagens foram submetidas à análise exploratória de dados e utilizadas em modelos quimiométricos, incluindo Suporte de Vetor de Máquinas e K-vizinho mais distante. Em suma, os resultados demonstraram que o estresse hídrico durante a fase vegetativa afeta negativamente o crescimento e desenvolvimento das plantas do cultivar suscetível, bem como o rendimento. Em contrapartida, o cultivar tolerante manteve seu rendimento apesar das condições adversas. Entretanto, quando o déficit hídrico ocorreu tanto nos estádios vegetativo quanto reprodutivo, o desenvolvimento das plantas, os componentes de produção e a qualidade das sementes foram afetados, independente da suscetibilidade dos cultivares. Além disso, a qualidade das sementes foi mais prejudicada quando o déficit hídrico ocorreu no estágio reprodutivo, influenciando também a composição química das sementes. Por outro lado, as imagens hiperespectrais se mostraram promissoras para realização da fenotipagem de plantas; os modelos de predição baseados em dados foliares apresentaram resultados de classificação excelentes, proporcionando a avaliação da dissimilaridade fenotípica por meio de sensores hiperespectrais, sendo que os modelos delineados a partir dos dados oriundos das sementes não foram consistentes na classificação dos cultivares.

Palavras-chave: 1 *Glycine max* (L.) Merrill 2. Imagens hiperespectrais 3. Inteligência artificial

ABSTRACT

High-throughput phenotyping during soybean plant development and seed production under water deficit

The aim of this study was to observe the effect of water stress on plant development, production components and seed physiological quality, as well as to verify the effectiveness of using hyperspectral images in conjunction with chemometric techniques to assess phenotypic dissimilarity between soybean cultivars subjected to water deficit. To this end, two cultivars were used, which differ in their responses to water stress: BRASMAX COMPACTA IPRO (susceptible) and DM 66I68 IPRO (tolerant). The trial was carried out in pots and grown in a greenhouse, where the following water restriction conditions were applied: control (65 % of the substrate's water retention capacity - CRAS); moderate deficit (50 % of CRAS) in V2; severe deficit (30 % of CRAS) in V2; moderate deficit in R6; severe deficit in stage R6; moderate deficit in V2 and R6; severe deficit in V2 and R6. In the first experiment, the soybean plants from the different water restriction conditions were sampled at different phenological stages and the following analyses were carried out: dry matter mass; soluble sugar content; protein content; lipid content; evaluation of production components; analysis of water content and seed physiological quality. In the second experiment, plants (leaves and seeds) collected at different stages of development were used to acquire hyperspectral images using the Sisuchema sensor. The images were then subjected to exploratory data analysis and used in chemometric models, including Support Vector Machines and K-farthest neighbor. In summary, the results showed that water stress during the vegetative phase negatively affects the growth and development of the plants of the susceptible cultivar, as well as the yield. In contrast, the tolerant cultivar maintained its yield despite the adverse conditions. However, when water deficit occurred in both the vegetative and reproductive stages, plant development, production components and seed quality were affected, regardless of the susceptibility of the cultivars. In addition, seed quality was more impaired when water deficit occurred in the reproductive stage, also influencing the chemical composition of the seeds. On the other hand, hyperspectral images proved promising for plant phenotyping; the prediction models based on leaf data showed excellent classification results, allowing phenotypic dissimilarity to be assessed using hyperspectral sensors, while the models drawn up using data from seeds were not consistent in classifying cultivars.

Keywords: 1 *Glycine max* (L.) Merrill 2. Hyperspectral images 3. Artificial intelligence

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Produção em toneladas de sementes de soja por unidades federativas do Brasil nas safras 2021/22 (A) e 2022/23 (B). Fonte: BRASIL, 2023	17
Figura 2. Representação esquemática da imagem hiperespectral (A, B e C), abordagens dos modos de aquisição das imagens hiperespectrais (D, E e F) e modos de detecção de imagem (G, H e I)	25
Figura 3 - Preparo do substrato utilizado no experimento	32
Figura 4 - Vasos plásticos no dia da semeadura (à esquerda) e 7 dias após a semeadura (à direita), no interior da casa de vegetação	33
Figura 5. Visão geral do sensor hiperespectral Sisuchema (A), amostras de folhas acondicionadas sobre o suporte de PTFE (B) e amostra no momento da aquisição das imagens hiperespectrais (C) 41	
Figura 6. Média (linha azul) e desvio padrão (linhas vermelhas pontilhadas) dos espectros NIR brutos (A) e após o pré-processamento pelos métodos SNV e derivados Savitzky-Golay (B) obtidos para folhas de soja oriunda da condição controle no estádio R2	42
Figura 7. Gráfico de temperatura do ar (A), de umidade relativa do ar (B) no interior da casa de vegetação e insolação incidente (C) sobre a casa de vegetação	46
Figura 8. Plantas de soja dos cultivares suscetível e tolerante oriundas da condição controle e das condições moderada e severa de déficit hídrico imposto no estádio vegetativo V2, com reflexo nos estádios V4, Vn e R2	49
Figura 9. Plantas de soja dos cultivares suscetível e tolerante oriundas da condição controle e das condições moderada e severa de déficit hídrico imposto no estádio reprodutivo R6, com reflexo nos estádios fenológicos R6 e R7	51
Figura 10. Plantas de soja dos cultivares suscetível e tolerante oriundas da condição controle e das condições moderada e severa de déficit hídrico imposto em associação nos estádios vegetativo (V2) e reprodutivo (R6), com reflexo nos estádios V4, Vn, R2, R6 e R7	53
Figura 11. Espectros médios de absorvância para folhas das plantas de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante os estádios de desenvolvimento da cultura sob a condição controle de fornecimento de água	84
Figura 12. Espectros médios de absorvância para sementes de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante os estádios de desenvolvimento da cultura sob a condição controle de fornecimento de água	85
Figura 13. Espectros médios de absorvância para folhas das plantas de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante o estádio R2 para as condições de déficit moderado no vegetativo (A) e déficit severo no vegetativo (B) e durante os estádios R6 (C) e R7 (D) para a condição de déficit severo em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo	87

Figura 14. Espectros médios de absorvância para sementes de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante o estágio R6 para a condição de déficit severo no estágio reprodutivo (A) e durante os estágios R6 (B) e R7 (C) para a condição de déficit severo em associação nos estágios vegetativo e reprodutivo	88
Figura 15. Modelo PCA para dados obtidos de folhas das plantas de soja dos cultivares suscetível e tolerante coletados em diferentes épocas e condições de déficit hídrico, sendo: I – conjunto de dados obtidos no estágio R2, oriundo da condição de déficit hídrico moderado no estágio vegetativo; II – conjunto de dados obtidos no estágio R2, oriundo da condição de déficit hídrico severo no estágio vegetativo; III – conjunto de dados obtidos no estágio R6 oriundo da condição de déficit hídrico em associação nos estágios vegetativo e reprodutivo; IV – conjunto de dados obtidos no estágio R7 oriundo da condição de déficit hídrico em associação nos estágios vegetativo e reprodutivo. Para cada conjunto de dados, foram obtidas as variâncias de correspondentes a cada componente principal, assim como as superfícies de pontuações dos <i>pixels</i> e os coeficientes de cada componente, onde: “ A ” apresenta a imagem da variância e pontuações obtidas para o primeiro componente (PC1), “ B ”, representa a variância e pontuações obtidas para o segundo componente (PC2) e “ C ” o gráfico de coeficientes (<i>loadings</i>) para os dois primeiros componentes	90
Figura 16. Modelo PCA para dados obtidos de sementes de soja dos cultivares suscetível e tolerante coletados em diferentes épocas e condições de déficit hídrico, sendo: I – conjunto de dados obtidos no estágio R6, oriundas da condição de déficit hídrico severo no estágio reprodutivo; II – conjunto de dados obtidos no estágio R6 oriundos da condição de déficit hídrico em associação nos estágios vegetativo e reprodutivo; III – conjunto de dados obtidos no estágio R7 oriundos da condição de déficit hídrico em associação nos estágios vegetativo e reprodutivo. Para cada conjunto de dados, foram obtidas as variâncias de correspondentes a cada componente principal, assim como as superfícies de pontuações dos <i>pixels</i> e os coeficientes de cada componente, onde: “ A ” apresenta a imagem da variância obtida para o primeiro componente (PC1), “ B ”, representa a variância e pontuações obtidos para o segundo componente (PC2) e “ C ” o gráfico de coeficientes (<i>loadings</i>) para os dois primeiros componentes ..	93
Figura 17. Espectros médios de absorvância para folhas de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante os estágios de desenvolvimento da cultura sob a condição controle de fornecimento de água	127
Figura 18. Espectros médios de absorvância para folhas de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante diferentes estágios de desenvolvimento para a condição de déficit moderado no estágio vegetativo (V2)	128
Figura 19. Espectros médios de absorvância para folhas de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante diferentes estágios de desenvolvimento para a condição de déficit severo no estágio vegetativo (V2).....	129
Figura 20. Espectros médios de absorvância para folhas de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante diferentes estágios de desenvolvimento para a condição de déficit moderado no estágio reprodutivo (R6)	130

Figura 21. Espectros médios de absorvância para folhas de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante diferentes estádios de desenvolvimento para a condição de déficit severo no estágio reprodutivo (R6)	131
Figura 22. Espectros médios de absorvância para folhas de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante diferentes estádios de desenvolvimento para a condição de déficit moderado em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo (V2+R6).....	132
Figura 23. Espectros médios de absorvância para folhas de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante diferentes estádios de desenvolvimento para a condição de déficit severo em associação nos estádios vegetativos vegetativo e reprodutivo (V2+R6).....	133
Figura 24. Espectros médios de absorvância para sementes de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante os estádios de desenvolvimento da cultura sob a condição controle de fornecimento de água.....	134
Figura 25. Espectros médios de absorvância para sementes de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante os estádios de desenvolvimento da cultura sob a condição de déficit moderado no estágio vegetativo (V2).	135
Figura 26. Espectros médios de absorvância para sementes de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante os estádios de desenvolvimento da cultura sob a condição de déficit severo no estágio vegetativo (V2).	136
Figura 27. Espectros médios de absorvância para sementes de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante os estádios de desenvolvimento da cultura sob a condição de déficit moderado no estágio reprodutivo (R6).	137
Figura 28. Espectros médios de absorvância para sementes de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante os estádios de desenvolvimento da cultura sob a condição de déficit severo no estágio reprodutivo (R6).....	138
Figura 29. Espectros médios de absorvância para sementes de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante os estádios de desenvolvimento da cultura sob a condição de déficit moderado em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo (V2+R6).	139
Figura 30. Espectros médios de absorvância para sementes de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante os estádios de desenvolvimento da cultura sob a condição de déficit severo em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo (V2+R6).....	140

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Aplicações recentes de técnicas baseadas em espectroscopia NIR na identificação e quantificação de parâmetros composicionais em plantas de soja.....	22
Tabela 2. Matriz de confusão para um caso binário.....	28
Tabela 3. Análise química e física do solo utilizado no experimento.....	32
Tabela 4. Relação das condições de déficit hídrico impostas às plantas.....	34
Tabela 5. Relação das avaliações realizadas durante os diferentes estádios fenológicos das plantas de soja submetidas à diferentes condições de déficit hídrico.....	35
Tabela 6. Acúmulo de massa de matéria seca da parte aérea de dois cultivares de soja durante diferentes estádios de crescimento sob diferentes condições de déficit hídrico	54
Tabela 7. Acúmulo de massa de matéria seca de raiz de dois cultivares de soja durante diferentes estádios de crescimento sob diferentes condições de déficit hídrico	56
Tabela 8. Acúmulo de massa de matéria seca de sementes de dois cultivares de soja durante diferentes estádios de crescimento sob diferentes condições de déficit hídrico	58
Tabela 9. Teor de açúcar solúvel em folhas de dois cultivares de soja durante diferentes estádios de crescimento sob diferentes condições de déficit hídrico	61
Tabela 10. Teor de açúcar solúvel em sementes de dois cultivares de soja durante diferentes estádios de crescimento sob diferentes condições de déficit hídrico	63
Tabela 11. Teor de proteína total em folhas de dois cultivares de soja durante diferentes estádios de crescimento sob diferentes condições de déficit hídrico	66
Tabela 12. Teor de proteína total em sementes de dois cultivares de soja durante diferentes estádios de crescimento sob diferentes condições de déficit hídrico	68
Tabela 13. Percentual de lipídeos em folhas de dois cultivares de soja durante diferentes estádios de crescimento sob diferentes condições de déficit hídrico	70
Tabela 14. Percentual de lipídeos em sementes de dois cultivares de soja durante diferentes estádios de crescimento sob diferentes condições de déficit hídrico	72
Tabela 15. Componentes de produção de dois cultivares de soja em função de diferentes regimes de restrição hídrica.....	76
Tabela 16. Análise da qualidade fisiológica de sementes de dois cultivares de soja produzidas em diferentes regimes de restrição hídrica	81
Tabela 17. Desempenho dos modelos SVM e KNN para classificação de cultivares de soja usando espectros NIRS de folhas das plantas de soja coletadas no estágio fenológico R2, oriundas da condição de déficit moderado no estágio vegetativo	94

Tabela 18. Desempenho dos modelos SVM e KNN para classificação de cultivares de soja usando espectros NIRS de folhas das plantas de soja coletadas no estágio fenológico R2, oriundas da condição de déficit severo no estágio vegetativo.....	95
Tabela 19. Desempenho dos modelos SVM e KNN para classificação de cultivares de soja usando espectros NIRS de folhas das plantas de soja coletadas no estágio fenológico R6, oriundas da condição de déficit severo em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo	96
Tabela 20. Desempenho dos modelos SVM e KNN para classificação de cultivares de soja usando espectros NIRS de folhas das plantas de soja coletadas no estágio fenológico R7, oriundas da condição de déficit severo em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo	97
Tabela 21. Desempenho dos modelos SVM e KNN para classificação de cultivares de soja usando espectros NIRS de sementes de soja coletadas no estágio fenológico R6, oriundas da condição de déficit severo no estágio reprodutivo	98
Tabela 22. Desempenho dos modelos SVM e KNN para classificação de cultivares de soja usando espectros NIRS de sementes de soja coletadas no estágio fenológico R6, oriundas da condição de déficit severo nos estádios vegetativo e reprodutivo	99
Tabela 23. Desempenho dos modelos SVM e KNN para classificação de cultivares de soja usando espectros NIRS de sementes de soja coletadas no estágio fenológico R7, oriundas da condição de déficit severo nos estádios vegetativo e reprodutivo	100
Tabela 24. Comprimentos de onda selecionados para os diferentes conjuntos de dados obtidos de folhas e sementes de soja submetidas a diferentes condições de déficit hídrico	141

1. INTRODUÇÃO

A soja desempenha um papel fundamental no setor de sementes do Brasil, sendo a espécie mais relevante nesse segmento. No entanto, produzir sementes de alta qualidade é um desafio a cada safra, uma vez que as regiões destinadas à produção estão sujeitas a variações ambientais que podem prejudicar a qualidade das sementes.

O déficit hídrico do solo é um dos principais fatores ambientais que podem prejudicar as plantas, causando danos em diferentes estádios de desenvolvimento. Durante a fase vegetativa, o metabolismo das plantas de soja é afetado, resultando em menor desenvolvimento e comprometimento fisiológico. Além disso, quando o estresse se dá durante o período reprodutivo pode afetar a eficiência reprodutiva e o desenvolvimento das sementes em formação.

Para aumentar a resistência dos cultivares ao estresse e otimizar o rendimento potencial, os melhoristas de plantas utilizam a fenotipagem para identificar características ou genes que possam atenuar os efeitos do estresse. No entanto, esse processo é moroso, impreciso e apresenta limitação nas informações obtidas, pois se baseia em conjuntos de plantas, sem considerar o desempenho individual.

Com os avanços tecnológicos, a fenotipagem passou por transformações significativas; caracterizada como análise fenotípica de alto rendimento, esse procedimento permite avaliação de plantas em larga escala, de maneira rápida e não destrutiva, por meio de recursos computacionais e de análise de imagens.

Essas novas técnicas possibilitam a avaliação dos efeitos de diferentes estresses nas plantas, levando em conta parâmetros bioquímicos. Elas permitem acompanhar o desempenho das plantas em diferentes estádios de desenvolvimento e coletar informações sobre as sementes. Entre essas técnicas, destacam-se o uso de imagens RGB, imagens térmicas e imagens hiperespectrais.

As imagens hiperespectrais permitem avaliar o estado metabólico e o desempenho das plantas e das sementes sob várias condições, incluindo situações de estresse. Por meio das informações espaciais e espectrais obtidas, é possível identificar vários compostos do metabolismo celular, como água, açúcar, proteínas, aminoácidos, lipídeos e elementos minerais.

Apesar das vantagens, a aplicação de imagens hiperespectrais é mais lenta que outros tipos de sensores, exigindo maior capacidade computacional para extrair

as informações relevantes. Nesse sentido, a associação das imagens hiperespectrais com recursos quimiométricos, capazes de simplificar dados multivariados complexos em estruturas mais compreensíveis, aprimora a interpretação das informações contidas nas amostras analisadas. Diferentes modelos estatísticos de análise multivariada, como a análise de componentes principais, análise de discriminantes, regressão linear múltipla e redes neurais, são empregados para esse fim.

Em suma, as técnicas de análise de imagens mostram-se promissoras na fenotipagem vegetal de alto rendimento, especialmente na seleção de indivíduos tolerantes ao estresse. Portanto, os objetivos do presente estudo foram: (i) analisar o impacto do déficit hídrico em diferentes estádios fenológicos e sua interação no desenvolvimento, rendimento e seus atributos em plantas e sementes de soja; (ii) verificar a eficácia do uso de imagens hiperespectrais em conjunto com técnicas quimiométricas para avaliar a dissimilaridade fenotípica entre cultivares de soja submetidas ao déficit hídrico.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Importância econômica e desafios na produção de sementes de soja

A cadeia de produção de sementes no Brasil é vasta e diversificada, com destaque para a produção de sementes de soja, que corresponde a cerca de 75 % da quantidade total produzida levando-se em consideração as espécies mais cultivadas (KIST *et al.*, 2019). Na safra 2022/23, a quantidade de sementes de soja produzida atingiu cerca de 20 milhões de toneladas. No entanto, houve uma redução significativa de 26 % em relação à safra anterior de 2021/22, na qual foram produzidas 27 milhões de toneladas (BRASIL, 2023). Normalmente, variações do montante de sementes produzidas são atribuídas em função das adversidades climáticas que ocorrem durante o período de maturação das sementes e na época da colheita (KIST *et al.*, 2019). Na Figura 1, pode-se observar a produção de sementes de soja nas unidades federativas do Brasil.

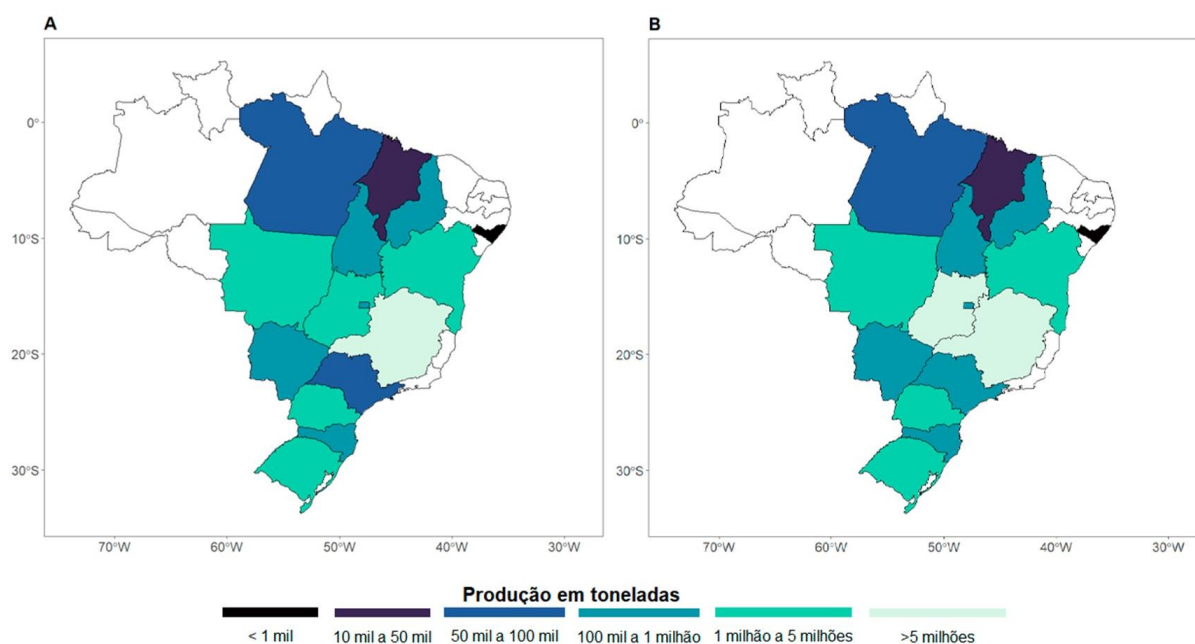


Figura 1. Produção em toneladas de sementes de soja por unidades federativas do Brasil nas safras 2021/22 (A) e 2022/23 (B). Fonte: BRASIL, 2023

Um dos principais desafios do setor sementeiro é produzir sementes de alta qualidade em regiões tropicais e subtropicais (FRANÇA-NETO *et al.*, 2016), pois a qualidade de sementes resulta da interação genótipo e condições ambientais durante a fase de desenvolvimento das sementes (BEWLEY *et al.*, 2013). Segundo Marcos-Filho (2015), as condições ambientais durante o período reprodutivo influenciam

desde a formação da flor até maturidade fisiológica das sementes, podendo afetar a qualidade das sementes.

Estudos apontam que, devido às alterações climáticas, é esperado um aumento na frequência de condições de estresse abiótico no contexto da agricultura, o que terá impactos diretos na produtividade das culturas (BEDDINGTON, 2010; WHITE; MCMASTER; EDMEADES, 2004). O estresse abiótico ocorre quando ocorrem mudanças nas condições ambientais no local onde as plantas estão presentes, afetando diretamente ou indiretamente seu crescimento e reprodução (PALACIOS; SERRA; TORRES, 2013). Entre os diferentes tipos de estresse abiótico, destacam-se o estresse relacionado à disponibilidade de água, o estresse causado por variações de temperatura, o estresse nutricional e o estresse devido à exposição à radiação.

2.2. Efeitos do déficit hídrico em plantas de soja

A exigência hídrica da cultura da soja é de cerca de 450 a 800 mm de água durante seu ciclo, sendo que essa necessidade aumenta durante o ciclo da cultura, atingindo o máximo no período de florescimento e de transferência de fotoassimilados da planta para as sementes (MECKEL *et al.*, 1984; NEUMAIER *et al.*, 2020). O suprimento hídrico inadequado pode resultar na redução de produtividade em até 40 %, caracterizando o déficit hídrico como uma das condições de estresse mais limitante à produtividade (ZHANG; LI; ZHANG., 2012).

A condição de déficit hídrico se manifesta quando ocorre um desequilíbrio entre os processos de captação de água e transpiração na planta. Nesse estágio, a transpiração é restringida devido à escassez de água disponível no solo (NEUMAIER *et al.*, 2020). De acordo com Lopes e Lima (2015), o déficit hídrico tem início quando a taxa de transpiração supera a taxa de absorção de água, resultando na perda de plenitude turgor das células e tecidos vegetais.

A restrição hídrica em plantas de soja acarreta uma série de efeitos negativos, incluindo a alteração da arquitetura radicular e desempenho dos rizóbios (KUNERT *et al.*, 2016), bem como a redução da área foliar, do número de ramos e de flores (MANGENA, 2018). Além disso, a restrição hídrica causa diminuição no potencial hídrico nas folhas, no teor de clorofila nas folhas e na condutância estomática (HAO *et al.*, 2013; MAKBUL *et al.*, 2011), resultando na diminuição da taxa fotossintética (HAO *et al.*, 2013; MANGENA, 2018) e, conseqüentemente, as sementes produzidas

possuem menor massa e tamanho (EGLI; BRUENING, 2004; JUMRANI; BHATIA, 2018).

Conforme os resultados obtidos por Gava *et al.* (2015) ao submeter plantas de soja a situações de déficit hídrico em diferentes estádios fenológicos, verificou-se que a condição de estresse hídrico exerceu influência sobre variáveis como a altura das plantas, a quantidade de vagens e de grãos por planta, a massa de mil grãos e, conseqüentemente, sobre a produtividade. Além disso, os autores destacaram que a falta de água durante a fase de formação das sementes é igualmente prejudicial quando comparada com o estresse hídrico ao longo de todo o ciclo da cultura.

Além dos efeitos observados no desenvolvimento e produção das plantas de soja, o déficit hídrico também é responsável por alterações bioquímicas nas plantas. A partir da condição de restrição hídrica podem levar a alterações nos níveis de carboidratos, seja a redução na sua síntese, uma vez que as plantas ao reduzirem a taxa de fotossíntese e, como resultado, a produção de açúcares diminui (KIM *et al.*, 2000; PELLESCI; ROCHER; PRIOUL, 1997); no entanto, em algumas pesquisas são relatadas que as plantas de soja podem acumular açúcares solúveis, como sacarose, em uma tentativa de regular o balanço osmótico e minimizar a perda de água para o ambiente (DONG *et al.*, 2019; DU *et al.*, 2020).

Outros efeitos adversos incluem a redução do teor de proteína nas folhas e nas sementes de soja (EL SABAGH *et al.*, 2015; LOBATO *et al.*, 2008) e o aumento no teor de lipídeos nas sementes (BELLALOU *et al.*, 2009, 2012). No entanto, pesquisas também já constataram o comportamento distinto sob déficit hídrico, onde houve um aumento no teor de proteínas e redução no teor de lipídeos (DORNBOS; MULLEN, 1992; KUMAR *et al.*, 2006); essa divergência é explicada principalmente em função dos genótipos estudados, época e intensidade com que o déficit hídrico é imposto às plantas.

Outros efeitos também podem ser observados nas sementes produzidas sob condições de déficit hídrico, tais como a formação de sementes esverdeadas (PÁDUA *et al.*, 2009; TEIXEIRA *et al.*, 2016) e a diminuição da germinação e do vigor das sementes (JUMRANI; BHATIA, 2018; SAMARAH; MULLEN; ANDERSON, 2009).

No Brasil, as regiões produtoras de sementes de soja possuem um clima favorável para a produção agrícola; no entanto, a má distribuição das chuvas é um fator limitante. A ocorrência de períodos de seca, conhecidos como veranicos, juntamente com altas temperaturas durante a fase de acúmulo de matéria seca pelas

sementes, resultam na produção de sementes enrugadas e com menor potencial fisiológico (ZORATO *et al.*, 2007).

Sob condições de déficit hídrico severo, pode ocorrer a morte prematura das plantas, resultando em uma maior produção de sementes esverdeadas (FRANÇA-NETO *et al.*, 2005), devido ao processo de maturação forçada. Estudos realizados por Pádua *et al.* (2005), indicaram que lotes de sementes contendo mais de 9 % de sementes esverdeadas têm sua qualidade fisiológica comprometida. Todos esses impactos ressaltam a importância de medidas adequadas para mitigar os efeitos da restrição hídrica na cultura da soja, garantindo a sustentabilidade e a produtividade dessa importante cultura agrícola.

2.3. Fenotipagem de plantas

Como forma de melhorar a aptidão de tolerância das variedades de plantas cultivadas e permitir que alcancem um rendimento mais próximo do seu potencial produtivo, os melhoristas utilizam a fenotipagem de plantas para coletar, de forma precisa, informações sobre características ou genes que atenuem as condições de estresse e que possam ser incorporados aos cultivares (ARAUS; CAIRNS, 2014; NEILSON *et al.*, 2015; TESTER; LANGRIDGE, 2010).

A fenotipagem vegetal envolve a aplicação de procedimentos para determinar características de um genótipo relacionadas à estrutura ou função da planta, abrangendo desde o nível celular até a planta inteira (GHANEM; MARROU; SINCLAIR, 2015). Além disso, ela é usada para estabelecer a relação entre as características estudadas e o desempenho do genótipo em um determinado ambiente (DHONDT; WUYTS; INZÉ, 2013). Essas informações são essenciais para a seleção de cultivares mais resistentes e adaptados às adversidades ambientais, contribuindo para o desenvolvimento de cultivos mais produtivos e sustentáveis.

Tradicionalmente, a fenotipagem é realizada por meio de análises não automatizadas, facilmente mensuráveis, como exemplo a massa, a altura e o comprimento das plantas, o que normalmente resultam na destruição das plantas (DE SOUZA *et al.*, 2015). Esse processo é moroso, limita o número de informações obtidas e pode gerar imprecisão nos resultados, uma vez que se baseia em conjuntos de plantas, sem considerar o crescimento individual de cada uma (BERGER; DE REGT; TESTER, 2012).

O avanço das áreas de automação, robótica e recursos de análise de imagens têm sido de grande contribuição no campo da fenotipagem (RAHAMAN; AHSAN; CHEN, 2019; ZHAO *et al.*, 2019). Caracterizada como análise fenotípica de alto rendimento, essas novas técnicas permitem avaliar plantas em larga escala, de forma rápida, não destrutiva e sem gerar resíduos (BERGER; DE REGT; TESTER, 2012; FURBANK; TESTER, 2011; RAJENDRAN; TESTER; ROY, 2009; SOUSA *et al.*, 2015), o que também possibilita avaliar o impacto de diferentes tipos de estresses sobre as plantas e medir parâmetros bioquímicos, acompanhando seu desempenho em diversos estádios de desenvolvimento, seja em um conjunto de indivíduos ou de forma isolada, além de permitir a coleta de sementes para futuras pesquisas (HAIRMANSIS *et al.*, 2014; SOUSA *et al.*, 2015).

O comprometimento do crescimento é um sintoma direto em plantas sob condições de estresse e plataformas de fenotipagem baseadas em métodos de imagens são capazes de monitorá-lo (FEHÉR-JUHÁSZ *et al.*, 2014). Características como biomassa vegetal, parâmetros morfológicos (crescimento da planta, tamanho da folha, área foliar etc.), fisiológicos (transpiração e fotossíntese) e bioquímicos (concentração de açúcares, proteínas etc.) são exemplos consolidados de recursos que podem ser adotados na fenotipagem de alto rendimento (FU *et al.*, 2022; LI *et al.*, 2020; MONTES *et al.*, 2022; SUN *et al.*, 2019; UMER *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2019).

Dentre os recursos que podem ser empregados para a fenotipagem de alto rendimento, destacam-se o uso de imagens RGB (TESSMER *et al.*, 2013), fluorescência de clorofila (HARBINSON *et al.*, 2012; ROUSSEAU *et al.*, 2013), imagens térmicas (GRANT *et al.*, 2012; VIRLET *et al.*, 2014) e imagens hiperespectrais (HUBER; TAGESSON; FENSHOLT, 2014; VIRLET *et al.*, 2014), por exemplo. Essas abordagens avançadas na fenotipagem têm se mostrado fundamentais para uma avaliação mais abrangente e detalhada das plantas, permitindo uma seleção mais precisa de características desejáveis em cultivares de plantas cultivadas. Além disso, contribuem significativamente para o desenvolvimento de plantas mais produtivas e resistentes a condições adversas.

2.4. Fundamentos de espectroscopia

A espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) é uma técnica de espectroscopia vibracional que utiliza radiação eletromagnética com comprimento de onda de 750 a 2500 nm. Essa abordagem analítica é rápida, não destrutiva e tem sido

amplamente aplicada em diversas áreas, como alimentos, agricultura, indústria farmacêutica, química e petroquímica (BLANCO; VILLARROYA, 2002; RAVAZZI, 2019).

As informações espectrais obtidas por meio dessa técnica provêm da interação da radiação eletromagnética com grupos funcionais contendo carbono, nitrogênio, oxigênio e enxofre, ligados a átomos de hidrogênio presentes na amostra analisada e que são detectáveis na região do infravermelho de 780 a 2500 nm (SU; HE; SUN, 2017).

Cada material apresenta uma assinatura espectral única (BARBIN *et al.*, 2015) devido aos diferentes níveis de absorção da radiação em cada comprimento de onda, que estão diretamente relacionados à sua composição química (RADY; ADEDEJI, 2018). Essas informações espectrais fornecem uma espécie de "assinatura" do material analisado, permitindo a identificação e quantificação de compostos específicos, como água, carboidratos, proteínas e lipídeos (BADARÓ *et al.*, 2020). Além disso, a técnica é capaz de diferenciar e classificar as amostras com base em fatores relacionados às condições de cultivo ou processamento, origem geográfica, cultivares ou genótipos, desde que esses fatores influenciem em sua composição química (COZZOLINO, 2016).

Estudos têm demonstrado o potencial da espectroscopia NIR como uma alternativa aos métodos convencionais para análises composicionais em plantas de soja, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Aplicações recentes de técnicas baseadas em espectroscopia NIR na identificação e quantificação de parâmetros composicionais em plantas de soja

Parâmetro analisado	Tipo de material	Equipamento (faixa espectral)	Referência
Proteínas	Folhas	NIR (não informado)	(YAKUN <i>et al.</i> , 2018)
Macronutrientes e micronutrientes	Folhas	VIS-NIR-SWIR (300 – 2500 nm)	(SANTOS <i>et al.</i> , 2023)
Proteínas	Sementes	NIR (950 – 1650 nm)	(XU <i>et al.</i> , 2020)
Carboidratos	Sementes	NIR (400 – 2498 nm)	(HOLLUNG <i>et al.</i> , 2005)
Proteínas, lipídeos e carboidratos	Sementes	NIR (904 – 1685 nm)	(ARMSTRONG <i>et al.</i> , 2011)
Aminoácidos	Sementes	NIR(350 – 2500 nm)	(KOVALENKO; RIPPKE; HURBURGH, 2006)
Proteínas e lipídeos	Sementes	NIR (700 – 1100 nm)	(TAJUDDIN <i>et al.</i> , 2002)
Lipídeos	Sementes	NIR (400 – 2500 nm)	(KARN <i>et al.</i> , 2017)

Embora a espectroscopia por NIR tenha sido comprovadamente eficiente na detecção de diferentes parâmetros composicionais, ela apresenta algumas limitações, especialmente devido à natureza heterogênea das amostras. Essa técnica fornece informações espectrais apenas de uma pequena parte da amostra, não permitindo a identificação da distribuição espacial dos componentes químicos (BADARÓ *et al.*, 2020). Para superar esse desafio e obter informações espaciais da amostra, é necessário combinar a espectroscopia com técnicas de visão computacional, como a imagem hiperespectral (FENG *et al.*, 2019). Essa abordagem possibilita uma análise mais completa e detalhada da composição química dos materiais, tornando-se uma alternativa promissora para aprimorar as análises em amostras heterogêneas.

2.4.1. Espectroscopia por imagens hiperespectrais

A imagem hiperespectral (HSI) é um procedimento inovador, rápido e não invasivo. Essa técnica combina a espectroscopia no infravermelho com sensores de captura de imagens, permitindo a obtenção simultânea de informações espectrais e espaciais de um objeto (CHENG *et al.*, 2017); além disso, a técnica possibilita a avaliação do estado metabólico e do desempenho de plantas e de sementes em diversas situações (RÖMER *et al.*, 2012).

As imagens hiperespectrais são compostas por pequenas regiões chamadas de *pixels*, onde é obtido um espectro na região do infravermelho próximo. Segundo Amigo (2010), o conjunto de dados de uma imagem hiperespectral é conhecido como "hipercubo" (Figura 2A), que possui um arranjo tridimensional (x , y e λ), em que x e y representam as coordenadas espaciais dos *pixels* que compõe a imagem (Figura 2B) e λ as informações espectrais (Figura 2C).

Existem três procedimentos para a aquisição de imagens hiperespectrais: digitalização em ponto (*point scanning* - Figura 2D), digitalização em linha (*line scanning* - Figura 2E) e digitalização por área (*area scanning* - Figura 2F). A escolha entre esses modos de aquisição depende dos objetivos da análise (AMIGO, 2010).

Nos modos de digitalização em ponto ou em linha, ocorre uma única varredura de um ponto ou de uma linha de espectros (varredura de linha) da superfície em cada movimento. Isso significa que os espectros são adquiridos *pixel* por *pixel* de forma separada, resultando em uma análise mais lenta, porém com resoluções superiores. Por outro lado, a digitalização por área proporciona a vantagem de ser mais rápida na aquisição das imagens, uma vez que os espectros são obtidos simultaneamente para

um conjunto de *pixels* definidos em um plano (AMIGO, 2010; IQBAL; SUN; ALLEN, 2013).

Os modos de detecção durante a aquisição da imagem hiperespectral referem-se à forma como a luz refletida ou transmitida pela amostra é capturada pelo detector. Dentre eles, destacam-se: o modo de refletância (Figura 2G), onde a luz refletida pela amostra iluminada é capturada pelo detector em uma configuração específica para evitar reflexos indesejados da luz; o modo de transmitância (Figura 2H), onde o detector fica posicionado no lado oposto ao da fonte de iluminação, capturando a luz que atravessa a amostra; o modo de interatância (Figura 2I), onde a fonte de luz e o detector são posicionados paralelamente um ao outro, evitando reflexos indesejados (ELMASRY; SUN; ALLEN, 2012; WU; SUN, 2013).

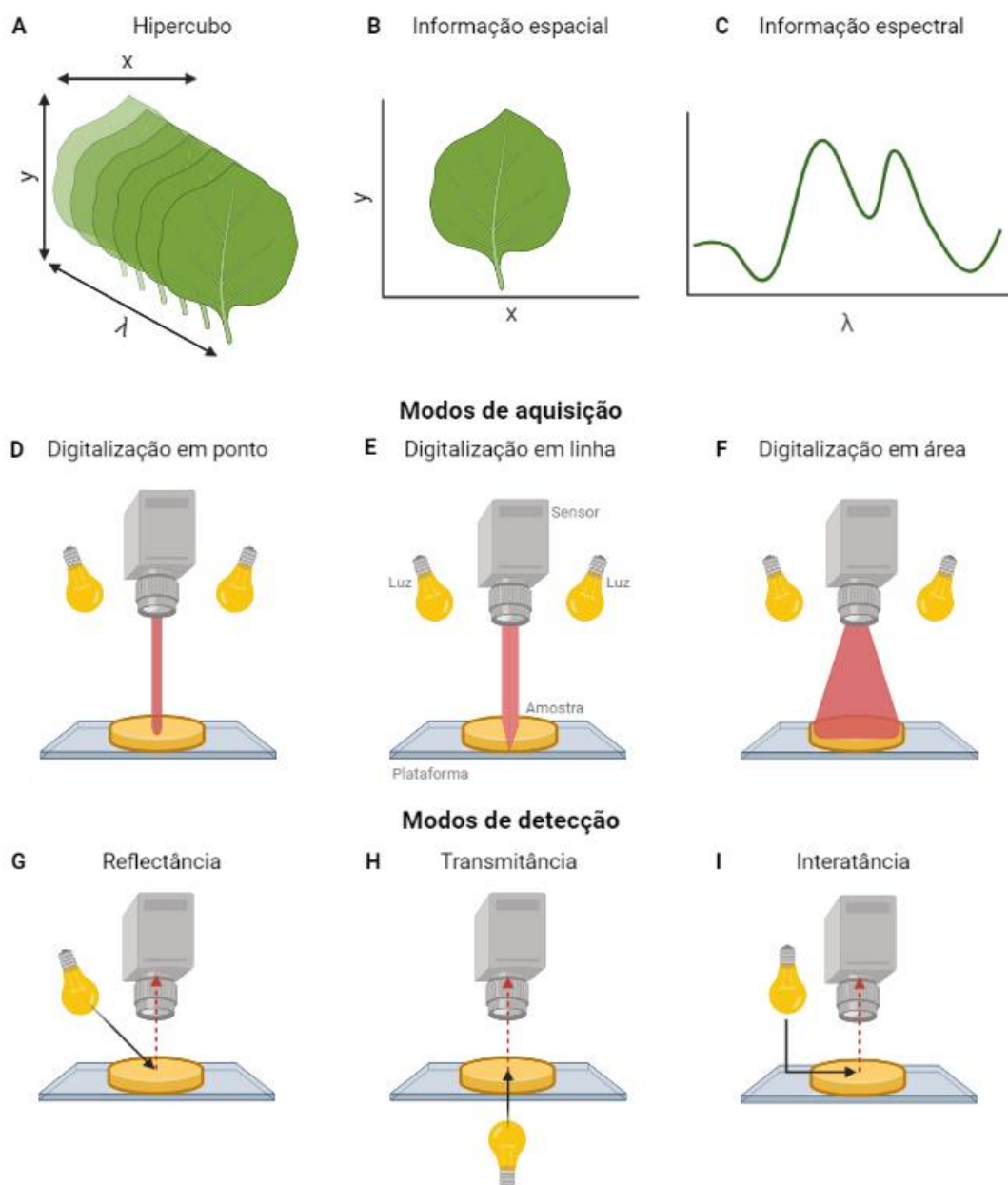


Figura 2. Representação esquemática da imagem hiperespectral (A, B e C), abordagens dos modos de aquisição das imagens hiperespectrais (D, E e F) e modos de detecção de imagem (G, H e I)

A imagem hiperespectral é uma técnica que oferece uma vantagem significativa ao permitir o uso de amostras intactas, mesmo que sejam irregulares, sem a necessidade de preparação prévia, para realizar avaliações qualitativas e quantitativas simultaneamente. Essa análise é realizada por meio da extração das informações espectrais resultantes da interação da radiação infravermelha com o objeto de estudo (ELMASRY; SUN; ALLEN, 2012).

Cada *pixel* na imagem corresponde a uma posição espacial e possui um perfil espectral, o que permite a visualização da distribuição de características presentes na amostra. Dessa forma, é possível caracterizar as propriedades químicas inerentes de

uma amostra e observar sua distribuição no espaço, como destacado por (TIBOLA *et al.*, 2018). Estudos têm comprovado a capacidade dessa técnica para determinar diversos compostos do metabolismo celular, como água (GE *et al.*, 2016), pigmentos (MATSUDA *et al.*, 2012), açúcares solúveis (KJÆR *et al.*, 2016), proteínas e aminoácidos (CAPORASO; WHITWORTH; FISK, 2018; YANG *et al.*, 2019), lipídeos (CAPORASO *et al.*, 2018) e nutrientes minerais (PANDEY *et al.*, 2017).

2.5. Modelos quimiométricos para processamento de dados hiperespectrais

O processamento de imagens obtidas por sensores hiperespectrais é mais lento em comparação com outros tipos de sensores, requerendo recursos computacionais capazes de extrair as informações de interesse das imagens durante o processamento (AMIGO; MARTÍ; GOWEN, 2013; FAHLGREN; GEHAN; BAXTER, 2015). Nesse contexto, torna-se necessário o uso de técnicas quimiométricas, que empregam recursos matemáticos e estatísticos para decompor dados multivariados complexos em estruturas mais simples e interpretáveis, aprimorando a compreensão das informações químicas e biológicas contidas nas amostras analisadas (IQBAL; SUN; ALLEN, 2013).

Dentre os modelos comumente utilizados estão a análise de componentes principais, análise discriminante, regressão de componentes principais, regressão de quadrados mínimos parciais, regressão linear múltipla e redes neurais (ELMASRY; SUN; ALLEN, 2012, 2013; HE; WU; SUN, 2014; WU *et al.*, 2012). Essas técnicas são essenciais para a extração de informações relevantes dos dados espectrais, permitindo uma interpretação mais precisa e eficiente dos resultados obtidos.

2.5.1. Análise de componentes principais

A Análise de Componentes Principais (PCA) é uma abordagem quimiométrica que tem a capacidade de reduzir a complexidade de uma matriz de dados, desdobrando a máxima quantidade de informações. Por meio da criação de novas variáveis derivadas de combinações lineares das variáveis originais, a PCA também simplifica a interpretação dos dados (COWE; MCNICOL, 1985).

Essas novas variáveis denominadas Componentes Principais (CPs), não mantêm correlação entre si e têm a capacidade de explicar a variabilidade total dos dados em ordem decrescente. Em outras palavras, o primeiro CP captura a maior

porcentagem da variância dos dados, seguido pelo segundo CP, que abrange a segunda maior porcentagem e assim sucessivamente (WOLD; ESBENSEN; GELADI, 1987). Utilizando a PCA, é possível revelar as tendências intrínsecas presentes nos dados analíticos, evidenciando agrupamentos naturais, sem depender de qualquer informação prévia sobre categorias de referência (ALAMPRESE *et al.*, 2016; BRERETON, 2011; COWE; MCNICOL, 1985).

2.5.2. Máquinas de Suporte Vetorial

As Máquinas de Suporte Vetorial (SVMs) são algoritmos de aprendizado de máquina que podem ser empregados para tarefas de regressão ou classificação, através da construção de modelos baseados em hiperplanos (CERRI; DE LEON FERREIRA, 2017; CORTES; VAPNIK, 1995). O enfoque central das SVMs reside na classificação de elementos pertencentes a diferentes grupos. Geralmente, esses algoritmos são aplicados quando se busca identificar padrões em conjuntos de dados.

Particularmente no contexto da classificação, um modelo SVM tem a finalidade de discernir as classes de um conjunto de dados específico, desde que suas características permitam uma separação linear (GONÇALVES, 2010). O processo de classificação é conduzido por meio de vetores, considerando apenas um subconjunto dos dados de treinamento, uma vez que o modelo se concentra nos dados próximos à margem de classificação (CHENG *et al.*, 2017).

2.5.3. K-Vizinhos Mais Próximos

O modelo estatístico KNN (K-Vizinhos Mais Próximos) é uma técnica de aprendizado de máquina que opera com base no princípio da proximidade entre dados. É um algoritmo de classificação que faz uso da distância entre as observações para classificar novas observações. O algoritmo armazena todos os dados de treinamento e, ao receber uma nova observação, calcula a distância dela para cada uma das instâncias de treinamento e seleciona as k instâncias mais próximas (AHA; KIBLER; ALBERT, 1991). A classe da nova observação é determinada pela maioria das classes das k observações mais próximas. A proximidade é geralmente calculada usando métricas de distância, como a distância euclidiana (JORDAN; MITCHELL, 2015).

2.5.4. Métodos de validação

De acordo com Géron (2022), os métodos de validação e testes em aprendizado de máquina são empregados para avaliar o desempenho de um modelo, assegurando sua capacidade de realizar previsões precisas em novos conjuntos de dados. Uma das principais abordagens é a validação cruzada e a divisão tradicional do conjunto de dados em treinamento e teste.

Segundo Carvalho *et al.* (2011), uma das métricas amplamente utilizadas para avaliar o desempenho de classificadores é a matriz de confusão. A matriz de confusão é composta por células que indicam quantas observações foram classificadas corretamente e quantas foram classificadas de forma incorreta para cada classe. Em um cenário binário, conforme ilustrado na Tabela 2, a matriz de confusão geralmente tem quatro elementos principais: verdadeiros positivos (VP), verdadeiros negativos (VN), falsos positivos (FP) e falsos negativos (FN). Esses elementos permitem uma análise abrangente do desempenho do modelo, identificando a capacidade de distinguir entre as classes e fornecendo informações valiosas sobre os erros de classificação cometidos (CARVALHO *et al.*, 2011).

Tabela 2. Matriz de confusão para um caso binário

	Classe positiva	Classe negativa
Previsão positiva	Verdadeiro positivo – VP	Falso negativo – FN
Previsão negativa	Falso positivo – FP	Verdadeiro negativo – VN

A matriz de confusão proporciona a base para o cálculo de várias métricas de avaliação e entre essas métricas, a principal medida de desempenho é a acurácia (TAN; STEINBACH; KUMAR, 2016). A acurácia é obtida a partir da matriz de confusão ao dividir o número de previsões corretas pelo total de previsões realizadas. Outras métricas importantes podem ser derivadas da matriz de confusão: a sensibilidade, que representa a taxa de acerto da classe positiva e a especificidade, que corresponde à taxa de acerto da classe negativa (FÁVERO; BELFIORE, 2017; GÉRON, 2022). Essas métricas fornecem uma visão abrangente do desempenho do modelo ao levar em consideração sua capacidade de identificar corretamente tanto observações positivas quanto negativas.

Outra métrica estatística amplamente utilizada para avaliar a concordância entre as previsões de um modelo e as classes reais de um conjunto de dados é o

coeficiente kappa. Ao contrário da acurácia simples, o coeficiente kappa leva em consideração o acordo que vai além do acaso, ajustando o desempenho do modelo em relação à concordância que poderia ser esperada apenas por acaso (SUN, 2011; WARRENS, 2021). O coeficiente kappa varia de -1 a 1, onde um valor positivo indica concordância melhor do que o esperado por acaso, um valor próximo a 0 indica concordância semelhante à do acaso e um valor negativo indica concordância pior do que o esperado por acaso (COHEN, 1960).

2.6. Aplicações de imagens hiperespectrais em estudos do déficit hídrico

A utilização de imagens hiperespectrais em combinação com técnicas de quimiometria tem sido amplamente explorada em pesquisas, especialmente em condições de estresse ambiental, visando a seleção de cultivares tolerantes à seca (HUMPLÍK *et al.*, 2015). Steidle-Neto *et al.* (2017), aplicaram modelos quimiométricos em imagens hiperespectrais para estimar com alta precisão o conteúdo de água e de clorofila em folhas de girassol sob estresse hídrico progressivo. Outros estudos também demonstraram a eficiência dessa abordagem; Zhang, Li e Zhang, (2012) combinaram dados multiespectrais com diferentes modelos estatísticos para estimar o conteúdo de água e outros componentes bioquímicos em folhas de *Epipremnum aureum* submetidas à deficiência hídrica. Da mesma forma, Pandey *et al.* (2017) utilizaram técnicas de imagens hiperespectrais para estimar o teor de água e nutrientes em folhas de milho e de soja.

A mesma abordagem tem sido empregada para detectar alterações no teor de sacarose em folhas de plantas de arroz submetidas ao estresse hídrico (DAS *et al.*, 2018) e para determinar o conteúdo e a distribuição de nitrogênio, de fósforo e de potássio em folhas de colza (ZHANG; BERGER; MILROY, 2013). Outro estudo interessante foi realizado por Cook *et al.* (2012), que conseguiu separar diferentes genótipos de milho com base na composição química de suas sementes, mapeadas por meio de espectroscopia por imagem.

Diante do exposto, é evidente a utilidade da combinação de imagens hiperespectrais com técnicas quimiométricas para avançar no entendimento das respostas bioquímicas das plantas sob estresse e na identificação de características desejáveis para o melhoramento genético.

3. MATERIAL E MÉTODOS

As etapas da pesquisa foram realizadas no Laboratório de Análise de Sementes, Laboratório de Análise de Imagens, Laboratório Multiusuário e na área experimental do Departamento de Produção Vegetal, localizados na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (Esalq-USP), em Piracicaba, Estado de São Paulo e no Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), em Campinas, Estado de São Paulo.

Para a realização do experimento foram utilizadas sementes de soja de dois genótipos distintos, que diferem em suas respostas quanto ao estresse hídrico, sendo BRASMAX COMPACTA IPRO (suscetível) e DM 66I68 IPRO (tolerante). Os lotes de sementes foram provenientes da empresa GDM Seeds, localizada em Rondonópolis (MT), produzidas na safra 2019/2020. As sementes foram armazenadas em câmara fria e seca (10°C e 30 % de umidade relativa do ar) até o início da realização do experimento.

3.1. Experimento I: estudo do déficit hídrico em plantas de soja

Essa etapa foi realizada em casa de vegetação do Departamento de Produção Vegetal, USP/ESALQ, no município de Piracicaba, SP, com a latitude 22°42'12" Sul, longitude 47°37'59" Oeste e altitude 548 metros. O clima da região é subtropical úmido (Cwa), de acordo com a classificação de Köppen, caracterizado por verão chuvoso e inverno seco (PEEL; FINLAYSON; MCMAHON, 2007).

As unidades experimentais foram representadas por 560 vasos de plástico (40 vasos por condição de déficit hídrico e para cada cultivar); o número de vasos foi calculado para atender a quantidade suficiente de plantas para as análises e coletas programadas, considerando ainda uma margem de segurança. Dos 40 vasos que constituíram os tratamentos, 20 foram utilizados para coletas destrutivas das plantas, sendo o restante, mantidas até o final do ciclo, para a coleta das sementes.

Os vasos de plásticos utilizados possuíam volume correspondente a 8,5 dm³ e foram preenchidos com uma mistura de terra e areia, na proporção de 2:1 (v:v); a terra foi coletada em solo classificado como Latossolo Vermelho Escuro Distrófico, de textura argilosa, proveniente de área experimental que havia sido anteriormente cultivada com soja, em profundidade de 0-20 cm; a areia utilizada foi de textura média.

O material foi peneirado, com a finalidade de eliminar torrões e qualquer outro tipo de material que poderia interferir na homogeneidade do sistema; a mistura do substrato foi realizada com o auxílio de uma betoneira (Figura 3).



Figura 3 - Preparo do substrato utilizado no experimento

Foi realizada a correção química do substrato (calagem), aos 90 dias antes da semeadura, a fim de elevar o índice de saturação por bases para 60 %, mediante a incorporação de calcário. Após o período de reação do calcário, foi realizada a adubação, de acordo com as recomendações para a cultura da soja (RAIJ, 1996), a partir dos resultados da análise química do substrato, apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Análise química e física do solo utilizado no experimento

Análise química e macronutrientes														
pH CaCl ₂	M.O g dm ⁻³	P resina mg dm ⁻³	K	Ca	Mg	H+Al	Al	Soma de bases	CTC	Sat. bases V%	Sat. Al m%	S SO ₄ mg dm ⁻³		
4,4	7	4	0,5	15	5	28	3	21	49	42	13	3		
Micronutrientes						Análise física								
Cu	Fe	Zn	Mn	B	Argila	Silte	Areia Grossa	Areia Fina						
----- DTPA ----- ----- mg/dm ³ -----					<0,002mm	0,053- 0,002mm	2,00-0,210mm	0,210- 0,053mm						
0,4	21	1,1	7,8	0,16	141	29	280	550						

Antecedendo a semeadura, as sementes foram tratadas inicialmente com fungicida Standak Top[®] (piraclostrobina+fipronil+tiofanato metílico) na dose 200 mL p.c./100 kg de sementes e 24 horas depois com inoculante a base de *Bradyrhizobium*

elkanii, em ambiente sombreado e arejado; para o tratamento, as sementes foram acondicionadas em sacos de plásticos, onde foram adicionadas as doses dos produtos, de acordo com as recomendações dos fabricantes e, a seguir, foi realizada a agitação das sementes por um período de dois minutos, de forma a distribuir uniformemente os produtos. Posteriormente, foi realizada a semeadura de três sementes por vaso, em profundidade de 3 centímetros (Figura 4, à esquerda); quando as plantas atingiram o estágio V2, foi realizado o desbaste, mantendo apenas uma planta por vaso (Figura 4, à direita), sendo selecionada a planta mais vigorosa com estágio de desenvolvimento semelhante às demais plantas que compunham o estande.

As condições climáticas no interior da estufa, foram registradas diariamente por meio de um termo-higrômetro instalado no interior da casa de vegetação. Também foi mensurada a insolação incidente sobre a casa de vegetação, sendo os dados obtidos da base de dados do Posto Meteorológico "Professor Jesus Marden dos Santos", localizado nas dependências do Departamento de Engenharia de Biosistemas da ESALQ, USP na cidade de Piracicaba – SP, distante cerca de 1 quilometro do local do experimento.



Figura 4 - Vasos plásticos no dia da semeadura (à esquerda) e 7 dias após a semeadura (à direita), no interior da casa de vegetação

O controle do conteúdo da água do substrato foi realizado com base na capacidade de retenção de água no substrato (CRAS) e foi calculado a partir de um teste preliminar, pelo método padrão em estufa de circulação forçada de ar, realizada em laboratório, com quatro repetições. Neste procedimento, os vasos de plástico foram preenchidos com o substrato e secos em estufa regulada a $105\pm 3^{\circ}\text{C}$, durante 24 horas e a massa foi aferida após o resfriamento. Posteriormente, foi adicionada água aos vasos, até que atingissem o ponto de saturação e, em seguida, foram cobertos com um saco de plástico a fim de evitar a evaporação. A partir daí foram realizadas pesagens periódicas dos vasos, até que atingissem peso constante (solo úmido). Por diferença entre esses valores, foi obtida a CRAS, conforme Teixeira *et al.* (2017).

Após determinação da CRAS, a massa de cada vaso foi aferida com o auxílio de uma balança digital e seu valor computado numa planilha, sendo monitorados diariamente, por meio da amostragem de 2 vasos por tratamento, para o cálculo da quantidade de água a ser adicionada aos vasos. As medições e irrigação, foram realizadas sempre no período da manhã, contando também com uma averiguação no período vespertino, sendo realizada a irrigação conforme necessidade, mediante a quantidade de água estabelecida para cada condição. As condições de déficit hídrico estão relacionadas na Tabela 4 e foram impostas em diferentes estádios fenológicos, segundo a escala de Fehr e Caviness (1977).

Tabela 4. Relação das condições de déficit hídrico impostas às plantas

Condição	Descrição
Controle	65 % da capacidade de retenção de água do substrato
DMV2	50 % da capacidade de retenção de água do substrato, no estádio V2
DSV2	30 % da capacidade de retenção de água do substrato, no estádio V2
DMR6	50 % da capacidade de retenção de água do substrato, no estádio R6
DSR6	30 % da capacidade de retenção de água do substrato, no estádio R6
DMV2R6	50 % da capacidade de retenção de água do substrato, no estádio V2+R6
DSV2R6	30 % da capacidade de retenção de água do substrato, no estádio V2+R6

DM: déficit moderado; DF: déficit severo; V2: estádio vegetativo V2; R6: estádio reprodutivo R6

3.1.1. Coleta de amostras

A fenologia das plantas a partir da semeadura foi monitorada diariamente para cada cultivar, com base na escala fenológica de Fehr e Caviness (1977). Ao longo de cada estádio de desenvolvimento foi realizada uma série de avaliações, conforme descritos na Tabela 5.

Tabela 5. Relação das avaliações realizadas durante os diferentes estádios fenológicos das plantas de soja submetidas à diferentes condições de déficit hídrico

Estádio fenológico	Avaliações
V4 – quarto nó	- Massa de matéria seca de plantas (raiz e parte aérea) - Análises bioquímicas - Aquisição das imagens hiperespectrais
Vn – enésimo nó	- Massa de matéria seca de planta (raiz e parte aérea) - Análises bioquímicas - Aquisição das imagens hiperespectrais
R2 – florescimento pleno	- Massa de matéria seca de plantas (raiz, parte aérea); - Análises bioquímicas - Aquisição das imagens hiperespectrais
R5 – formação das sementes*	- Massa de matéria seca de plantas (raiz, parte aérea e sementes) - Análises bioquímicas - Aquisição das imagens hiperespectrais
R6 – “sementes cheias”**	- Massa de matéria seca de plantas (raiz, parte aérea e sementes) - Análises bioquímicas - Aquisição das imagens hiperespectrais
R7 – início da maturação	- Massa de matéria seca de plantas (raiz, parte aérea e sementes) - Análises bioquímicas - Aquisição das imagens hiperespectrais
R8 – maturidade fisiológica	- Massa de matéria seca de sementes - Análises bioquímicas - Aquisição das imagens hiperespectrais - Componentes de produção - Massa e densidade de mil sementes - Avaliações do teor de água e do potencial fisiológico das sementes colhidas

*Nomenclatura adaptada de Fehr e Caviness (1977)

3.1.2. Avaliação do desenvolvimento de plantas e dos componentes de produção

Massa de matéria seca de plantas e de sementes: foi obtida por meio da coleta de duas plantas, ao acaso, dos 20 vasos destinados à coleta destrutiva, nos estádios fenológicos citados na Tabela 5; após a obtenção das imagens hiperespectrais das plantas, as diferentes partes das plantas (raiz, parte aérea e sementes) foram seccionadas e separadas individualmente em sacos de papel e secas em estufas de circulação forçada de ar, a $65^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, até atingirem massa constante. Os resultados foram expressos em gramas por planta. Após a aferição da massa de matéria seca das plantas, as mesmas foram moídas em moinho de facas tipo willey e acondicionadas em recipientes plásticos estéreis, prontamente identificados e armazenados em ambiente refrigerado, para a análise bioquímica de referência.

Número de vagens por planta e número de sementes por planta: no estádio fenológico R8, foram coletadas cinco repetições de quatro plantas para cada tratamento dos vasos destinados a colheita de sementes, contabilizando os números

de vagens e de sementes formadas e abortadas. Os resultados foram expressos em número de vagens e de sementes por planta.

Percentual de abortamento: foi calculado a partir da quantidade de sementes não abortadas e a quantidade de cavidades presentes nas vagens. Para tal, foi realizada abertura individual das vagens, sendo computados o número de cavidades e de sementes não abortadas. O percentual de abortamento foi obtido por meio da equação a seguir:

$$ABORT = \frac{NA}{NC} * 100, \text{ em que:}$$

ABORT – percentual de sementes que sofreram abortamento;

NA – Número total de sementes consideradas não abortadas;

NC – Número total de cavidades das vagens.

Massa de mil sementes e densidade integrada de sementes: a massa de mil sementes foi determinada em balança analítica (sensibilidade 0,01 g), com oito repetições de mil sementes, de acordo com as Regra para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Por outro lado, a densidade de mil sementes foi determinada a partir de imagens radiográficas, de acordo com metodologia proposta por Abud, Cicero e Gomes-Junior (2018), utilizando-se quatro repetições de 25 sementes para cada condição de déficit hídrico; as sementes foram fixadas em papel transparente com fita dupla face e, em seguida, as imagens radiográficas foram adquiridas no equipamento Faxiton, modelo MX-20 DC-12, conectado a um computador Core 2 Duo (3,16 GHz, 2 GB de RAM e disco rígido de 160 GB). Foi utilizada a configuração de aquisição de 32 kV por um período de 10 segundos. As imagens geradas foram armazenadas em disco rígido portátil e, posteriormente, foram analisadas pelo *software* ImageJ®, para obtenção da variável “*Integrated Density*”, que é o resultado da soma dos valores dos *pixels* da área correspondente à semente, o que equivale ao produto da área e do valor médio de cinza (FERREIRA; RASBAND, 2012).

Rendimento de sementes: foi obtido por meio da pesagem das sementes colhidas nas plantas remanescentes em cada condição de déficit hídrico, divididas em quatro repetições de cinco plantas. O teor de água foi corrigido para 13 % conforme a equação a seguir e os resultados expresso em quilogramas (kg).

$$MC = ((100 - UI) * MI) / (100 - UC), \text{ em que:}$$

MC – massa corrigida (kg);

MI – massa inicial (kg);

UI – teor de água inicial;

UC – teor de água corrigido.

3.1.3. Análises bioquímicas

Teor açúcares solúveis totais: foi determinado pelo método do fenol sulfúrico (DUBOIS *et al.*, 1956), onde duas repetições de 50 mg de folhas e 50 mg de sementes que foram previamente secas e moídas. Na extração foram adicionados 3 mL de etanol 70 % em cada amostra, com agitações a cada 15 minutos durante 1 hora. Posteriormente, os recipientes foram centrifugados por 15 minutos, em rotação de 6.000 RPM (Centrífuga Avante J-26XPI, Beckman Coulter). O sobrenadante foi reservado e esse procedimento foi repetido por mais duas vezes com o precipitado. Os sobrenadantes das três extrações foram misturados e utilizados para a determinação de açúcares solúveis totais. Foi retirado uma alíquota de 0,01 mL da amostra extraída e foi adicionado 0,5 mL de fenol a 2 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado. Antecedendo a leitura foi determinada uma reta padrão usando sacarose, sendo que as leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 490 nm.

Teor de proteína solúvel: foi avaliada por meio de duas repetições de 50 mg de folhas e de 50 mg de sementes previamente secas e moídas. Para a extração foram utilizados 3 mL de hidróxido de sódio (NaOH), com posterior agitação e centrifugação a 6.000 rpm durante 10 minutos (Centrífuga 5418, Eppendorf). Do sobrenadante foi recuperado uma alíquota de 0,02 mL, com posterior adição de 1,0 mL do reagente de Bradford (BioRad). As reações tiveram as absorbâncias lidas em espectrofotômetro a 595 nm, conforme o método descrito por Bradford (1976). O cálculo da concentração de proteína nas amostras foi determinado por meio de uma reta padrão utilizando albumina de soro bovino (BSA).

Teor de lipídios: foi determinado em duas repetições de 50 mg de folhas e 50 mg de sementes secas e moídas. Os tubos foram inicialmente pesados (Balança 50 Analítica AY220, Shimadzu. Precisão: 0,1 mg). A extração foi feita utilizando 3 mL de tolueno, com posterior agitação a 100 RPM (Mesa Agitadora Orbital – MA376, Marconi) durante 15 h. Posteriormente, os tubos foram centrifugados em 6.000 RPM (Centrífuga Avante J-26XPI, Beckman Coulter) e o precipitado foi extraído; esse

procedimento foi feito por mais duas vezes. Os tubos contendo os precipitados foram secos, permanecendo em capela por um período de 15 horas e, posteriormente, foram pesados. O teor de lipídios foi calculado pela diferença de massa entre o peso da amostra inicial e da final.

3.1.4. Avaliação do teor de água e do potencial fisiológico das sementes colhidas

Teor de água: realizado de acordo com o método da estufa, durante 24 horas a $105\pm 3^{\circ}\text{C}$, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009); utilizando duas repetições com aproximadamente 4,0 gramas. Os resultados foram expressos em porcentagem (base úmida).

Germinação: foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes por condição, tendo como substrato folhas de papel-toalha, previamente umedecidas com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato, mantidas em germinador a 25°C , no escuro. As avaliações foram realizadas ao quinto (*primeira contagem de germinação*) e oitavo dia após a semeadura, computando-se as plântulas normais e anormais, além das sementes mortas. Os resultados foram expressos em porcentagem média de plântulas normais por condição de déficit hídrico e cultivar, segundo metodologia prescrita pelas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009).

Envelhecimento acelerado: quatro repetições de 50 sementes de cada condição foram distribuídas em camada única sobre tela suspensa no interior de caixas de plástico transparentes (11 x 11 x 3,5 cm), contendo 40 mL de água destilada. As caixas foram mantidas em incubadora tipo BOD, regulada a 41°C , durante 48 horas, no escuro, segundo procedimento descrito por Marcos-Filho *et al.* (1990). Posteriormente, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, conforme descrito anteriormente e as avaliações realizadas no quinto dia após a instalação do teste de germinação, contabilizando-se o número de plântulas normais (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem.

Emergência e velocidade de emergência de plântulas em areia: o teste foi realizado em casa de vegetação, onde foram utilizadas quatro repetições de 50 sementes para cada condição, distribuídas sobre uma camada de 6 cm de areia de textura média, colocada em caixas de plástico (32 x 28 x 10 cm). Após a semeadura, as sementes foram cobertas com uma camada de 3 cm de areia e, posteriormente, foi

efetuada irrigação até que o substrato atingisse 60 % da capacidade de retenção de água. As avaliações foram realizadas diariamente, computando-se o número de plântulas emersas até a estabilização do estande, determinando a porcentagem média de emergência de plântulas para cada condição e o índice de velocidade de emergência de plântulas, utilizando-se a equação proposta por Maguire (1962).

Teste de tetrazólio: foi realizado com duas repetições de 50 sementes para cada condição, pré-condicionadas em papel-toalha umedecido durante 16 horas, em germinador, a 25 °C, no escuro. Posteriormente, as sementes foram embebidas em solução de tetrazólio a 0,075% durante 2 horas, em estufa, a 40 °C, no escuro. Após o referido período, as sementes foram lavadas em água corrente e mantidas no escuro, submersas em água até o que se realizasse a avaliação individual, classificando-as em classes de vigor e de viabilidade, de acordo com França-Neto e Krzyzanowski (2022).

Análise computadorizada de imagens plântulas – Vigor-S: foram utilizadas cinco repetições de 20 sementes para cada condição, distribuídas em duas fileiras no terço superior sobre duas folhas de papel-toalha e cobertas com uma terceira folha. O substrato foi umedecido com quantidade de água equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato e os rolos de papel-toalha mantidos em germinador a 25°C, no escuro. Após três dias, as plântulas de cada repetição foram transferidas do rolo de papel-toalha para uma folha de E.V.A. (*Ethylene Vinyl Acetate*) de coloração azul, com dimensões de 30 cm x 22 cm, correspondente a área útil do escâner HP Scanjet 200, instalado em posição invertida no interior de uma caixa de alumínio (60 x 50 x 12 cm), ajustado para resolução 300 dpi e acoplado a um computador. No software, foram definidas as seguintes configurações: para os valores de crescimento e de uniformidade foram adotados os percentuais de 70 % e 30 %, respectivamente; para as contribuições do valor do hipocótilo e da raiz primária foram adotados os percentuais de 10 % e 90 %, respectivamente, conforme Rodrigues, Gomes-Junior e Marcos-Filho (2020); foram obtidos os valores médios do comprimento total de plântulas; finalmente, os dados foram exportados para uma planilha e analisados estatisticamente.

3.1.5. Análise estatística

Foi adotado o delineamento experimental inteiramente casualizado para os dados de desenvolvimento de plantas, componentes de produção e da avaliação do potencial fisiológico das sementes colhidas, sendo submetidos à análise de variância (ANOVA); também foram realizados o teste de Shapiro-Wilk e o teste de Bartlett, a fim de verificar se o conjunto de dados apresentava distribuição normal dos erros e a homogeneidade das variâncias, respectivamente. Posteriormente as médias foram comparadas por meio do teste de Dunnet ($p < 0.05$). Todas as análises estatísticas foram realizadas com o *software* R (R CORE TEAM, 2023).

3.2. Experimento II: estudo da dissimilaridade fenotípica entre cultivares de soja a partir de dados hiperespectrais

3.2.1. Aquisição das imagens hiperespectrais

Foi realizada em amostras de plantas e, ou de sementes, em função da época de análise discriminadas na Tabela 5. Para aquisição das imagens, duas plantas para cada condição de déficit hídrico foram coletadas ao acaso. Foram amostrados trifólios e sementes do terço médio das plantas, identificados imediatamente após cada coleta, acondicionados em sacos plásticos e mantidos em caixa plástica refrigerada até o momento da análise. A aquisição das imagens foi feita por meio de uma câmera hiperespectral (Specim – SisuCHEMA SWIR XL, SPECIM Ltda, Finlândia), do laboratório do Instituto de Química da Unicamp, em Campinas-SP (Figura 5A). Cada amostra era composta por três folíolos de soja ou por seis sementes; para cada amostra foi gerada uma imagem a partir do sensor hiperespectral na faixa espectral de 928-2524 nm, com resolução espectral de 156 μm usando um campo de visão de 50 mm, 100 quadros por segundo e velocidade de bandeja de 15,8 mm. O plano de fundo da imagem é composto de uma placa de politetrafluoretileno (PTFE), onde as amostras foram arranjadas (Figura 5B). O uso do PTFE como base para as amostras é utilizado como referência de refletância de 100 % para toda a faixa espectral do NIR, o que permite a segmentação entre as regiões de interesse (folhas e sementes) e o fundo que compõe a imagem. Os espectros foram obtidos em refletância, posteriormente convertidos em absorbância pelo próprio sistema do equipamento. As

imagens adquiridas foram prontamente identificadas após a sua aquisição e armazenadas em disco rígido.

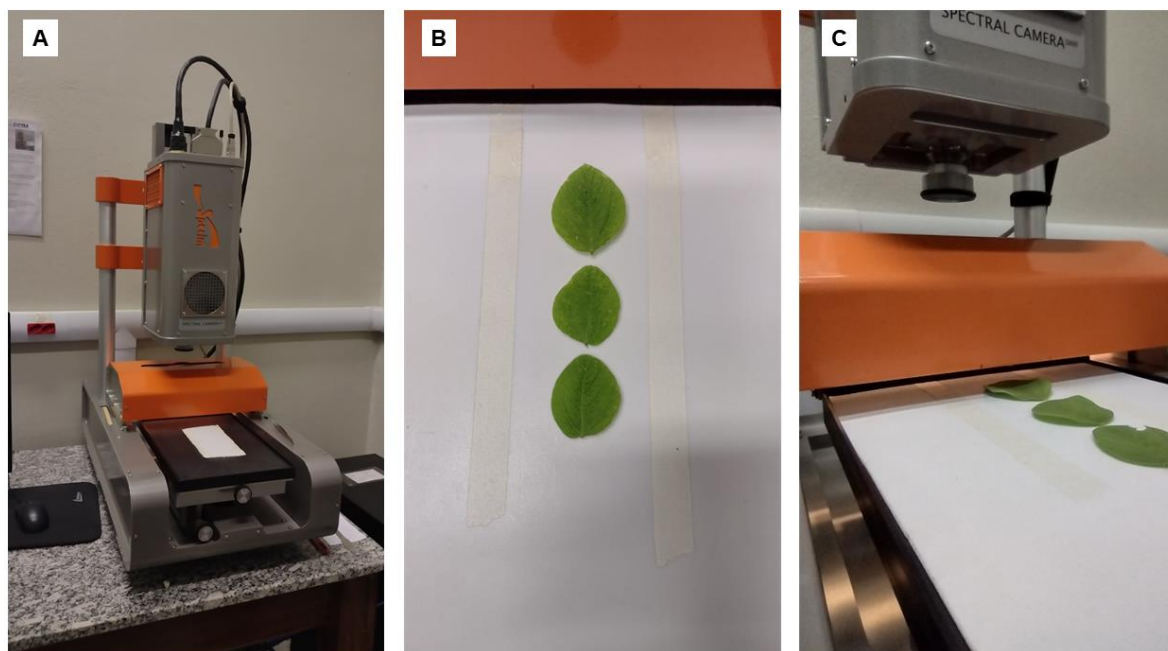


Figura 5. Visão geral do sensor hiperespectral Sisuchema (A), amostras de folhas acondicionadas sobre o suporte de PTFE (B) e amostra no momento da aquisição das imagens hiperespectrais (C)

3.2.2. Processamento das imagens hiperespectrais

A extração das informações das imagens, assim como o processamento hiperespectral de dados de imagem foi realizado usando o *software* Matlab R2022b e a biblioteca HYPER-Tools v.3.0. As diferentes etapas do pré-processamento e processamento das amostras estão discriminadas a seguir, conforme descrito em Amigo, Babamoradi e Elcoroaristizabal (2015) e Mobaraki e Amigo (2018); os dados foram todos salvos em arquivo no formato “.csv”. Por outro lado, a construção dos modelos preditivos foi realizada com o *software* R (R CORE TEAM, 2023).

3.2.2.1. Pré processamento das imagens

Foram empregadas técnicas espaciais e espectrais na etapa inicial de processamento das imagens. No processamento espacial, o objetivo foi remover o plano de fundo das imagens das amostras utilizando o algoritmo "*K-means*". Posteriormente, um processo de "*erosion*" foi executado para eliminar os *pixels* das bordas.

Na sequência, com o intuito de corrigir a variação na luminosidade e realçar as discrepâncias nos espectros para análises subsequentes, os dados brutos foram

submetidos a uma combinação de técnicas, incluindo Normalização de Variação Padrão (SNV) juntamente com a aplicação de derivadas Savitzky-Golay (polinômios de segunda ordem e uma janela de sete pontos). Todas essas etapas de processamento foram executadas utilizando o a biblioteca HYPER-Tools v.3.0. no *software* Matlab R2022b, de acordo com as diretrizes detalhadas por Amigo, Babamorad e Elcoroaristizabal (2015) e Mobaraki e Amigo (2018). A Figura 6 ilustra os espectros antes do pré-processamento (Figura 6A) e após o pré-processamento (Figura 6B), obtidos para uma das amostras de folha.

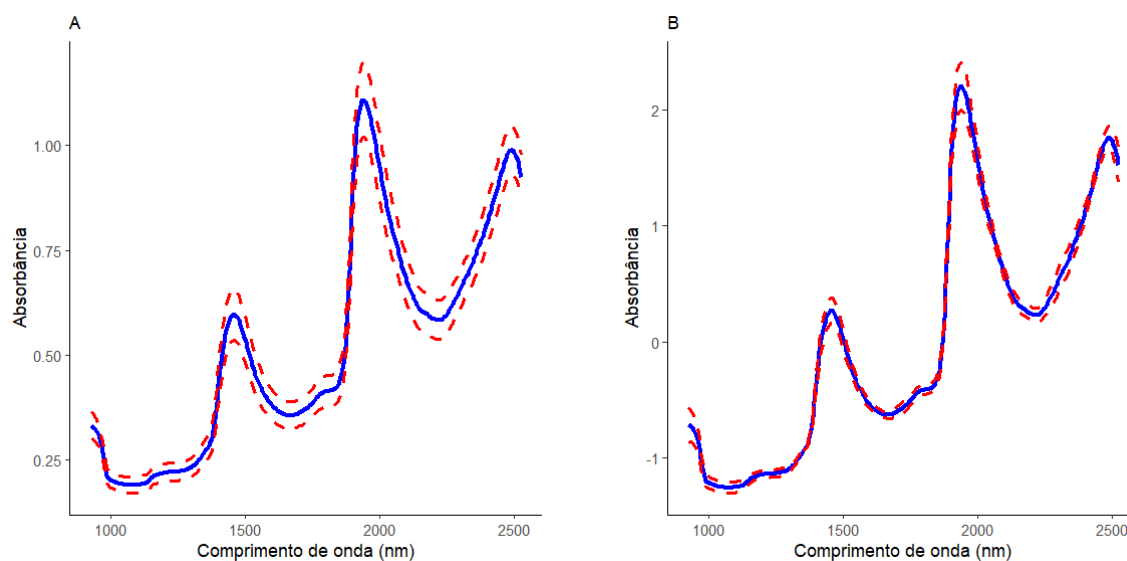


Figura 6. Média (linha azul) e desvio padrão (linhas vermelhas pontilhadas) dos espectros NIR brutos (A) e após o pré-processamento pelos métodos SNV e derivadas Savitzky-Golay (B) obtidos para folhas de soja oriunda da condição controle no estádio R2

3.2.2.2. Análise multivariada das imagens hiperespectrais

3.2.2.2.1. Análise exploratória dos dados

A fim de avaliar previamente a dissimilaridade fenotípicas entre cultivares, os espectros médios de absorvância para folhas e, ou de sementes de cada cultivar foram adquiridos e comparados por meio de uma representação gráfica dos perfis espectrais individuais. As amostras que demonstraram indícios de variação fenotípica entre os cultivares foram selecionadas para passar por análises posteriores.

A análise de componentes principais (PCA) foi empregada nos conjuntos de dados nos quais se observou um comportamento espectral distinto nos perfis espectrais das amostras entre os diversos cultivares. Foram geradas as superfícies de pontuação para cada imagem por meio da aplicação do modelo PCA. As discrepâncias nas intensidades de cores presentes nas imagens das superfícies das

pontuações estão associadas à principal fonte de variabilidade presente em cada *pixel*, a qual pode ser, em certa medida, atribuída à composição das amostras analisadas.

3.2.2.2.2. Análise supervisionada dos dados

Inicialmente, cada conjunto de dados passou por uma fase de seleção de variáveis, visando a exclusão das menos relevantes. Para isso, foi empregado o modelo de Regressão de Quadrados Parciais (*Partial Least Squares Regression - PLSR*), utilizando a técnica "*Variable Importance in Projection*" (VIP), a qual quantifica a relevância de cada variável preditora no contexto do PLSR. A magnitude do valor VIP associado a uma variável reflete sua importância na explicação da variabilidade da resposta, sendo que valores maiores indicam uma contribuição mais significativa. As bandas extraídas para cada conjunto de dados estão apresentadas na Tabela 24, contida no APÊNDICE B.

Os modelos supervisionados de máquina de vetores de suporte (SVM) e K-vizinhos mais próximos (KNN) foram empregados para analisar dados hiperespectrais e gerar modelos de classificação dos cultivares de soja. Para a construção dos modelos, cada conjunto de dados foi dividido aleatoriamente em duas partes: 70 % foram usados para treinamento e os 30 % restantes foram usados para testes. A fim de avaliar o desempenho dos modelos na classificação das imagens foram utilizadas as métricas de acurácia geral, sensibilidade, especificidade e coeficiente Cohen's Kappa.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Experimento I

4.1.1. Monitoramento agrometeorológico no interior da casa de vegetação

Estão apresentadas na Figura 7 a variação das temperaturas médias, máximas e mínimas, das umidades relativas média do ar, máxima e mínima e o nível de insolação incidente sobre a casa de vegetação. Durante todo o ciclo, a temperatura média diária oscilou entre 31,6 °C e 23,2 °C (Figura 7A), consideradas adequadas para desenvolvimento das plantas, que está compreendida entre 20 e 30°C (NEUMAIER *et al.*, 2020). No entanto, houve certos períodos em que houve um pico máximo de 46,8 °C e mínimo de 14,1°C. Temperaturas fora da faixa ótima podem comprometer o desenvolvimento adequado das plantas, porém, no monitoramento não foram observadas temperaturas mínimas capazes de afetar o metabolismo das plantas (<10°C); por outro lado, foram observadas temperaturas máximas, sendo que a ocorrência dessas se concentraram no final do ciclo. Segundo Board e Kahlon, (2011) temperaturas acima de 40 °C, reduzem a taxa de crescimento, provocam distúrbios no florescimento e no desenvolvimento das vagens e das sementes, provocando o seu abortamento.

Em relação a umidade relativa do ar, foram observados os valores médios entre 89 % e 46 %, com máximo de 94,8 % e mínimo de 20,8 % (Figura 7B). A ocorrência de níveis inadequados da umidade do ar pode favorecer o desenvolvimento de doenças, ocorrência de pragas, além de provocar distúrbios fisiológicos e reduzir a qualidade das sementes produzidas (NEUMAIER *et al.*, 2020). No entanto, não foi observado nenhum longo período de incidência dessas condições durante o experimento que pudessem afetar o desempenho das plantas.

A insolação incidente sobre a casa de vegetação também foi monitorada (Figura 7C), uma vez que a planta de soja possui exigências fotoperiódicas e quaisquer valores acima do fotoperíodo crítico pode acarretar atrasos no florescimento. O nível médio de insolação foi de 7,1 horas por dia, com pico máximo de 12,3 horas e mínimo de zero, correspondendo a ocorrência de dias de chuva, bastante nublados.

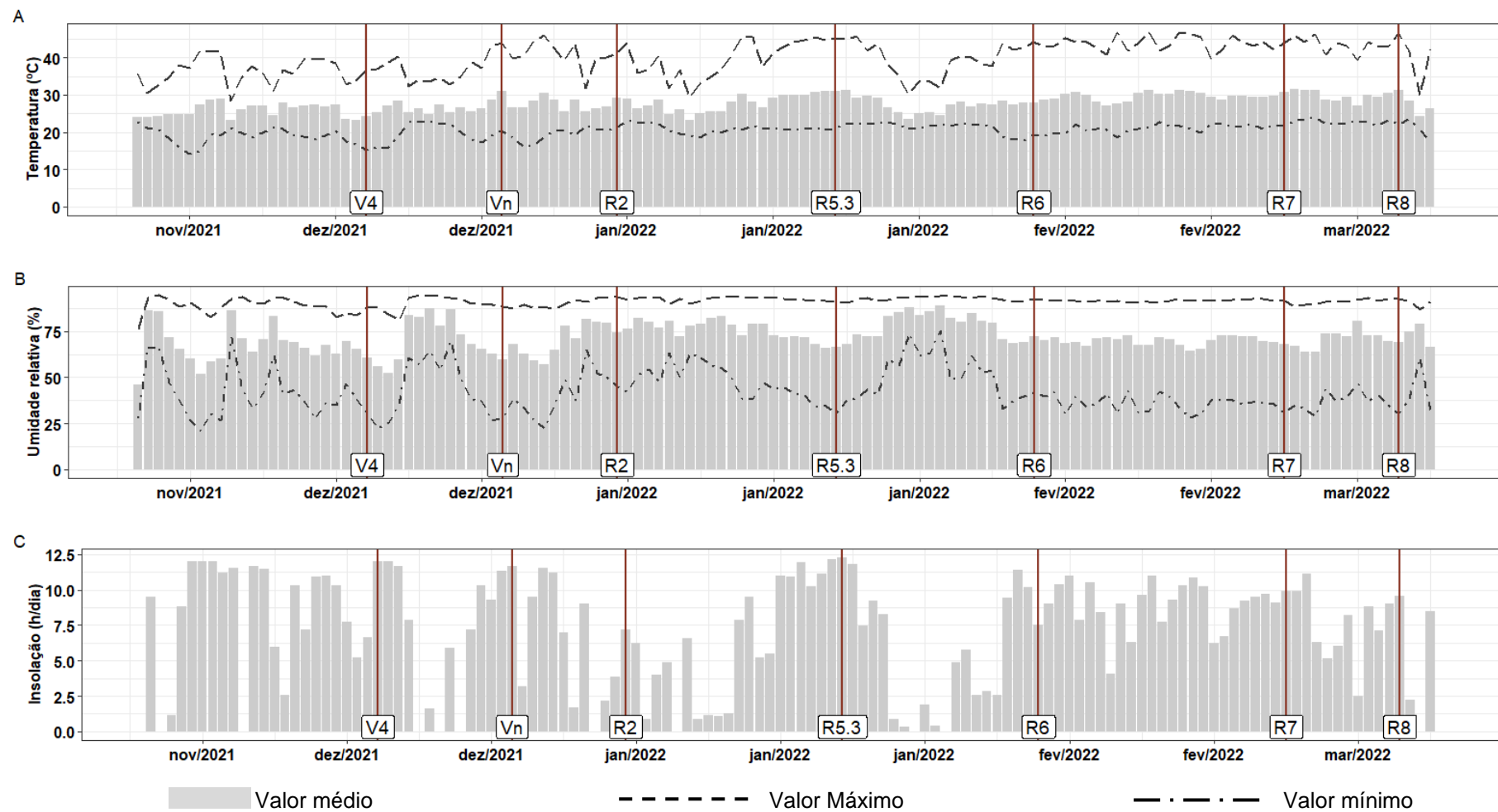


Figura 7. Gráfico de temperatura do ar (A), de umidade relativa do ar (B) no interior da casa de vegetação e insolação incidente (C) sobre a casa de vegetação

4.1.2. Desenvolvimento das plantas

Os efeitos das diferentes condições de déficit hídrico no acúmulo de massa de matéria seca da parte aérea durante os diferentes estádios de desenvolvimento estão apresentados na Tabela 6. Plantas oriundas da condição controle, ou seja, sem imposição de déficit hídrico, apresentaram taxa exponencial de acúmulo de massa de matéria seca da parte aérea ao longo do ciclo de desenvolvimento, para ambos cultivares, com acréscimo significativo de massa de matéria seca a partir do estádio fenológico R5. Além disso, observou-se que a taxa de acúmulo de massa de matéria seca entre os cultivares permaneceu semelhante até R5, foi somente em R6 que o cultivar tolerante apresentou maior aporte de massa de matéria seca (55 g.planta^{-1}), cerca de 12 % superior, comparado com o cultivar suscetível (49 g.planta^{-1}).

Sob condição de déficit moderado no estádio vegetativo (DMV2), em comparação com o controle, no estádio V4, o acúmulo de massa de matéria seca das plantas foi menor em 10 % para o cultivar suscetível ($0,77 \text{ g.planta}^{-1}$) e 23 % para o cultivar tolerante ($0,98 \text{ g.planta}^{-1}$), mas sem apresentar diferença estatística da condição controle. Mesmo retornando o fornecimento normal de água posteriormente, o desenvolvimento subsequente das plantas foi comprometido, onde o cultivar suscetível apresentou menor taxa de acúmulo de massa de matéria seca, diferindo significativamente da condição controle, em todos os estádios fenológicos subsequentes, com exceção de R2. Por sua vez, o cultivar tolerante, mesmo apresentando menores valores de massa de matéria seca que a condição controle, não diferiu da mesma, exceto no estádio R7.

Por outro lado, em situação de déficit severo no estádio vegetativo (DSV2), a taxa de acúmulo de massa de matéria seca de plantas foi menor 14 % para o cultivar suscetível ($0,74 \text{ g.planta}^{-1}$) e 25 % para o cultivar tolerante ($0,96 \text{ g.planta}^{-1}$); no entanto ambos os cultivares não apresentaram diferença significativa da condição controle em V4. Novamente, o desenvolvimento subsequente também foi comprometido, uma vez que as médias diferiram da testemunha em todos os estádios fenológicos para o cultivar suscetível e em Vn, R5 e R7 para o cultivar tolerante, indicando que a condição severa foi mais drástica que a condição moderada.

Para a cultura da soja no que se refere ao suprimento adequado de água, os períodos considerados críticos são dois, o primeiro entre a germinação e a emergência das plântulas e o segundo, entre a floração e a formação das sementes

(NEUMAIER *et al.*, 2020). No entanto, mesmo nos estádios iniciais, o suprimento inadequado de água pode exercer influência negativa irreversível no crescimento e no rendimento das plantas (DU *et al.*, 2020) e em casos severos, causar a morte da planta (FARIAS; NEPOMUCENO; NEUMAIER, 2007).

De acordo com os dados obtidos e conforme ilustrado na Figura 8, fica evidente que as plantas provenientes das condições de déficit hídrico durante o estágio vegetativo apresentaram menor crescimento. Essa redução no crescimento persistiu mesmo após a reversão das condições de déficit; é possível constatar que tanto em Vn quanto em R2, as plantas provenientes dessas condições exibiram um tamanho menor em comparação com as plantas das condições de controle. Além disso, o comprometimento no desenvolvimento foi mais acentuado sob condições severas de escassez hídrica.

A compreensão do efeito do estresse sobre as plantas nesse estágio de desenvolvimento é importante, pois em certas regiões produtoras de soja é comum a prática da antecipação da semeadura, que pode resultar em condição de déficit hídrico no período que compreende desde a germinação até a emissão de 2º trifólio (FERRARI; PAZ; SILVA, 2015), o que pode comprometer estabelecimento adequado do estande na lavoura.

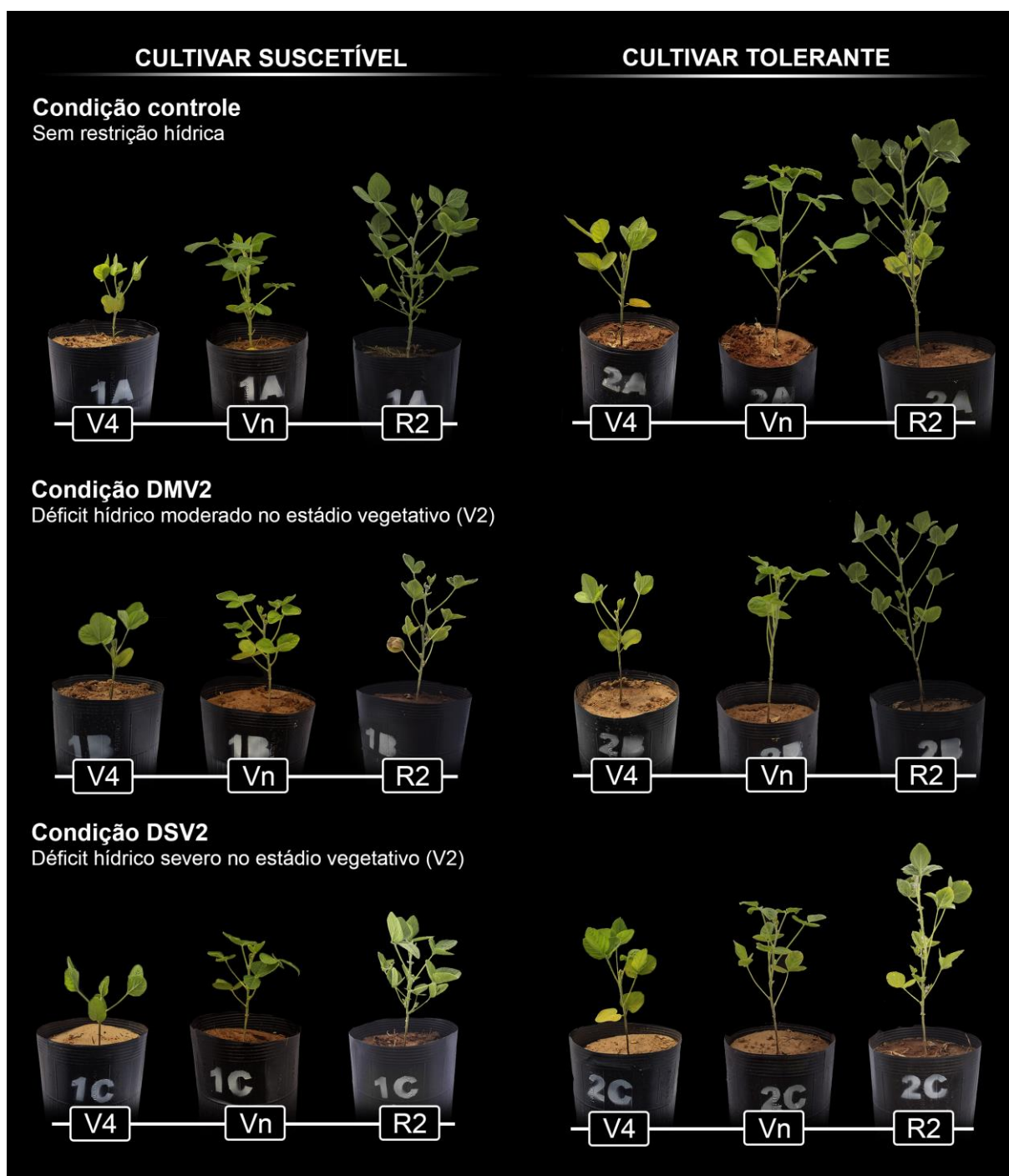


Figura 8. Plantas de soja dos cultivares suscetível e tolerante oriundas da condição controle e das condições moderada e severa de déficit hídrico imposto no estágio vegetativo V2, com reflexo nos estádios V4, Vn e R2.

Em R6, o acúmulo de matéria seca da parte aérea de plantas do cultivar suscetível oriundas da condição de déficit moderado no estágio reprodutivo (DMR6) foi de $49,89 \text{ g.planta}^{-1}$ e de $49,75 \text{ g.planta}^{-1}$ para a condição severa de déficit (DSR6), enquanto a condição controle foi de $49,2 \text{ g.planta}^{-1}$, não apresentando diferença estatística entre si. Da mesma forma, para o cultivar tolerante, o controle apresentou

55,51 g.planta⁻¹, a condição DMR6 apresentou uma média de 54,30 g.planta⁻¹ e 51,41 g.planta⁻¹ para a condição DSR6; apesar dessa ligeira redução, em valores absolutos, não houve diferença estatística entre as condições de déficit com o controle.

O desenvolvimento subsequente também parece não ter sido afetado, uma vez que as plantas se encontravam em final do ciclo, onde apenas na condição severa de déficit hídrico, para ambos cultivares, no estágio R7, que os valores de massa de matéria seca acumulada foi menor do que a condição controle, o que pode ser caracterizado pelo início do processo de senescência, que pode ser acelerado em condições de déficit hídrico e resultar na abscisão das folhas sob condições severas (TAIZ *et al.*, 2017).

Apesar do déficit hídrico ser mais drástico em estádios reprodutivos, o acúmulo de massa de matéria seca da parte aérea não parece ter sido drasticamente afetado nesse período, pois a planta está direcionando o seu metabolismo para o desenvolvimento das sementes que estão sendo formadas; nessa etapa há pouco crescimento e expansão foliar, além disso, caso a planta não tenha capacidade de fornecer o suprimento adequado para a expansão foliar, ela irá utilizar de suas reservas, retranslocando-as das folhas mais velhas para os pontos de crescimento (ARAÚJO-FILHO *et al.*, 2013).

É importante ressaltar que, conforme pode ser observado na Figura 9, as condições de déficit impostas no estágio reprodutivo, apesar de não ter sido influenciada no aporte de massa de matéria seca das plantas, conforme os dados aqui anteriormente discutidos, observa-se que as plantas apresentaram aspecto de murcha, além de passarem pelo processo de maturação forçada, já que é possível observar que as plantas, ainda no estágio R6, adquiriram aspecto amarelado, comum no estágio R7. Além disso, é possível observar, que para o cultivar tolerante, no estágio R7, as plantas apresentaram desfolha intensa, sobretudo na condição severa.

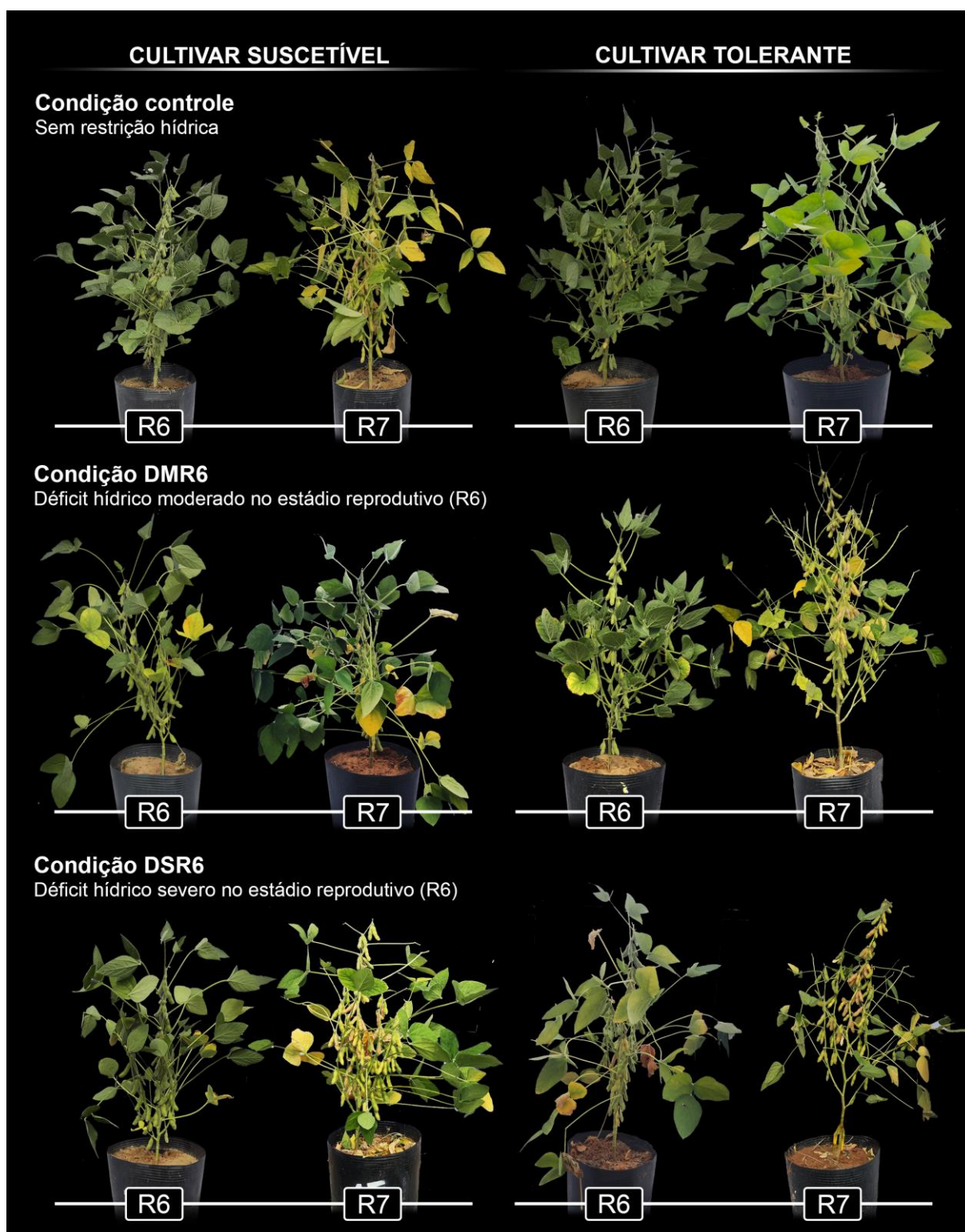


Figura 9. Plantas de soja dos cultivares suscetível e tolerante oriundas da condição controle e das condições moderada e severa de déficit hídrico imposto no estágio reprodutivo R6, com reflexo nos estádios fenológicos R6 e R7.

As plantas também foram submetidas a condição de déficit hídrico em associação durante os estádios vegetativo e reprodutivo (V2+R6), onde tanto a condição moderada (DMV2R6), quanto a severa (DSV2R6), afetaram o acúmulo de

massa de matéria seca da parte aérea das plantas. Em V4, após o primeiro déficit, no estágio vegetativo, as plantas do cultivar suscetível, apresentaram redução, em valores absolutos, da massa de matéria seca de 14 % para as condições moderada e severa ($0,74 \text{ g.planta}^{-1}$), em relação a condição controle ($0,86 \text{ g.planta}^{-1}$); por outro lado, para o cultivar tolerante, as diferenças, em valores absolutos, foram de 15 % na condição DMV2R6 ($1,09 \text{ g.planta}^{-1}$) e de 23 % na condição DSV2R6 ($0,99 \text{ g.planta}^{-1}$), em comparação com a condição controle ($1,29 \text{ g.planta}^{-1}$). A taxa de acúmulo de massa de matéria seca subsequente (V_n) também foi comprometida, onde as médias sempre se mantiveram abaixo da média controle.

Após a submissão de um novo déficit, dessa vez em no estágio reprodutivo, a condição controle do cultivar suscetível apresentou, em R6, acúmulo de massa de matéria seca de $49,20 \text{ g.planta}^{-1}$, a condição moderada (DMV2R6) um acúmulo de $34,33 \text{ g.planta}^{-1}$ e a condição severa (DSV2R6) de $27,42 \text{ g.planta}^{-1}$, uma redução de 30 % e 44 %, respectivamente. Apesar de também ter sido afetado, o cultivar tolerante, apresentou uma menor redução no acúmulo de massa de matéria seca da parte aérea, onde o controle apresentou $55,51 \text{ g.planta}^{-1}$ de massa de matéria seca, a condição DMV2R6 com $50,88 \text{ g.planta}^{-1}$ e a DSV2R6 com $45,04 \text{ g.planta}^{-1}$, representando uma redução de 8 % e 19 %, respectivamente.

É notório que as condições de déficit hídrico impostas às plantas foram prejudiciais ao seu crescimento e desenvolvimento; no entanto, os resultados aqui obtidos, permitem inferir que no estágio vegetativo a ocorrência de déficit hídrico, afeta mais drasticamente o acúmulo de biomassa vegetal das plantas de soja do que quando ocorre apenas no período reprodutivo, uma vez que nessa época os efeitos devem ser mais expressivos na formação das sementes, resultados que serão abordados mais adiante.

Além disso, fica evidente que a combinação de duas condições de déficit, uma durante o estágio vegetativo e outra durante o estágio reprodutivo, amplificou de maneira significativa o efeito prejudicial no desenvolvimento das plantas. Conforme ilustrado na Figura 10, as plantas de soja foram afetadas negativamente já a partir do primeiro período de déficit hídrico, durante o estágio vegetativo. No entanto, quando submetidas a um segundo período de déficit, desta vez durante o estágio reprodutivo, os impactos foram ainda mais prejudiciais do que quando o déficit ocorreu apenas em único estágio fenológico. Além de exibirem estatura reduzida e menor acúmulo de biomassa vegetal, também foi possível observar a ocorrência de maturação precoce

em algumas plantas, principalmente naquelas provenientes das condições mais severas de déficit hídrico.



Figura 10. Plantas de soja dos cultivares suscetível e tolerante oriundas da condição controle e das condições moderada e severa de déficit hídrico imposto em associação nos estádios vegetativo (V2) e reprodutivo (R6), com reflexo nos estádios V4, Vn, R2, R6 e R7.

Tabela 6. Acúmulo de massa de matéria seca da parte aérea de dois cultivares de soja durante diferentes estádios de crescimento sob diferentes condições de déficit hídrico

Suscetível (BRS Compacta IPRO)						
Condição	Estádio fenológico					
	V4	Vn	R2	R5	R6	R7
g.planta ⁻¹						
Controle¹	0,86 ± 0,09	2,59 ± 0,24	4,51 ± 0,55	30,45 ± 2,04	49,20 ± 1,86	55,12 ± 0,18
DMV2	0,77 ^{ns} ± 0,04	1,34 ^{*2} ± 0,25	3,56 ^{ns} ± 0,08	19,71* ± 4,27	38,88* ± 2,57	37,32* ± 1,21
DSV2	0,74 ^{ns} ± 0,10	1,20* ± 0,08	2,17* ± 0,12	17,28* ± 2,26	33,51* ± 1,88	32,93* ± 1,34
DMR6	0,84 ^{ns} ± 0,02	2,64 ^{ns} ± 0,11	3,94 ^{ns} ± 0,72	28,35 ^{ns} ± 1,64	49,89 ^{ns} ± 2,28	52,84 ^{ns} ± 1,87
DSR6	0,83 ^{ns} ± 0,03	2,54 ^{ns} ± 0,07	4,35 ^{ns} ± 0,45	29,41 ^{ns} ± 3,67	49,75 ^{ns} ± 1,53	47,82* ± 1,48
DMV2R6	0,74 ^{ns} ± 0,09	1,32* ± 0,23	2,51* ± 0,0	21,62 ^{ns} ± 2,72	34,33* ± 1,62	35,71* ± 0,35
DSV2R6	0,74 ^{ns} ± 0,01	1,18* ± 0,14	1,43* ± 0,11	14,14* ± 0,76	27,42* ± 1,55	25,21* ± 0,73
Tolerante (DM 66i68 IPRO)						
Condição	Estádio fenológico					
	V4	Vn	R2	R5	R6	R7
g.planta ⁻¹						
Controle	1,29 ± 0,08	2,61 ± 0,04	4,59 ± 0,47	31,24 ± 0,73	55,51 ± 1,05	69,06 ± 1,51
DMV2	0,98 ^{ns} ± 0,01	1,94 ^{ns} ± 0,31	4,09 ^{ns} ± 0,21	27,25 ^{ns} ± 1,07	54,56 ^{ns} ± 2,50	62,46* ± 0,49
DSV2	0,96 ^{ns} ± 0,07	1,37* ± 0,21	4,02 ^{ns} ± 0,11	26,34* ± 0,40	54,22 ^{ns} ± 1,14	61,90* ± 0,16
DMR6	1,29 ^{ns} ± 0,34	2,44 ^{ns} ± 0,21	4,22 ^{ns} ± 0,25	31,95 ^{ns} ± 0,98	54,30 ^{ns} ± 3,20	66,24 ^{ns} ± 0,30
DSR6	1,24 ^{ns} ± 0,09	2,48 ^{ns} ± 0,12	3,98 ^{ns} ± 0,28	30,47 ^{ns} ± 1,61	51,41 ^{ns} ± 3,15	62,17* ± 2,28
DMV2R6	1,09 ^{ns} ± 0,01	1,88* ± 0,24	4,17 ^{ns} ± 0,10	24,50* ± 1,71	50,88 ^{ns} ± 1,24	55,95* ± 1,34
DSV2R6	0,99 ^{ns} ± 0,08	1,60* ± 0,25	3,91 ^{ns} ± 0,51	24,31* ± 1,34	45,04* ± 0,40	52,69* ± 0,03

¹Controle – condição sem déficit hídrico; DMV2 – déficit moderado em V2; DSV2 – déficit severo em V2; DMR6 – déficit moderado em R6; DSR6 – déficit severo em R6; DMV2R6 – déficit moderado em V2 e em R6; DSV2R6 – déficit severo em V2 e em R6

²As médias seguidas de * na coluna, para cada cultivar, são significativas a 5 % de probabilidade pelo teste de Dunnett, em comparação com a condição controle; ns: não significativo

Os dados de acúmulo de massa de matéria seca de raízes das plantas estão apresentados na Tabela 7. As diferentes condições de fornecimento de água parecem não ter exercido efeito expressivo no desenvolvimento das raízes, para ambos cultivares, isso porque o padrão de desenvolvimento das raízes ao longo dos estádios fenológicos se deu de forma semelhante ao tratamento controle, não apresentando diferença estatística entre nenhuma das condições, para ambos cultivares.

Embora o crescimento radicular das plantas de soja apresente resposta significativa ao estresse hídrico, o efeito do estresse hídrico no crescimento radicular dependerá da profundidade do solo em que o sistema radicular se encontra, sendo o mais afetado nas camadas superficiais do que em maiores profundidades (GARAY; WILHELM, 1983), condição essa não presente neste estudo, considerando que experimento foi conduzido em vasos plásticos, o que caracteriza impedimento físico para o completo desenvolvimento das raízes das plantas, sobretudo em profundidade.

Segundo Wu *et al.* (2007), quando a condição de estresse hídrico se estabelece durante a fase do estabelecimento da plântula, as plantas de soja priorizam o desenvolvimento do sistema radicular, em área, volume e comprimento, enquanto o estresse hídrico em outros estádios desacelera o desenvolvimento morfológico da raiz. Ainda segundo os mesmos autores, o nível de restrição hídrica também parece afetar o estabelecimento do sistema radicular, sendo que sob a condição de seca moderada, as raízes crescem melhor do que em secas severas.

Tabela 7. Acúmulo de massa de matéria seca de raiz de dois cultivares de soja durante diferentes estádios de crescimento sob diferentes condições de déficit hídrico

Suscetível (BRS Compacta IPRO)						
Condição	Estádio fenológico					
	V4	Vn	R2	R5	R6	R7
	g.planta ⁻¹					
Controle¹	1,20 ± 0,05	1,52 ± 0,06	2,50 ± 0,28	7,76 ± 1,05	8,99 ± 0,06	9,39 ± 0,18
DMV2	1,21 ^{ns} ± 0,04 ²	1,51 ^{ns} ± 0,13	2,24 ^{ns} ± 0,26	7,30 ^{ns} ± 0,12	8,86 ^{ns} ± 0,25	9,13 ^{ns} ± 1,21
DSV2	1,16 ^{ns} ± 0,17	1,46 ^{ns} ± 0,22	2,53 ^{ns} ± 0,24	7,72 ^{ns} ± 1,19	8,77 ^{ns} ± 0,30	9,32 ^{ns} ± 1,34
DMR6	1,19 ^{ns} ± 0,11	1,45 ^{ns} ± 0,17	2,17 ^{ns} ± 0,21	7,31 ^{ns} ± 0,61	8,79 ^{ns} ± 0,46	9,28 ^{ns} ± 1,87
DSR6	1,01 ^{ns} ± 0,02	1,50 ^{ns} ± 0,05	2,42 ^{ns} ± 0,10	7,22 ^{ns} ± 1,14	8,77 ^{ns} ± 0,30	9,24 ^{ns} ± 1,48
DMV2R6	1,19 ^{ns} ± 0,11	1,54 ^{ns} ± 0,14	2,41 ^{ns} ± 0,49	7,17 ^{ns} ± 0,23	8,97 ^{ns} ± 0,15	9,16 ^{ns} ± 0,35
DSV2R6	1,12 ^{ns} ± 0,45	1,56 ^{ns} ± 0,20	2,36 ^{ns} ± 0,11	7,44 ^{ns} ± 0,57	8,89 ^{ns} ± 0,18	9,17 ^{ns} ± 0,73
Tolerante (DM 66i68 IPRO)						
Condição	Estádio fenológico					
	V4	Vn	R2	R5	R6	R7
	g.planta ⁻¹					
Controle	0,80 ± 0,15	3,05 ± 0,09	3,73 ± 0,022	7,68 ± 0,33	9,70 ± 0,17	9,08 ± 1,51
DMV2	0,86 ^{ns} ± 0,08	3,12 ^{ns} ± 0,06	3,71 ^{ns} ± 0,09	7,91 ^{ns} ± 0,16	9,28 ^{ns} ± 0,53	9,03 ^{ns} ± 0,49
DSV2	0,87 ^{ns} ± 0,06	3,07 ^{ns} ± 0,13	3,48 ^{ns} ± 0,44	7,85 ^{ns} ± 0,30	9,21 ^{ns} ± 0,43	9,20 ^{ns} ± 0,16
DMR6	0,85 ^{ns} ± 0,01	2,93 ^{ns} ± 0,22	3,55 ^{ns} ± 0,45	7,79 ^{ns} ± 0,62	8,88 ^{ns} ± 0,21	9,20 ^{ns} ± 0,30
DSR6	0,86 ^{ns} ± 0,10	2,99 ^{ns} ± 0,08	3,68 ^{ns} ± 0,42	7,37 ^{ns} ± 0,09	8,81 ^{ns} ± 0,18	8,95 ^{ns} ± 2,28
DMV2R6	0,81 ^{ns} ± 0,10	2,96 ^{ns} ± 0,11	3,81 ^{ns} ± 0,06	8,07 ^{ns} ± 1,17	8,74 ^{ns} ± 0,40	8,99 ^{ns} ± 1,34
DSV2R6	0,78 ^{ns} ± 0,03	3,08 ^{ns} ± 0,04	3,72 ^{ns} ± 0,26	7,76 ^{ns} ± 0,49	8,80 ^{ns} ± 0,13	9,27 ^{ns} ± 0,03

¹Controle – condição sem déficit hídrico; DMV2 – déficit moderado em V2; DSV2 – déficit severo em V2; DMR6 – déficit moderado em R6; DSR6 – déficit severo em R6; DMV2R6 – déficit moderado em V2 e em R6; DSV2R6 – déficit severo em V2 e em R6

² ns: não significativo

Na Tabela 8 estão apresentados os dados de massa de matéria seca de sementes de soja, ao longo do período de formação das sementes de dois cultivares em função das diferentes condições de déficit hídrico. Na condição controle, os cultivares apresentaram ganhos exponenciais de massa de matéria seca até o estágio R7, uma vez que a partir deste período, as sementes perdem a conexão vascular com a planta-mãe e não houve mais acréscimo de massa.

Foi somente a partir da imposição dos déficits no período reprodutivo, que o acúmulo de massa de matéria seca nas sementes apresentaram diferenças expressivas. Para o cultivar suscetível, em R6, somente a condição de déficit severo em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo (DSV2R6), apresentou sementes mais leves 19 % a menos ($3,39 \text{ g.planta}^{-1}$) do que a condição controle ($4,17 \text{ g.planta}^{-1}$). Em R7, as sementes oriundas da condição severa no reprodutivo (DSR6), e das condições moderada (DMV2R6) e severa (DSV2R6) em associação no vegetativo e reprodutivo também apresentaram menor taxa de acúmulo de massa de matéria seca. Em R8, somente as condições DMV2R6 e DSV2R6 apresentaram menor aporte de massa de matéria seca em suas sementes em relação à condição controle.

Por outro lado, para o cultivar tolerante, somente as condições de déficit em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo, foram as quais proporcionaram sementes de menor massa, em relação ao controle, no estágio R7, sendo a condição moderada (4,24 g) e a condição severa (3,52 g) de déficit hídrico em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo. Em R8, novamente, as mesmas condições foram as que apresentaram diferença estatística em relação ao controle (5,37 g), sendo a condição DMV2R6 com 3,99 g e a condição DSV2R6 3,06 g.

Tabela 8. Acúmulo de massa de matéria seca de sementes de dois cultivares de soja durante diferentes estádios de crescimento sob diferentes condições de déficit hídrico

Suscetível (BRS Compacta IPRO)				
Condição	Estádio fenológico			
	R5	R6	R7	R8
g em 25 sementes				
Controle¹	2,76 ± 0,11	4,17 ± 0,05	4,92 ± 0,17	4,63 ± 0,30
DMV2	2,70 ^{ns} ± 0,06	4,14 ^{ns} ± 0,25	4,69 ^{ns} ± 0,40	4,23 ^{ns} ± 0,09
DSV2	2,67 ^{ns} ± 0,16	4,11 ^{ns} ± 0,30	4,55 ^{ns} ± 0,19	4,33 ^{ns} ± 0,18
DMR6	2,65 ^{ns} ± 0,06	4,15 ^{ns} ± 0,46	4,48 ^{ns} ± 0,15	4,97 ^{ns} ± 0,16
DSR6	2,68 ^{ns} ± 0,20	4,13 ^{ns} ± 0,30	4,01* ± 0,03	4,16 ^{ns} ± 0,14
DMV2R6	2,51 ^{ns} ± 0,15	3,80 ^{ns} ± 0,15	3,72* ± 0,19	3,60* ± 0,11
DSV2R6	2,38 ^{ns} ± 0,06	3,39* ± 0,18 ²	3,40* ± 0,14	3,40* ± 0,24
Tolerante (DM 66i68 IPRO)				
Condição	Estádio fenológico			
	R5	R6	R7	R8
g em 25 sementes				
Controle	2,09 ± 0,03	4,56 ± 0,17	5,67 ± 1,51	5,37 ± 0,46
DMV2	2,08 ^{ns} ± 0,16	4,53 ^{ns} ± 0,53	5,71 ^{ns} ± 0,49	5,32 ^{ns} ± 0,35
DSV2	2,07 ^{ns} ± 0,06	4,57 ^{ns} ± 0,43	5,67 ^{ns} ± 0,16	5,24 ^{ns} ± 0,25
DMR6	2,16 ^{ns} ± 0,21	4,37 ^{ns} ± 0,21	5,71 ^{ns} ± 0,30	4,93 ^{ns} ± 0,25
DSR6	1,96 ^{ns} ± 0,13	4,01 ^{ns} ± 0,18	5,08 ^{ns} ± 2,28	4,42 ^{ns} ± 0,41
DMV2R6	1,98 ^{ns} ± 0,06	3,36 ^{ns} ± 0,40	4,24* ± 1,34	3,99* ± 0,51
DSV2R6	1,87 ^{ns} ± 0,19	3,05 ^{ns} ± 0,13	3,52* ± 0,03	3,06* ± 0,21

¹Controle – condição sem déficit hídrico; DMV2 – déficit moderado em V2; DSV2 – déficit severo em V2;

DMR6 – déficit moderado em R6; DSR6 – déficit severo em R6; DMV2R6 – déficit moderado em V2 e em R6;

DSV2R6 – déficit severo em V2 e em R6

²As médias seguidas de * na coluna, para cada cultivar, são significativas a 5 % de probabilidade pelo teste de Dunnett em comparação com a condição controle; ns: não significativo

É justamente entre os estádios R5 e R7 que as plantas de soja se mostram bastante sensíveis ao estresse hídrico (DORNBOS JR; MCDONALD JR, 1986), isso ocorre porque nesse estágio de desenvolvimento há intensa transferência de reservas da planta para as sementes que estão sendo formadas; portanto, o teor de água precisa ser elevado, pois é por meio da água que os fotoassimilados serão transferidos das folhas para as sementes (MARCOS-FILHO, 2015).

A ocorrência de restrição hídrica durante a fase inicial da formação das sementes resulta em número menor de sementes formadas, uma vez que o processo de abortamento dessas sementes é induzido (BEWLEY *et al.*, 2013). Por outro lado, quando o déficit hídrico ocorre durante a fase de transferência de fotoassimilados, resultará em efeitos deletérios no tamanho das sementes, massa e potencial fisiológico das sementes produzidas (MARCOS-FILHO, 2015), isso porque ao ocorrer nesse estágio, o déficit hídrico acelera o processo de senescência das folhas, encurtando o período de acúmulo de massa de matéria seca das sementes, reduzindo o seu tamanho (DE SOUZA; EGLI; BRUENING, 1997).

Submetendo dois cultivares de soja a um estresse hídrico severo de 30 %, segundo a capacidade de retenção do solo, a partir do período de enchimento de

sementes até a maturidade fisiológica, (EGLI; BRUENING, 2004), observaram redução da massa e do tamanho das sementes, sem haver redução no número de sementes produzidas por planta. Da mesma forma, Jumrani e Bhatia (2018), verificaram que a massa das sementes de soja foi significativamente reduzida pelo estresse hídrico associado a altas temperaturas, quando imposto nos estádios vegetativo e reprodutivo, sendo mais drástico nesse último.

4.1.3. Análises bioquímicas

4.1.3.1. Teor de açúcar solúvel

Na Tabela 9 estão os dados referentes ao teor de açúcar solúvel em folhas de soja ao longo dos estádios de desenvolvimento, em diferentes condições de déficit hídrico. Para o cultivar suscetível, em V4, na condição de déficit moderado no estádio vegetativo (DMV2), o teor de açúcar foi maior em 16 % ($162,2 \mu\text{g.mg}^{-1}$) do que a condição controle ($140,04 \mu\text{g.mg}^{-1}$), permanecendo superior nos estádios Vn e R5. Por outro lado, a condição de déficit severo no vegetativo (DSV2), também promoveu um aumento de 23 % ($172,60 \mu\text{g.mg}^{-1}$) no teor de açúcar, em comparação ao controle, permanecendo superior em Vn, R2 e R5. Resultados semelhantes foram obtidos para o cultivar tolerante, em V4, onde as mesmas condições, resultaram em acúmulo de açúcar superior de 32 % ($151,19 \mu\text{g.mg}^{-1}$) e 59 % ($181,18 \mu\text{g.mg}^{-1}$), respectivamente, permanecendo superior nos estádios Vn e R2; no entanto, em R6 a taxa de acúmulo de açúcar foi menor do que a condição controle.

Por outro lado, quando o déficit hídrico foi imposto apenas no estádio reprodutivo, também houve maior acúmulo dos teores de açúcares solúveis totais; para o cultivar suscetível o acúmulo foi superior em 4 % ($113,73 \mu\text{g.mg}^{-1}$) na condição moderada (DMR6) e de 18 % ($129,39 \mu\text{g.mg}^{-1}$) para a condição severa (DSR6), no estádio R6, sendo significativo apenas para a condição severa de déficit. O mesmo aconteceu para o cultivar tolerante em R6, com média superior em 14 % ($180,33 \mu\text{g.mg}^{-1}$) e 11 % ($174,45 \mu\text{g.mg}^{-1}$) para as condições DMR6 e DSR6, respectivamente.

O aumento do teor de açúcar nas folhas também foi observado nas condições de déficit em dois períodos (V2+R6). Para o cultivar suscetível, após o primeiro déficit em V2, a condição moderada (DMV2R6), apresentou no estádio V4, um percentual de açúcar 22 % ($171,37 \mu\text{g.mg}^{-1}$) superior em relação ao controle, permanecendo superior até o estádio Vn. Por sua vez, a condição severa (DSV2R6), proporcionou

30% a mais de açúcar acumulado em suas folhas ($181,70 \mu\text{g.mg}^{-1}$), quando comparada à condição controle, essa situação permaneceu ao longo de todos os estádios subsequentes, até o segundo déficit. No segundo déficit, dessa vez imposto no estádio reprodutivo, o acúmulo de açúcar, em R6, de 39 % para a condição moderada ($152,96 \mu\text{g.mg}^{-1}$) e de 66 % para a condição severa ($181,84 \mu\text{g.mg}^{-1}$), ambas superiores à condição controle. Nos estádios seguintes, ambas as condições apresentaram estatisticamente superior à condição controle.

Em V4, o cultivar tolerante também apresentou acréscimos de 31 % e 53 % no acúmulo de açúcar, para as condições moderada e severa ($149,92 \mu\text{g.mg}^{-1}$ e $176,18 \mu\text{g.mg}^{-1}$), respectivamente, após o primeiro déficit, no estádio vegetativo, permanecendo superior à condição controle durante os estádios Vn, R2 e R5; o mesmo foi observado após o segundo déficit, no período reprodutivo, com acúmulo superior de 15 % para a condição moderada ($180,77 \mu\text{g.mg}^{-1}$) e de 52 % para a condição severa ($240,29 \mu\text{g.mg}^{-1}$), permanecendo superior em todos os estádios subsequentes em que foram avaliados.

Tabela 9. Teor de açúcar solúvel em folhas de dois cultivares de soja durante diferentes estádios de crescimento sob diferentes condições de déficit hídrico

Suscetível (BRS Compacta IPRO)						
Condição	Estádio fenológico					
	V4	Vn	R2	R5	R6	R7
	µg.mg ⁻¹					
Controle¹	140,04 ± 1,73	142,19 ± 2,80	171,57 ± 4,31	133,64 ± 2,44	109,72 ± 5,88	105,68 ± 4,29
DMV2	162,27* ² ± 3,57	161,60* ± 2,29	166,85 ^{ns} ± 2,78	121,75* ± 1,77	109,69 ^{ns} ± 4,70	100,20 ^{ns} ± 3,91
DSV2	172,60* ± 6,01	197,17* ± 3,69	158,85* ± 3,47	118,26* ± 2,87	106,41 ^{ns} ± 3,75	102,16 ^{ns} ± 2,96
DMR6	139,63 ^{ns} ± 7,97	139,77 ^{ns} ± 1,95	178,60 ^{ns} ± 2,46	131,10 ^{ns} ± 2,05	113,73 ^{ns} ± 2,70	109,44 ^{ns} ± 5,29
DSR6	142,80 ^{ns} ± 2,02	144,48 ^{ns} ± 3,94	174,89 ^{ns} ± 2,80	128,22 ^{ns} ± 3,84	129,39* ± 3,80	93,63* ± 3,32
DMV2R6	171,37* ± 5,89	169,53* ± 4,40	173,92 ^{ns} ± 2,77	128,71 ^{ns} ± 2,34	152,96* ± 2,97	121,57* ± 2,44
DSV2R6	181,70* ± 3,85	185,36* ± 4,00	149,97* ± 1,98	112,35* ± 3,53	181,84* ± 6,71	68,55* ± 2,08
Tolerante (DM 66i68 IPRO)						
Condição	Estádio fenológico					
	V4	Vn	R2	R5	R6	R7
	µg.mg ⁻¹					
Controle	114,79 ± 2,22	123,05 ± 1,95	146,63 ± 1,84	159,82 ± 2,29	157,70 ± 3,03	104,96 ± 4,51
DMV2	151,19* ± 2,73	141,90* ± 1,41	138,16* ± 3,44	156,32 ^{ns} ± 2,04	144,22* ± 1,81	102,02 ^{ns} ± 5,09
DSV2	181,18* ± 2,16	194,97* ± 2,79	137,94* ± 3,75	157,62 ^{ns} ± 2,95	147,71* ± 2,94	108,72 ^{ns} ± 4,05
DMR6	111,65 ^{ns} ± 2,19	125,76 ^{ns} ± 4,02	143,78 ^{ns} ± 2,24	161,07 ^{ns} ± 2,88	180,33* ± 2,78	107,97 ^{ns} ± 6,25
DSR6	120,04 ^{ns} ± 3,65	129,51 ^{ns} ± 3,41	145,69 ^{ns} ± 2,68	163,38 ^{ns} ± 2,86	174,45* ± 3,38	94,95 ^{ns} ± 3,23
DMV2R6	149,92* ± 2,50	154,66* ± 2,66	135,62* ± 1,94	148,99* ± 4,38	180,77* ± 4,97	125,66* ± 3,50
DSV2R6	176,18* ± 2,86	181,35* ± 3,37	129,94* ± 3,08	139,02* ± 6,59	240,29* ± 1,80	81,55* ± 4,07

¹Controle – condição sem déficit hídrico; DMV2 – déficit moderado em V2; DSV2 – déficit severo em V2; DMR6 – déficit moderado em R6; DSR6 – déficit severo em R6; DMV2R6 – déficit moderado em V2 e em R6; DSV2R6 – déficit severo em V2 e em R6

²As médias seguidas de * na coluna, para cada cultivar, são significativas a 5 % de probabilidade pelo teste de Dunnett, em comparação com a condição controle; ns: não significativo

O teor de açúcar solúvel em sementes de soja, ao longo do processo de desenvolvimento foram influenciados pelas condições de déficit hídrico, conforme pode ser observado na Tabela 10. Em condições normais de fornecimento de água, as sementes apresentaram taxa crescente de acúmulo de açúcares solúveis, em ambos cultivares. Além disso, condições de déficit hídrico no estágio vegetativo, não pareceram exercer efeito sobre o teor de açúcar solúvel, uma vez que as médias dessas condições foram semelhantes estatisticamente à condição controle.

Por outro lado, para o cultivar suscetível, em R6, período caracterizado pela plena transferência de assimilados das folhas para as sementes, o déficit hídrico severo imposto em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo (DSV2R6), apresentou a maior média ($115,57 \mu\text{g.mg}^{-1}$), em relação à condição controle ($84,43 \mu\text{g.mg}^{-1}$), um aumento de 36 %; por outro lado, as condições de déficit severo apenas no reprodutivo (DSR6) e déficit moderado em associação no vegetativo e reprodutivo (DMV2R6), apresentaram acúmulo superior em 24 % ($105,08 \mu\text{g.mg}^{-1}$) e 21 % ($102,56 \mu\text{g.mg}^{-1}$), respectivamente. Nos estádios subsequentes não houve diferença estatística entre as condições de déficit hídrico.

Quanto ao cultivar tolerante, as diferenças no teor de açúcar das sementes, foram observadas a partir de R6, quando a condição de déficit severo no reprodutivo (DSR6) e as condições moderada (DMV2R6) e severa (DSV2R6) em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo, foram estatisticamente maiores do que a condição controle ($91,50 \mu\text{g.mg}^{-1}$), um aumento no teor de açúcar de 25 % ($114,14 \mu\text{g.mg}^{-1}$), 26 % ($115,26 \mu\text{g.mg}^{-1}$) e 27 % ($116,58 \mu\text{g.mg}^{-1}$), respectivamente. Por outro lado, em R7 e R8, ambas as condições de déficit imposto no reprodutivo (DMR6 e DSR6) e ambas as condições de déficit impostas em associação no vegetativo e reprodutivo (DMV2R6 e DSV2R6), apresentaram o acúmulo maior de açúcar solúvel em suas sementes, em relação à testemunha.

Tabela 10. Teor de açúcar solúvel em sementes de dois cultivares de soja durante diferentes estádios de crescimento sob diferentes condições de déficit hídrico

Suscetível (BRS Compacta IPRO)				
Condição	Estádio fenológico			
	R5	R6	R7	R8
	µg.mg ⁻¹			
Controle¹	61,82 ± 1,85	84,43 ± 3,24	155,57 ± 9,12	155,26 ± 6,65
DMV2	63,67 ^{ns} ± 3,12	84,02 ^{ns} ± 3,64	150,01 ^{ns} ± 1,05	153,50 ^{ns} ± 2,78
DSV2	61,95 ^{ns} ± 1,64	86,93 ^{ns} ± 4,52	154,94 ^{ns} ± 5,36	158,44 ^{ns} ± 8,94
DMR6	61,34 ^{ns} ± 3,06	93,09 ^{ns} ± 3,96	163,23 ^{ns} ± 7,51	158,30 ^{ns} ± 5,85
DSR6	60,20 ^{ns} ± 5,06	105,08* ² ± 6,54	155,81 ^{ns} ± 4,17	163,60 ^{ns} ± 4,29
DMV2R6	60,07 ^{ns} ± 3,33	102,56* ± 1,12	179,88 ^{ns} ± 7,50	160,14 ^{ns} ± 8,16
DSV2R6	63,74 ^{ns} ± 2,45	115,57* ± 1,81	165,33 ^{ns} ± 7,39	167,23 ^{ns} ± 6,34
Tolerante (DM 66i68 IPRO)				
Condição	Estádio fenológico			
	R5	R6	R7	R8
	µg.mg ⁻¹			
Controle	58,18 ± 5,46	91,50 ± 1,73	158,02 ± 3,84	155,38 ± 3,65
DMV2	58,65 ^{ns} ± 2,82	92,99 ^{ns} ± 2,01	163,78 ^{ns} ± 1,96	151,17 ^{ns} ± 7,27
DSV2	57,96 ^{ns} ± 3,35	93,20 ^{ns} ± 2,30	168,62 ^{ns} ± 4,47	153,26 ^{ns} ± 9,41
DMR6	52,14 ^{ns} ± 1,99	95,96 ^{ns} ± 4,36	206,86* ± 3,15	204,40* ± 8,17
DSR6	58,59 ^{ns} ± 7,57	114,14* ± 7,25	205,62* ± 4,74	195,01* ± 2,52
DMV2R6	59,61 ^{ns} ± 1,53	115,26* ± 1,36	230,97* ± 7,40	232,86* ± 3,03
DSV2R6	56,17 ^{ns} ± 1,69	116,58* ± 1,54	245,88* ± 9,60	235,41* ± 8,56

¹Controle – condição sem déficit hídrico; DMV2 – déficit moderado em V2; DSV2 – déficit severo em V2;

DMR6 – déficit moderado em R6; DSR6 – déficit severo em R6; DMV2R6 – déficit moderado em V2 e em R6;

DSV2R6 – déficit severo em V2 e em R6

²As médias seguidas de * na coluna, para cada cultivar, são significativas a 5 % de probabilidade pelo teste de Dunnett, em comparação com a condição controle; ns: não significativo

Diante dos resultados obtidos, fica evidente que as condições de déficit hídrico, proporcionam aumento no teor de açúcares solúveis nas folhas e nas sementes de soja, sendo mais drásticas em condições severas, sobretudo quando aconteceram em dois períodos da escala fenológica. Nas folhas, os maiores percentuais de acúmulo foram observados no déficit do período vegetativo e pouco expressivo durante o estágio reprodutivo, possivelmente em função do intenso crescimento vegetativo no início do ciclo, quando as folhas constituem um forte dreno desses compostos; por outro lado, quando o déficit foi imposto em R6, as folhas, passaram a ser fonte para sementes que estavam sendo formadas, que passaram a receber maiores percentuais desses de açúcares.

A presença de maiores concentrações de açúcar solúvel em folhas pode estar relacionada com um mecanismo de adaptação da planta ao déficit hídrico. Pois conforme observado no presente estudo, o cultivar considerado tolerante ao déficit hídrico apresentou maior concentração de açúcar solúvel em suas folhas, se comparado com o cultivar suscetível. Essa substância desempenha um papel na osmorregulação e na prevenção da desidratação sob estresse hídrico, onde, por meio de uma regulação em seus níveis no interior das células, faz com que os valores do

potencial hídrico sejam reduzidos para manter a pressão de turgescência, a fim de manter as atividades metabólicas normais durante a condição estressante (HOSSAIN *et al.*, 2014). Além disso, esses compostos são utilizados como fonte de energia para as células vegetais sob estresse de seca (BOLOURI-MOGHADDAM *et al.*, 2010).

Estudos anteriores indicaram que o maior acúmulo de açúcares solúveis em folhas de soja, está associado à melhoria da tolerância das plantas ao estresse hídrico (VAN DEN ENDE; VALLURU, 2009). Dong *et al.* (2019), constataram que o estresse hídrico impostos em diferentes períodos, fez com que o teor de açúcar solúvel em folhas de soja aumentasse, como forma de atenuar os danos causados pela seca, por meio da osmorregulação; no entanto, sob condições severas de déficit, mesmo em estádios iniciais, as plantas não puderam se recuperar totalmente do estresse hídrico. Da mesma forma, Du *et al.* (2020), relataram o aumento significativo do teor de açúcar solúvel em folhas de soja sob déficit hídrico, em comparação com plantas não estressadas, especialmente sob déficit severo.

Em relação ao acúmulo de açúcar nas sementes, pode-se constatar que apenas as condições de déficit no período reprodutivo ou déficits impostos em associação (DMV2R6 e DSV2R6), foram capazes de afetar o teor de açúcar acumulado pelas sementes, para ambos os cultivares, sendo mais drástico sob as condições severas. Resultado semelhante ao estudo de Meckel *et al.* (1984), quando sob condições de estresse hídrico severo, sementes de soja apresentaram aumento nos níveis de açúcar solúvel em seus cotilédones; resultado semelhante foi verificado por Nakagawa *et al.* (2018).

4.1.3.2. Teor de proteína total

Os resultados na Tabela 11 indicam que o estresse hídrico no estágio vegetativo proporcionou redução do teor de proteína total nas folhas do cultivar suscetível, sendo que a redução mais drástica se deu nas condições severas. Em condição normal de fornecimento de água, as plantas tiveram acúmulo crescente de proteínas em suas folhas até R2; a partir de R5, o nível de proteína das folhas passou a decrescer, provavelmente em função do processo de translocação para as estruturas reprodutivas que estavam sendo desenvolvidas.

Em V4, os valores de proteína total acumulada nas folhas de soja do cultivar suscetível foram menores em relação à condição controle (54,08 $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$), quando a

condição de déficit moderado no estágio vegetativo (DMV2) apresentou 31 % ($37,43 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$) e a condição severa (DSV2) cerca de 36 % ($34,44 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$) menos proteína acumulada em suas folhas; comportamento semelhante foi observado nos estádios de desenvolvimento subsequentes, até R5.

Ainda em relação ao cultivar suscetível, as condições de déficit hídrico impostas apenas no período reprodutivo não influenciaram o teor de proteínas nas folhas. Por outro lado, quando o déficit hídrico foi imposto em associação, nos estádios vegetativo e reprodutivo, foi observado após o primeiro déficit no estágio vegetativo, menor acúmulo de proteína nas folhas oriundas de plantas das condições moderada (DMV2R6) e severa (DSV2R6), que foram 30 % inferior à condição controle, ou seja, $37,93 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ e $37,90 \mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$, respectivamente; após o segundo déficit, dessa vez no estágio reprodutivo, as folhas não apresentaram diferença no teor de proteína. Por outro lado, para o cultivar tolerante, não houve resultados diferenças significativa entre as diferentes condições impostas.

Tabela 11. Teor de proteína total em folhas de dois cultivares de soja durante diferentes estádios de crescimento sob diferentes condições de déficit hídrico

Suscetível (BRS Compacta IPRO)						
Condição	Estádio fenológico					
	V4	Vn	R2	R5	R6	R7
	µg.mg ⁻¹					
Controle¹	54,08 ± 1,80	57,44 ± 4,56	60,87 ± 3,41	57,26 ± 2,57	37,89 ± 4,25	31,91 ± 5,90
DMV2	37,43 ^{*2} ± 4,30	36,98 [*] ± 0,50	43,91 [*] ± 6,68	42,14 ^{ns} ± 5,83	30,92 ^{ns} ± 7,37	30,17 ^{ns} ± 3,27
DSV2	34,44 [*] ± 2,06	31,97 [*] ± 3,61	39,18 [*] ± 5,47	39,86 [*] ± 6,18	37,52 ^{ns} ± 3,71	27,01 ^{ns} ± 0,61
DMR6	58,36 ^{ns} ± 8,03	60,19 ^{ns} ± 3,90	65,23 ^{ns} ± 4,77	58,05 ^{ns} ± 2,15	39,63 ^{ns} ± 1,20	32,91 ^{ns} ± 5,95
DSR6	56,58 ^{ns} ± 6,38	57,66 ^{ns} ± 4,25	59,18 ^{ns} ± 6,30	55,60 ^{ns} ± 5,72	34,95 ^{ns} ± 8,42	25,71 ^{ns} ± 6,09
DMV2R6	37,93 [*] ± 4,20	38,37 [*] ± 3,57	38,86 [*] ± 2,31	35,89 [*] ± 2,72	38,32 ^{ns} ± 1,96	24,64 ^{ns} ± 1,60
DSV2R6	37,90 [*] ± 1,40	37,32 [*] ± 3,87	31,69 [*] ± 5,59	34,17 [*] ± 6,55	36,19 ^{ns} ± 2,78	23,53 ^{ns} ± 3,07
Tolerante (DM 66i68 IPRO)						
Condição	Estádio fenológico					
	V4	Vn	R2	R5	R6	R7
	µg.mg ⁻¹					
Controle	48,74 ± 8,63	49,88 ± 6,88	53,33 ± 6,90	50,25 ± 9,53	37,62 ± 0,82	30,05 ± 7,98
DMV2	42,66 ^{ns} ± 3,72	38,15 ^{ns} ± 6,11	40,53 ^{ns} ± 3,86	34,42 ^{ns} ± 0,28	36,36 ^{ns} ± 1,75	25,63 ^{ns} ± 2,86
DSV2	44,12 ^{ns} ± 3,34	34,23 ^{ns} ± 3,14	40,05 ^{ns} ± 4,20	42,42 ^{ns} ± 1,54	33,82 ^{ns} ± 6,48	31,47 ^{ns} ± 5,28
DMR6	49,50 ^{ns} ± 1,41	47,71 ^{ns} ± 6,52	47,35 ^{ns} ± 5,47	53,76 ^{ns} ± 4,91	38,80 ^{ns} ± 6,55	24,24 ^{ns} ± 2,36
DSR6	44,36 ^{ns} ± 3,81	51,00 ^{ns} ± 1,14	54,63 ^{ns} ± 3,89	52,00 ^{ns} ± 3,88	41,46 ^{ns} ± 7,22	33,36 ^{ns} ± 5,02
DMV2R6	45,76 ^{ns} ± 2,17	38,59 ^{ns} ± 2,68	42,66 ^{ns} ± 3,72	46,33 ^{ns} ± 8,90	36,32 ^{ns} ± 3,24	23,21 ^{ns} ± 1,29
DSV2R6	42,72 ^{ns} ± 2,13	44,70 ^{ns} ± 9,34	44,16 ^{ns} ± 0,92	38,65 ^{ns} ± 3,17	40,70 ^{ns} ± 4,16	28,83 ^{ns} ± 0,79

¹Controle – condição sem déficit hídrico; DMV2 – déficit moderado em V2; DSV2 – déficit severo em V2; DMR6 – déficit moderado em R6; DSR6 – déficit severo em R6; DMV2R6 – déficit moderado em V2 e em R6; DSV2R6 – déficit severo em V2 e em R6

²As médias seguidas de * na coluna, para cada cultivar, são significativas a 5 % de probabilidade pelo teste de Dunnett, em comparação com a condição controle; ns: não significativo

Na Tabela 12 estão apresentados os dados de acúmulo de proteína nas sementes ao longo de diferentes estádios de desenvolvimentos, em função de diferentes condições de restrição hídrica. Na condição normal de fornecimento de água para os dois cultivares, as sementes tiveram acúmulo crescente no teor de proteínas até R7, a partir de então não há mais ligação entre a semente e a planta-mãe, não havendo mais acréscimo de biomassa.

Em relação ao cultivar suscetível, quando as condições de déficit foram impostas apenas no período vegetativo, não houve diferença no teor de proteína das sementes; no entanto, quando o déficit foi imposto apenas no estágio reprodutivo, somente em R7, a condição severa de déficit (DSR6) apresentou cerca de 23 % (42,16 $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$) a menos de proteínas em suas sementes, do que a condição controle (54,84 $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$).

Ainda para o cultivar suscetível, o déficit hídrico imposto em associação nos estádios vegetativo e reprodutivos afetou a composição proteica das sementes; em R6, a condição severa de déficit (DSV2R6) apresentou cerca de 20 % (32,25 $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$) a menos de proteína em suas sementes, quando comparada ao controle (40,02 $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$); por sua vez, em R7, ambas as condições, moderada e severa (DMV2R6 e DSV2R6), afetaram o percentual de proteínas acumuladas. Em R8, apenas a condição severa de déficit (DSV2R6) apresentou menor teor de proteína em suas sementes, em relação ao controle.

De maneira similar, o cultivar tolerante não teve o nível de proteína de suas sementes alterado quando o déficit se deu no período vegetativo. No entanto, quando déficit foi imposto no período reprodutivo, houve diferença no teor de proteínas das sementes, a partir do estágio R6, onde a condição moderada (DMR6) apresentou uma redução de 19 % (63,88 $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$) em suas sementes, seguida pela condição severa (DSR6) com 40 % (47,24 $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$), em relação ao controle (79,08 $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$); diferença similar foi constatada no estágio R8.

Assim como o aconteceu para o cultivar suscetível, as condições de déficit hídrico impostas em associação nos estádios vegetativos e reprodutivos também afetaram o percentual de proteínas das sementes do cultivar tolerante. Ambas as condições (moderada e severa) apresentaram menor aporte de proteínas nas sementes, a partir do estágio R6 quando a condição moderada (DMV2R6) apresentou uma drástica redução de 66 % (15,79 $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$), enquanto para a condição severa (DSV2R6), a redução foi mais drástica ainda, com 77 % (10,94 $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$) a menos de

proteína em suas sementes se comparadas com o controle (46,78 $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$). Desempenho semelhante foi constatado para essas condições nos estádios R7 e R8.

Tabela 12. Teor de proteína total em sementes de dois cultivares de soja durante diferentes estádios de crescimento sob diferentes condições de déficit hídrico

Suscetível (BRS Compacta IPRO)				
Condição	R5	Estádio fenológico		
		R6	R7	R8
$\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$				
Controle¹	11,06 ± 2,92	40,02 ± 0,56	54,84 ± 3,87	51,79 ± 1,47
DMV2	10,55 ^{ns} ± 4,16	39,36 ^{ns} ± 0,86	53,00 ^{ns} ± 4,12	51,17 ^{ns} ± 2,36
DSV2	10,73 ^{ns} ± 1,09	40,21 ^{ns} ± 1,95	53,55 ^{ns} ± 1,25	53,37 ^{ns} ± 1,19
DMR6	10,44 ^{ns} ± 4,25	37,02 ^{ns} ± 1,40	54,94 ^{ns} ± 4,80	52,00 ^{ns} ± 2,95
DSR6	10,24 ^{ns} ± 1,93	38,48 ^{ns} ± 1,25	42,16 [*] ± 2,95	44,92 ^{ns} ± 4,71
DMV2R6	11,01 ^{ns} ± 2,70	36,34 ^{ns} ± 1,59	42,98 [*] ± 1,40	43,16 ^{ns} ± 3,52
DSV2R6	10,24 ^{ns} ± 3,03	32,25 ^{*2} ± 3,38	37,37 [*] ± 2,98	31,27 [*] ± 2,27
Tolerante (DM 66i68 IPRO)				
Condição	R5	Estádio fenológico		
		R6	R7	R8
$\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$				
Controle	14,89 ± 2,15	46,78 ± 0,96	79,08 ± 4,12	72,19 ± 6,61
DMV2	15,45 ^{ns} ± 4,17	46,68 ^{ns} ± 7,21	79,77 ^{ns} ± 0,33	70,79 ^{ns} ± 1,21
DSV2	14,50 ^{ns} ± 2,36	44,92 ^{ns} ± 0,59	77,59 ^{ns} ± 0,57	70,61 ^{ns} ± 3,45
DMR6	15,28 ^{ns} ± 2,68	38,22 ^{ns} ± 0,60	63,88 [*] ± 4,42	54,21 [*] ± 2,38
DSR6	15,83 ^{ns} ± 1,61	27,56 [*] ± 0,58	47,24 [*] ± 2,88	47,18 [*] ± 2,85
DMV2R6	15,91 ^{ns} ± 1,19	15,79 [*] ± 3,37	47,24 [*] ± 7,37	44,88 [*] ± 1,75
DSV2R6	15,54 ^{ns} ± 0,88	10,94 [*] ± 2,55	35,89 [*] ± 4,73	36,38 [*] ± 1,36

¹Controle – condição sem déficit hídrico; DMV2 – déficit moderado em V2; DSV2 – déficit severo em V2; DMR6 – déficit moderado em R6; DSR6 – déficit severo em R6; DMV2R6 – déficit moderado em V2 e em R6; DSV2R6 – déficit severo em V2 e em R6

²As médias seguidas de * na coluna, para cada cultivar, são significativas a 5 % de probabilidade pelo teste de Dunnett, em comparação com a condição controle; ns: não significativo

A taxa de acúmulo de proteína também foi afetada pelas condições de déficit hídrico ao longo do ciclo de desenvolvimento das plantas; quando o déficit foi imposto apenas no período vegetativo, resultaram em plantas com menor teor de proteína em suas folhas, apenas para o cultivar suscetível; no entanto, quando a ocorrência do déficit se deu no período reprodutivo, os efeitos foram perceptíveis apenas no acúmulo de proteína das sementes de ambos cultivares, sendo potencializado quando as condições de déficit foi imposto em associação nos estádios no vegetativo e reprodutivo.

Além do fator genético, as condições de estresse ambientais são as que mais afetam o teor de proteína em sementes, durante a sua formação, sobretudo o estresse hídrico (RHARRABTI *et al.*, 2001; TEA *et al.*, 2004). A diminuição do teor de proteínas sob condições ambientais desfavoráveis pode ser reposta de um mecanismo de defesa das plantas à essas condições; segundo Angra *et al.* (2010), esse mecanismo

consiste na hidrólise e degradação de proteínas de choque térmico, que são utilizadas como proteção durante o período de seca.

Analisando o efeito do estresse hídrico em folhas de soja, em diferentes estádios fenológicos, Dong *et al.* (2019), constataram que a ocorrência o déficit hídrico no período vegetativo, apesar de diminuir a concentração de proteína nas folhas, proporcionou uma compensação nos estádios subsequentes, mas quando o estresse se deu em R5 resultou em danos, além da recuperação após o período de déficit, sendo mais graves quando o déficit ocorreu no período vegetativo e reprodutivo.

Nakagawa *et al.* (2018), verificaram que o déficit hídrico em plantas de soja, reduziu em mais de 50 % o teor de proteínas nas sementes. Da mesma forma, Rotundo e Westgate (2009), verificaram que as condições de déficit impostas durante todo o ciclo da cultura (V1-R8), ou no período final de desenvolvimentos nas sementes (R5-R8), resulta em sementes com menor teor de proteínas do que condições de déficit nos estádios iniciais de desenvolvimento.

Deve-se destacar que em alguns trabalhos são relatados comportamento contrastantes do acúmulo de proteína em sementes de soja; Kirnak, Dogan e Türkoğlu (2010), constataram que sob déficit hídrico severo, as sementes de soja possuíam menor teor de proteínas em comparação com o tratamento sem estresse hídrico. Ao contrário, um experimento conduzido por Candogan *et al.* (2016), revelou aumento no teor da proteína bruta nas sementes quando o estresse hídrico foi aplicado às plantas.

4.1.3.3. Teor lipídeos

Como apresentado na Tabela 13, para os dois cultivares, nenhuma das condições de estresse hídrico foram capazes de alterar o acúmulo do percentual de lipídeos em folhas de soja, uma vez que nenhuma das condições analisadas diferiam estatisticamente da condição controle. No entanto, independente das condições, observa-se que houve um aumento gradual do teor de lipídeos nas folhas, até atingir um pico no estágio R5, decrescendo nos estádios posteriores, em função da translocação desses compostos das folhas para as sementes que estavam sendo formadas.

Tabela 13. Percentual de lipídeos em folhas de dois cultivares de soja durante diferentes estádios de crescimento sob diferentes condições de déficit hídrico

Suscetível (BRS Compacta IPRO)						
Condição	Estádio fenológico					
	V4	Vn	R2	R5	R6	R7
	g.planta ⁻¹					
Controle¹	34,57 ± 2,83	42,56 ± 6,41	55,80 ± 3,32	61,11 ± 5,36	35,40 ± 2,50	29,54 ± 5,35
DMV2	36,60 ^{ns2} ± 1,13	38,36 ^{ns} ± 4,75	52,17 ^{ns} ± 7,84	61,83 ^{ns} ± 3,36	37,50 ^{ns} ± 4,93	31,20 ^{ns} ± 2,23
DSV2	35,85 ^{ns} ± 4,99	27,49 ^{ns} ± 9,98	53,49 ^{ns} ± 4,65	62,75 ^{ns} ± 5,19	34,18 ^{ns} ± 5,25	32,55 ^{ns} ± 8,72
DMR6	33,94 ^{ns} ± 5,84	44,67 ^{ns} ± 3,06	49,61 ^{ns} ± 4,84	60,67 ^{ns} ± 5,03	33,53 ^{ns} ± 4,56	28,40 ^{ns} ± 5,68
DSR6	33,95 ^{ns} ± 6,50	40,48 ^{ns} ± 5,46	52,74 ^{ns} ± 2,28	62,42 ^{ns} ± 3,78	36,57 ^{ns} ± 3,09	32,02 ^{ns} ± 6,58
DMV2R6	34,06 ^{ns} ± 2,51	34,57 ^{ns} ± 10,69	56,06 ^{ns} ± 3,47	62,96 ^{ns} ± 3,39	34,05 ^{ns} ± 10,93	29,06 ^{ns} ± 5,81
DSV2R6	37,26 ^{ns} ± 2,63	30,56 ^{ns} ± 4,81	57,72 ^{ns} ± 6,14	61,75 ^{ns} ± 2,50	32,33 ^{ns} ± 5,10	30,43 ^{ns} ± 2,42
Tolerante (DM 66i68 IPRO)						
Condição	Estádio fenológico					
	V4	Vn	R2	R5	R6	R7
	g.planta ⁻¹					
Controle	33,99 ± 3,00	44,97 ± 3,99	48,55 ± 2,51	42,51 ± 4,14	33,35 ± 3,50	24,60 ± 4,53
DMV2	35,56 ^{ns} ± 2,22	46,67 ^{ns} ± 1,67	45,45 ^{ns} ± 3,64	41,74 ^{ns} ± 3,99	35,43 ^{ns} ± 1,39	28,77 ^{ns} ± 7,96
DSV2	34,04 ^{ns} ± 2,13	43,18 ^{ns} ± 2,27	42,77 ^{ns} ± 3,93	43,51 ^{ns} ± 6,48	32,98 ^{ns} ± 5,86	28,09 ^{ns} ± 5,81
DMR6	32,74 ^{ns} ± 2,73	44,90 ^{ns} ± 4,08	44,25 ^{ns} ± 7,18	44,20 ^{ns} ± 11,97	32,99 ^{ns} ± 4,27	25,45 ^{ns} ± 5,63
DSR6	33,33 ^{ns} ± 4,25	45,75 ^{ns} ± 6,30	47,62 ^{ns} ± 3,72	43,11 ^{ns} ± 7,39	32,00 ^{ns} ± 6,00	24,22 ^{ns} ± 2,95
DMV2R6	36,43 ^{ns} ± 1,34	41,67 ^{ns} ± 4,41	48,30 ^{ns} ± 7,73	45,58 ^{ns} ± 3,76	33,55 ^{ns} ± 5,86	25,37 ^{ns} ± 10,60
DSV2R6	34,06 ^{ns} ± 7,63	43,75 ^{ns} ± 2,08	52,38 ^{ns} ± 8,58	42,16 ^{ns} ± 6,04	32,05 ^{ns} ± 6,97	24,04 ^{ns} ± 9,53

¹Controle – condição sem déficit hídrico; DMV2 – déficit moderado em V2; DSV2 – déficit severo em V2; DMR6 – déficit moderado em R6; DSR6 – déficit severo em R6; DMV2R6 – déficit moderado em V2 e em R6; DSV2R6 – déficit severo em V2 e em R6

² ns: não significativo

Por outro lado, o acúmulo de lipídeos pelas sementes teve influência das condições de déficit hídrico a partir de R6, conforme os dados apresentados na Tabela 14. Para o cultivar suscetível, o déficit hídrico apenas no período vegetativo ou no reprodutivo, não exerceu efeitos significativos sobre o acúmulo de lipídeos nas sementes; no entanto, quando o déficit foi imposto em associação nos estádios vegetativos e reprodutivos, a condição severa (DSV2R6) apresentou em R6, um aumento de 30 % (51,77 %) no percentual de lipídeos acumulados, em relação ao controle (39,84 %); comportamento semelhante foi observado nos estádios subsequentes.

Por outro lado, vale destacar que em R7 e R8, foram constatados acréscimos, em valores absolutos, nos níveis de lipídeos das sementes para a condição de déficit moderada no reprodutivo (DSR6) e para a condição moderada de déficit moderado em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo (DMV2R6).

Quanto ao cultivar tolerante, o efeito das condições de déficit foi semelhante ao outro cultivar, quando em R6 e R7, somente a condição de déficit severo imposto em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo (DSV2R6), apresentou resposta significativa, em relação ao controle, com percentual de acúmulo de lipídeos superior em 63 % (67,10 %) e 52 % (67,16 %), respectivamente.

Ainda para o cultivar tolerante, em R8, as condições de déficit severo no reprodutivo (DSR6) e as condições moderada (DMV2R6) e severa (DSV2R6) impostas em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo, resultaram em aumento significativo no teor de lipídeos em suas sementes, sendo eles de 32 % (52,19 %), 58 % (62,49 %) e de 60 % (63,38 %), respectivamente, em relação à condição controle (39,58 %), indicando que as condições mais severas de déficit no período reprodutivo foram responsáveis pelo aumento do conteúdo lipídicos nas sementes.

Tabela 14. Percentual de lipídeos em sementes de dois cultivares de soja durante diferentes estádios de crescimento sob diferentes condições de déficit hídrico

Suscetível (BRS Compacta IPRO)				
Condição	Estádio fenológico			
	R5	R6	R7	R8
	%			
Controle¹	5,38 ± 1,13	39,84 ± 7,51	39,34 ± 4,49	38,85 ± 3,70
DMV2	5,54 ^{ns} ± 3,21	39,24 ^{ns} ± 3,43	37,36 ^{ns} ± 3,77	36,72 ^{ns} ± 4,64
DSV2	6,17 ^{ns} ± 3,32	35,83 ^{ns} ± 4,32	36,45 ^{ns} ± 3,86	36,23 ^{ns} ± 5,40
DMR6	5,36 ^{ns} ± 4,87	37,83 ^{ns} ± 5,70	38,62 ^{ns} ± 3,32	36,11 ^{ns} ± 1,94
DSR6	5,98 ^{ns} ± 4,17	38,99 ^{ns} ± 1,55	48,66 ^{ns} ± 6,19	40,24 ^{ns} ± 3,15
DMV2R6	5,76 ^{ns} ± 1,31	38,01 ^{ns} ± 3,13	45,83 ^{ns} ± 2,73	46,40 ^{ns} ± 2,73
DSV2R6	6,02 ^{ns} ± 2,35	51,77 ^{*2} ± 4,73	57,24 [*] ± 9,83	52,85 [*] ± 6,65
Tolerante (DM 66i68 IPRO)				
Condição	Estádio fenológico			
	R5	R6	R7	R8
	%			
Controle	8,68 ± 5,10	41,14 ± 6,00	44,01 ± 3,39	39,58 ± 1,76
DMV2	8,19 ^{ns} ± 2,23	40,14 ^{ns} ± 13,51	45,67 ^{ns} ± 9,44	40,23 ^{ns} ± 5,56
DSV2	8,33 ^{ns} ± 1,51	37,49 ^{ns} ± 8,79	43,86 ^{ns} ± 11,06	34,61 ^{ns} ± 4,63
DMR6	8,11 ^{ns} ± 3,25	42,37 ^{ns} ± 4,49	49,36 ^{ns} ± 6,09	49,37 ^{ns} ± 7,36
DSR6	8,29 ^{ns} ± 3,91	53,00 ^{ns} ± 7,65	52,68 ^{ns} ± 2,42	52,19 [*] ± 4,17
DMV2R6	8,63 ^{ns} ± 5,83	54,32 ^{ns} ± 6,73	62,69 ^{ns} ± 2,28	62,49 [*] ± 2,62
DSV2R6	8,22 ^{ns} ± 2,47	67,10 [*] ± 6,21	67,16 [*] ± 3,75	63,38 [*] ± 5,09

¹Controle – condição sem déficit hídrico; DMV2 – déficit moderado em V2; DSV2 – déficit severo em V2; DMR6 – déficit moderado em R6; DSR6 – déficit severo em R6; DMV2R6 – déficit moderado em V2 e em R6; DSV2R6 – déficit severo em V2 e em R6

²As médias seguidas de * na coluna, para cada cultivar, são significativas a 5 % de probabilidade pelo teste de Dunnett em comparação com a condição controle; ns: não significativo

A partir dos resultados obtidos observa-se que houve aumento no teor de lipídeos em sementes de plantas submetidas ao estresse hídrico no período reprodutivo, sobretudo em condições mais severas. Semelhante aos resultados aqui obtidos, Bellaloui *et al.* (2012), também verificaram que condições severas de déficit hídrico podem aumentar o teor de óleo nas sementes de soja. Em outro estudo, o acúmulo de proteína e do teor de óleo em sementes de soja possuem uma relação inversa (BELLALLOUI *et al.*, 2009), o que também foi constatado em nesta pesquisa.

Apesar de diversos trabalhos relatarem o aumento do teor de lipídeos em sementes ante ao estresse hídrico, outros estudos relatam o comportamento inverso; segundo Dornbos e Mullen (1992), houve aumento na concentração de proteínas e diminuição da concentração de óleo sob estresse severo e isso se daria em função do fato de que o acúmulo de proteína começa antes da deposição de óleo, portanto, um déficit precoce, poderia ter um impacto maior na concentração de proteínas. Rose (1988), concluiu que o estresse início no período de formação de sementes resultou em redução de proteínas e incremento nas porcentagens de óleo. Assim, a variação

dos resultados obtidos entre os estudos podem ser decorrência do período em que foi imposto a condição estresse às plantas, além da sua intensidade.

4.1.4. Componentes de produção

Os dados de componentes de produção estão apresentados na Tabela 15. O déficit hídrico no estágio vegetativo e em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo, reduziu significativamente o número de vagens por planta para o cultivar suscetível; a redução do número de vagens foi menor em 24 % para a condição moderada no vegetativo (DMV2), 31 % para a condição severa no vegetativo (DSV2), 44 % para moderada em associação no vegetativo e reprodutivo (DMV2R6) e de 47 % para severa em associação no vegetativo e reprodutivo (DSV2R6), em relação à condição controle; por outro lado, as condições de déficit impostas apenas no estágio reprodutivo não apresentaram diferenças significativas em relação ao controle. Para o cultivar tolerante não foram observadas diferenças entre as condições de restrições hídrica e o controle.

O déficit hídrico também proporcionou redução no número de sementes por planta do cultivar suscetível. A condição controle, apresentou em média 107 sementes por planta, sem diferir das condições moderada (DMR6) e severa (DSR6) impostas apenas no estágio reprodutivo. As reduções significativas ficaram por conta das condições impostas no estágio vegetativo (DMV2 e DSV2) e impostas em associação no vegetativo e reprodutivo (DMV2R6 e DSV2R6), apresentando percentuais de 28 %, 36 %, 39 % e 54 % a menos de sementes por planta, respectivamente.

O cultivar tolerante por sua vez, apresentou resposta significava somente para a condição severa imposta em associação no vegetativo e reprodutivo (DSV2R6), que proporcionou uma média de produção de 115 sementes, uma redução de 13 %, em relação ao controle com cerca de 132 sementes por planta.

O percentual de abortamento de sementes teve influência para o cultivar suscetível quando os déficits hídricos foram impostos às plantas no período reprodutivo ou em associação (vegetativo + reprodutivo); a condição controle foi a que apresentou menor grau de abortamento de suas sementes, cerca de 7,52 %, não diferindo das condições moderada e severa no estágio vegetativo (DMV2 e DSV2) e na condição moderada no estágio reprodutivo (DMR6); os maiores percentuais de abortamento foram proporcionados pelas condições severa imposta no reprodutivo – DSR6 (11,54 %) e pelas condições moderada – DMV2R6 (21,16 %), e severa em

associação nos estádios vegetativo e reprodutivo – DSV2R6 (49,45 %). Para o cultivar tolerante, apenas a condição severa em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo (DSV2R6), foi que proporcionou diferença significativa, com percentual de abortamento de 8,54 % em relação ao controle, com percentual médio de 7,25 %.

O rendimento de sementes também sofreu variação em função das diferentes condições de restrição de água às plantas de soja, para ambos cultivares. Para o cultivar suscetível, o déficit hídrico imposto apenas no período reprodutivo não afetou o rendimento. Comparado com a condição controle, as condições de déficit apenas no período vegetativo, reduziram o rendimento de sementes em 30 % (1.957 kg.ha⁻¹) na condição moderada (DMV2) e em 41 % (1.632 kg.ha⁻¹) na condição severa (DSV2). Por outro lado, quando déficit ocorreu em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo, o comprometimento do rendimento final foi de 36 % (1.774 kg.ha⁻¹) para a condição moderada (DMV2R6) e de 65 % (980 kg.ha⁻¹) para a condição severa, em relação ao controle (2.811 kg.ha⁻¹).

O cultivar tolerante também teve o rendimento final afetado pelas diferentes condições de déficit; no entanto, diferente do cultivar suscetível, as condições de déficit impostas no estágio vegetativo não comprometeram o rendimento das sementes colhidas, assim como a condição moderada imposta no estágio reprodutivo; por outro lado, a condição severa imposta no reprodutivo (DSR6) e ambas condições impostas em associação nos estádios vegetativos e reprodutivos (DMV2R6 e DSV2R6), apresentaram reduções de 15 % (3.335 kg.ha⁻¹), 16 % (3.285 kg.ha⁻¹) e 28 % (2.835 kg.ha⁻¹), respectivamente, em relação ao rendimento da condição controle (3.949 kg.ha⁻¹).

A massa de mil sementes para o cultivar suscetível foi afetada negativamente pelas imposições dos déficits hídricos às plantas, sendo significativas na condição severa imposta no reprodutivo (DSR6) e em ambas as condições impostas em associação nos estádios vegetativos e reprodutivos (DMV2R6 e DSV2R6), com 130 g, 128 g e 125 g, respectivamente, em contraste a condição controle, que apresentou as sementes mais pesadas, com cerca de 144 g; as demais condições não diferiram do controle.

Para o cultivar tolerante, a condição controle apresentou sementes mais pesadas, cerca de 159 g em mil sementes, com condição semelhante estatisticamente para as condições de déficit hídrico impostos no estágio vegetativo (DMV2 e DSV2) e a condição moderada imposta no estágio reprodutivo (DMR6); por outro lado, a

condição severa de déficit imposto em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo (DSV2R6), foi a que apresentou a menor média, 134 gramas, seguido por pela condição moderada do déficit imposto no mesmo período (DMV2R6), com 147 g e a condição severa apenas no estágio reprodutivo, com 151 g.

Para o cultivar suscetível, a densidade integrada de sementes não teve influência dos tratamentos. Por outro lado, para o cultivar tolerante, a condição controle apresentou maior média em relação as condições de déficit severo em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo e a condição severa de déficit imposto no estágio vegetativo; as demais condições não diferiram da condição controle.

Tabela 15. Componentes de produção de dois cultivares de soja em função de diferentes regimes de restrição hídrica

Suscetível (BRS Compacta IPRO)						
Tratamento	NV ³ ----- por planta -----	NS	ABORT %	REND kg.ha ⁻¹	M1000 g	DENS cinza mm ² pixel ¹
Controle¹	45 ± 2,24	107 ± 3,64	7,52 ± 0,41	2.811 ± 172,41	144 ± 5,81	42,11 ± 1,93
DMV2	34 ^{*2} ± 5,07	77* ± 10,51	7,22 ^{ns} ± 1,27	1.957* ± 275,72	143 ^{ns} ± 3,93	42,34 ^{ns} ± 0,73
DSV2	31* ± 6,22	68* ± 12,83	7,46 ^{ns} ± 1,29	1.632* ± 295,75	143 ^{ns} ± 6,85	41,03 ^{ns} ± 2,19
DMR6	44 ^{ns} ± 5,36	96 ^{ns} ± 12,74	10,06 ^{ns} ± 1,06	2.588 ^{ns} ± 375,49	142 ^{ns} ± 4,95	41,31 ^{ns} ± 1,23
DSR6	38 ^{ns} ± 2,95	91 ^{ns} ± 5,03	11,54* ± 0,78	2.195 ^{ns} ± 107,50	130* ± 3,17	42,32 ^{ns} ± 0,44
DMV2R6	25* ± 4,51	65* ± 15,00	21,16* ± 3,23	1.774* ± 495,15	128* ± 3,85	43,43 ^{ns} ± 0,47
DSV2R6	24* ± 7,19	49* ± 18,37	49,45* ± 4,10	980* ± 361,63	125* ± 2,70	40,41 ^{ns} ± 1,90
Tolerante (DM 66i68 IPRO)						
Tratamento	NV ----- por planta -----	NS	ABORT %	REND kg.ha ⁻¹	M1000 g	DENS cinza mm ² pixel ¹
Controle	57 ± 1,88	132 ± 6,14	7,25 ± 0,60	3.949 ± 236,19	159 ± 4,05	38,77 ± 1,29
DMV2	55 ^{ns} ± 2,11	128 ^{ns} ± 6,02	7,64 ^{ns} ± 0,47	3.732 ^{ns} ± 230,02	157 ^{ns} ± 4,61	37,00 ^{ns} ± 1,19
DSV2	56 ^{ns} ± 7,59	128 ^{ns} ± 6,92	8,00 ^{ns} ± 0,67	3.646 ^{ns} ± 167,22	157 ^{ns} ± 4,80	33,32* ± 0,93
DMR6	56 ^{ns} ± 5,40	126 ^{ns} ± 10,71	8,37 ^{ns} ± 1,23	3.321 ^{ns} ± 434,23	158 ^{ns} ± 4,35	37,62 ^{ns} ± 2,65
DSR6	55 ^{ns} ± 4,85	119 ^{ns} ± 9,18	8,49 ^{ns} ± 0,49	3.335* ± 313,47	151* ± 5,45	35,94 ^{ns} ± 0,92
DMV2R6	57 ^{ns} ± 2,46	124 ^{ns} ± 4,98	8,20 ^{ns} ± 0,62	3.285* ± 169,88	147* ± 10,10	37,30 ^{ns} ± 0,37
DSV2R6	54 ^{ns} ± 4,53	115* ± 9,90	8,54* ± 0,66	2.835* ± 292,09	134* ± 2,58	33,86* ± 1,64

¹Controle – condição sem déficit hídrico; DMV2 – déficit moderado em V2; DSV2 – déficit severo em V2; DMR6 – déficit moderado em R6; DSR6 – déficit severo em R6; DMV2R6 – déficit moderado em V2 e em R6; DSV2R6 – déficit severo em V2 e em R6

²As médias seguidas de * na coluna, para cada cultivar, são significativas a 5 % de probabilidade pelo teste de Dunnett, em comparação com a condição controle; ns: não significativo

³NV: número de vagens; NS: número de sementes; ABORT: percentual de abortamento; REND: rendimento de sementes; M1000: massa de mil sementes; DENS: densidade integrada

A partir dos resultados obtidos em componentes de produção, pode-se constatar um comportamento distinto entre os cultivares. Para o cultivar suscetível, as condições de déficit hídrico em diferentes períodos afetaram, de maneira mais drástica, a produção de sementes. Sabe-se que o rendimento final de uma cultura se dá em função do número de plantas, produção de matéria seca, número e tamanho das sementes produzidas (JUMRANI; BHATIA, 2018).

As condições ambientais que influenciam o crescimento das plantas geralmente influenciam o número de nós, que futuramente sustentarão as vagens, que formarão as sementes. Analisando o conjunto geral de dados, mesmo o déficit imposto apenas em estádios iniciais, resultou em menor rendimento das plantas e se constatou que o crescimento e desenvolvimento dessas plantas foi comprometido. Desclaux e Roumet (1996), verificaram que o estresse hídrico, ainda que no período vegetativo, foi capaz de resultar em plantas menos desenvolvidas, com menor número de nós produzidos e, conseqüentemente, o rendimento final dessas plantas foi afetado.

Por outro lado, quando a condição de déficit hídrico foi imposta somente no período reprodutivo, observa-se que o rendimento não foi expressivamente afetado, indicando que, embora essas plantas possam ter sido afetadas pelo déficit hídrico, ter tido bom desenvolvimento inicial, permitiu uma maior possibilidade da produção dessas plantas e mesmo que tenha havido um aumento no percentual de abortamento das sementes, o desempenho reprodutivo foi satisfatório.

Segundo Wijewardana *et al.* (2018), plantas de soja bem ramificadas e desenvolvidas tem um elevado potencial de rendimento, mesmo em ambientes estressantes, pois sustentam maior percentual de vagens e de sementes, do que plantas que tiveram um menor desenvolvimento vegetativo. No entanto, é possível constatar redução na massa das sementes produzidas nessas condições, especialmente sob déficit severo, indicando a perda no rendimento dessas plantas.

A redução da massa de sementes devido ao déficit hídrico durante a fase reprodutiva também foi relatada em outros trabalhos (DEMIRTAS *et al.*, 2010; SAMARAH *et al.*, 2006). Segundo Sionit e Kramer (1977), quando as condições de déficit hídrico ocorrem durante o período de formação das vagens, resultam na redução do número de vagens e de sementes; por outro lado, quando o déficit se instala durante a formação das sementes, o rendimento é afetado devido à redução na massa das sementes.

Os resultados obtidos a partir da avaliação dos componentes de produção do cultivar tolerante indicam que o desempenho produtivo não foi significativamente afetado, ao contrário do que aconteceu com o cultivar suscetível. Isso pode ser observado uma vez que as médias de número de vagens e de sementes produzidas se mantiveram semelhantes às médias observadas sob condições normais de fornecimento de água. No entanto, em situações de déficit hídrico severo durante o estágio reprodutivo e em condições moderadas e severas de déficit em ambos os estádios (vegetativo e reprodutivo), foi identificada uma redução no rendimento. Paralelamente, também foi observada uma diminuição na massa das sementes, o que poderia explicar essa diminuição no potencial produtivo desse cultivar sob essas condições. Vale ressaltar que, mesmo em cenários de deficiência hídrica mais acentuada, a perda de rendimento no cultivar tolerante foi consideravelmente menor em comparação com o cultivar suscetível.

O tamanho e massa das sementes vai depender principalmente da disponibilidade de translocação de fotoassimilatos das folhas para as sementes (JUMRANI; BHATIA, 2018). Isso porque, sob condições de estresse hídrico, as plantas de soja reduzem a fotossíntese e o suprimento de nitrogênio nas folhas, aceleram o seu processo de senescência, reduzindo o preenchimento de sementes e, finalmente, resultam em severa perda de rendimento (FREDERICK *et al.*, 1991).

No entanto, vale destacar que, mesmo sob condições mais drásticas, a perda no rendimento do cultivar tolerante foi expressivamente menor que no cultivar suscetível. O déficit hídrico é um estresse ambiental grave, que resulta na perda de produtividade das plantas. A resposta a essas condições vai depender do genótipo, da intensidade, da duração do estresse e do estágio em que ele ocorre (SHARMA; SINGHAL, 1993).

Por fim, é importante salientar que quando as condições de déficit se deram em associação (estádios vegetativo e reprodutivo), o desempenho das plantas foi sempre menor, independentemente do cultivar analisado, indicando que a ocorrência de déficit por longos períodos e em diferentes épocas, resultou em danos irreversíveis a essas plantas, comprometendo drasticamente o seu potencial produtivo.

4.1.5. Análise da qualidade fisiológica de sementes

A imposição do estresse hídrico também resultou em declínio significativo na qualidade das sementes em comparação com as sementes de plantas não estressadas, os dados referentes a essas análises estão apresentados na Tabela 16.

Em sementes de plantas da condição controle, o percentual médio de germinação foi de 96 % e 98 % para o cultivar suscetível e tolerante, respectivamente; como se pode observar, as condições moderada e severa que foram impostas no estágio vegetativo (DMV2 e DSV2) e na condição moderada imposta no estágio reprodutivo (DMR6), não afetaram significativamente o percentual de germinação.

Por outro lado, a condição severa imposta no reprodutivo (DSR6), seguida pelas condições de déficit impostas em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo (DMV2R6 e DSV2R6), resultaram em sementes com menor capacidade de germinação, que decresceram, respectivamente para 86 %, 88 % e 74 %, no cultivar suscetível e em 80 %, 75 % e 57 %, para o cultivar tolerante. Os resultados indicam, portanto, que a ocorrência de déficit hídrico severo no período de formação das sementes ou o déficit moderado e severo em ambos os estádios (vegetativo + reprodutivo), tiveram impacto negativo na germinação das sementes.

O vigor das sementes, por meio do teste de primeira contagem de germinação, também foi afetado pelas diferentes condições de restrição hídrica. Para o cultivar suscetível, as condições moderadas impostas apenas no vegetativo (DMV2) ou apenas no reprodutivo (DMR6), não apresentaram diferença significativa das condições controle; por outro lado, as demais condições proporcionaram desempenho inferior. O cultivar tolerante, por sua vez, não teve o vigor de suas sementes afetado quando o déficit hídrico se deu apenas no período vegetativo; para as demais condições, a primeira contagem de germinação foi inferior à condição controle.

O desempenho das sementes também foi afetado no teste de envelhecimento acelerado. Para ambos cultivares, somente as condições de déficit hídrico no período vegetativo, não resultaram em sementes de menor vigor, em relação ao controle.

O percentual de emergência de plântulas, assim como a velocidade de emergência de plântulas, do cultivar suscetível, foi maior para condição controle, sem diferença estatística das condições moderada e severa impostas apenas no estágio vegetativo (DMV2 e DSV2); as demais condições, por sua vez, proporcionaram as menores médias para ambas as variáveis. Por outro lado, as sementes do cultivar

tolerante, somente as condições moderada e severa impostas em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo (DMV2R6 e DSV2R6), foram as que apresentaram desempenho inferior à condição controle, nessas variáveis.

O vigor das sementes também foi aferido pelo teste de tetrazólio; a condição controle proporcionou o maior de vigor (89 %) para o cultivar suscetível e 82 % para o cultivar tolerante, não diferindo apenas da condição de déficit moderado imposto no estádio vegetativo (DMV2), sendo de 86 % para o cultivar suscetível e de 80 % para o cultivar tolerante, sendo que todas as demais condições impostas proporcionaram menor vigor em suas sementes, sendo a condição de déficit severo imposto em associação nos estádios vegetativo e reprodutivos (DSV2R6), aquela em que houve menor percentual para ambos os cultivares, sendo de 44 % para o cultivar suscetível e de 30 % para o cultivar tolerante.

Novamente, as condições impostas em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo (DMV2R6 e DSV2R6) influenciaram negativamente o comprimento das plântulas, obtidas por meio do teste de crescimento de plântulas, uma vez que proporcionaram as menores plântulas para o cultivar suscetível. Para o cultivar tolerante a condição controle, proporcionou a maior média de crescimento de plântula, não diferindo apenas das condições de déficits impostas no estádio vegetativo, enquanto todas as demais condições apresentaram desempenho inferior à condição controle.

Tabela 16. Análise da qualidade fisiológica de sementes de dois cultivares de soja produzidas em diferentes regimes de restrição hídrica

Suscetível (BRS Compacta IPRO)							
Condição	G ³	PCG ----- % -----	EA	EP	IVE (índice)	TZ/vig %	CP cm
Controle¹	96 ± 3,27	66 ± 2,58	68 ± 1,63	88 ± 3,27	3,74 ± 0,14	89 ± 1,15	6,68 ± 0,88
DMV2	94 ^{ns} ± 3,79	65 ^{ns} ± 5,00	65 ^{ns} ± 1,91	85 ^{ns} ± 3,83	3,61 ^{ns} ± 0,18	86 ^{ns} ± 2,31	5,70 ^{ns} ± 0,57
DSV2	95 ^{ns} ± 4,12	61* ± 4,76	65 ^{ns} ± 3,42	85 ^{ns} ± 6,83	3,74 ^{ns} ± 0,30	79* ± 6,63	6,08 ^{ns} ± 0,70
DMR6	91 ^{ns} ± 4,16	65 ^{ns} ± 4,73	57* ± 5,51	72* ± 8,00	3,14* ± 0,31	74* ± 2,31	6,14 ^{ns} ± 0,55
DSR6	86* ² ± 5,00	56* ± 2,31	53* ± 3,42	72* ± 9,80	3,11* ± 0,42	64* ± 2,31	5,38 ^{ns} ± 1,34
DMV2R6	88* ± 4,12	48* ± 5,42	57* ± 5,51	71* ± 3,83	3,11* ± 0,13	62* ± 2,31	4,82* ± 1,18
DSV2R6	74* ± 3,27	46* ± 4,12	39* ± 7,57	62* ± 5,16	2,57* ± 0,19	44* ± 4,62	4,26* ± 0,97
Tolerante (DM 66i68 IPRO)							
Condição	G	PCG ----- % -----	EA	EP	IVE (índice)	TZ/vig %	CP cm
Controle	98 ± 1,91	70 ± 3,42	57 ± 3,42	87 ± 6,83	3,81 ± 0,26	82 ± 2,31	4,96 ± 0,55
DMV2	97 ^{ns} ± 2,58	69 ^{ns} ± 6,19	58 ^{ns} ± 5,51	84 ^{ns} ± 8,64	3,60 ^{ns} ± 0,31	80 ^{ns} ± 2,31	4,72 ^{ns} ± 0,83
DSV2	97 ^{ns} ± 1,15	65 ^{ns} ± 1,15	56 ^{ns} ± 7,00	87 ^{ns} ± 5,03	3,68 ^{ns} ± 0,30	73* ± 1,15	4,50 ^{ns} ± 0,84
DMR6	90 ^{ns} ± 3,00	59* ± 7,19	53* ± 4,12	78 ^{ns} ± 5,16	3,46 ^{ns} ± 0,23	76* ± 2,31	3,76* ± 0,51
DSR6	80* ± 6,61	48* ± 7,72	37* ± 4,43	72 ^{ns} ± 7,30	3,07 ^{ns} ± 0,29	67* ± 1,15	3,08* ± 0,43
DMV2R6	75* ± 7,48	39* ± 6,22	34* ± 5,89	55* ± 20,75	2,41* ± 0,85	54* ± 2,31	3,08* ± 0,49
DSV2R6	57* ± 11,37	24* ± 5,89	11* ± 5,26	42* ± 5,16	1,72* ± 0,24	30* ± 2,31	1,66* ± 0,21

¹Controle – condição sem déficit hídrico; DMV2 – déficit moderado em V2; DSV2 – déficit severo em V2; DMR6 – déficit moderado em R6; DSR6 – déficit severo em R6; DMV2R6 – déficit moderado em V2 e em R6; DSV2R6 – déficit severo em V2 e em R6

²As médias seguidas de * na coluna, para cada cultivar, são significativas a 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett, em comparação com a condição controle; ns: não significativo

³G: germinação; PCG: primeira contagem de germinação; EA: envelhecimento acelerado; EP: emergência de plântulas em areia; IVE: índice de velocidade de emergência de plântulas em areia; TZ/vig: vigor avaliado pelo teste de tetrazólio; CP: comprimento de plântulas

Com os resultados obtidos, ficou evidente que a disponibilidade de água afeta não só o desenvolvimento das plantas e a produção de sementes, mas também a qualidade fisiológica destas. No entanto, sob condição de déficit durante o período vegetativo, efeitos negativos na qualidade fisiológica das sementes, não foram observados em ambos cultivares.

Por outro lado, quando a imposição do déficit hídrico se deu no período reprodutivo ou em ambos os períodos (vegetativo + reprodutivo), tanto a germinação como o vigor das sementes, foram expressivamente afetados, sobretudo na condição mais severa de déficit (DSV2R6). Em outros estudos, também foi relatado que o déficit hídrico foi responsável por reduções acentuadas na taxa de germinação e no vigor de sementes (JUMRANI; BHATIA, 2018; KHODARAHMPOUR, 2011; MABHAUDHI; MODI, 2013). Além disso, foi observado que ambos cultivares de soja, apresentaram redução na massa de sementes. A massa das sementes é uma característica determinante da qualidade das sementes e são fortemente influenciados pelo ambiente durante o período de formação das sementes.

Em condições de seca durante a formação das sementes de soja, há um encurtamento do referido período, que resulta na redução da massa das sementes e na sua maturação forçada (DORNBOS; MULLEN, 1992; EGLI; BRUENING, 2004). Em estudos anteriores foram relatados que a redução da massa das sementes devido a condições de estresse no ambiente em que foram formadas, era o fator determinante para as diferenças na velocidade de germinação e do vigor das sementes (CASTRO; HODAR; GOMEZ, 2006; WIJEWARDANA; REDDY; BELLALLOUI, 2019).

Ficou evidente no presente estudo que as condições de déficit hídrico afetam o crescimento e o desenvolvimento das plantas, o metabolismo bioquímico de folhas e de sementes, além da produção de sementes de alta qualidade. Delimitar os efeitos das condições de seca, permitem a sua real compreensão e possibilita que seus danos sejam mitigados, a fim de evitar que o estresse ocorra nos estádios mais sensíveis para a planta. Isso pode ser alcançado, por exemplo, pelo ajuste na data da semeadura, a análise do histórico climático da região ou utilizando cultivares de maturação precoce. No entanto, como as condições de déficit hídrico são imprevisíveis e que são crescentes os impactos das mudanças climáticas, a melhor solução seria desenvolver cultivares tolerantes que apresentem alto rendimento e alta qualidade em diferentes ambientes. No entanto, em condições de campo, as plantas geralmente são expostas a longos períodos de estresse ou a condições simultâneas

de estresse. Compreender o real efeito e a interação desses fatores na qualidade das sementes das culturas são de grande importância para entender melhor o impacto das mudanças climáticas a longo prazo.

4.2. Experimento II

4.2.1. Análise exploratório dos dados

4.2.1.1. Avaliação dos espectros médios

Após o pré-processamento das imagens hiperespectrais, foram obtidos os espectros NIR de todas as imagens hiperespectrais, correspondentes a cada estágio fenológico em que foram capturadas, com o intuito de avaliar possíveis distinções no comportamento espectral entre os cultivares.

Posteriormente, apenas os conjuntos de dados que apresentaram indícios de variação espectral entre os cultivares foram selecionadas para a próxima etapa, cujos gráficos estão apresentados a seguir e são discutidos neste tópico. Os conjuntos de dados que não apresentaram variação entre os cultivares foram incluídas no Apêndice A para referência. No entanto, foram apresentados neste tópico, as assinaturas espectrais das amostras obtidas para folhas e sementes da condição controle, a fim de traçar um panorama sobre os dados obtidos pela análise hiperespectral.

A Figura 11 apresenta o espectro médio das folhas dos cultivares em diferentes estágios fenológicos analisados. É evidente que ambos os cultivares exibiram comportamento semelhante ao longo dos estágios fenológicos analisados, sugerindo que, sob condições normais de fornecimento de água, ambos apresentaram padrões de absorvância semelhantes em todo o espectro analisado, indicando que não foi possível realizar uma distinção clara entre esses materiais.

Adicionalmente, pode-se observar alguns picos nos espectros NIR, que ocorrem nas regiões de 950 nm, 1400-1500 nm, 1900-2000 nm e 2480 nm. Esses picos podem estar associados a compostos orgânicos presentes nas folhas, constituindo características específicas do seu espectro de absorção.

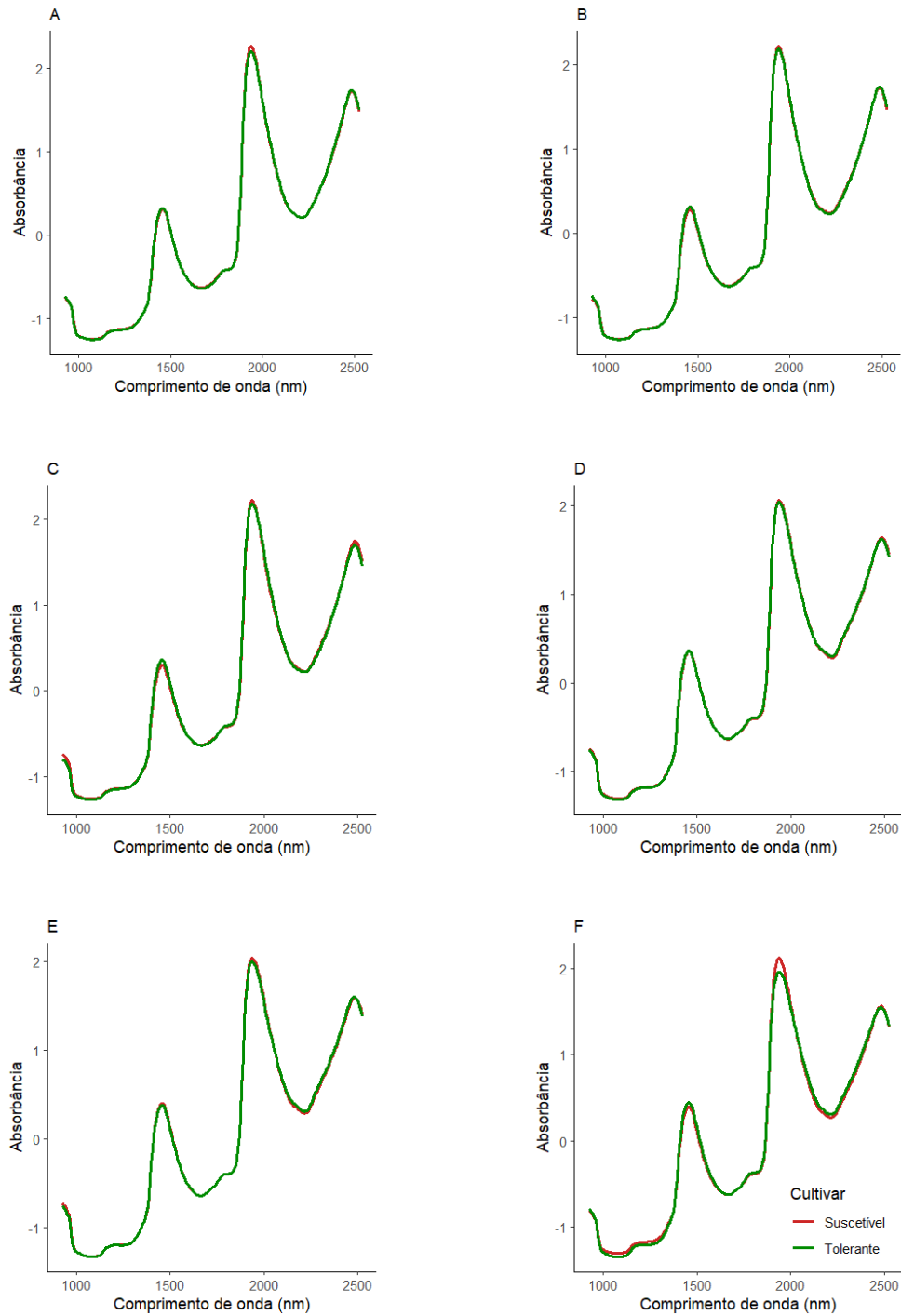


Figura 11. Espectros médios de absorvância para folhas das plantas de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante os estádios de desenvolvimento da cultura sob a condição controle de fornecimento de água
A – estágio V4; B – estágio Vn; C – estágio R2; D – estágio R5; E – estágio R6; F – estágio R7

O mesmo procedimento foi executado com as amostras de sementes. A Figura 12 mostra os espectros médios das sementes nos estádios fenológicos controle dos cultivares. Assim como nas folhas das plantas de soja, as sementes também exibiram comportamento espectral semelhante ao longo dos estádios fenológicos. No entanto, observa-se uma pequena alteração na configuração espectral durante o estágio R8, conforme apresentado na Figura 12D. Essa mudança provavelmente ocorreu devido ao menor teor de água nas sementes durante esse período. Isso resultou em uma detecção de maior concentração de picos ao longo do espectro NIR, particularmente nas regiões de 948 nm, 1100-1230 nm, 1430-1520 nm, 1700-1870 nm, 1920-1950 nm, 2050-2100 nm, 2280 nm, 2340 nm e 2480 nm. Da mesma forma que nas folhas, a maior intensidade nessas faixas de comprimento de onda está associada à composição química das sementes.

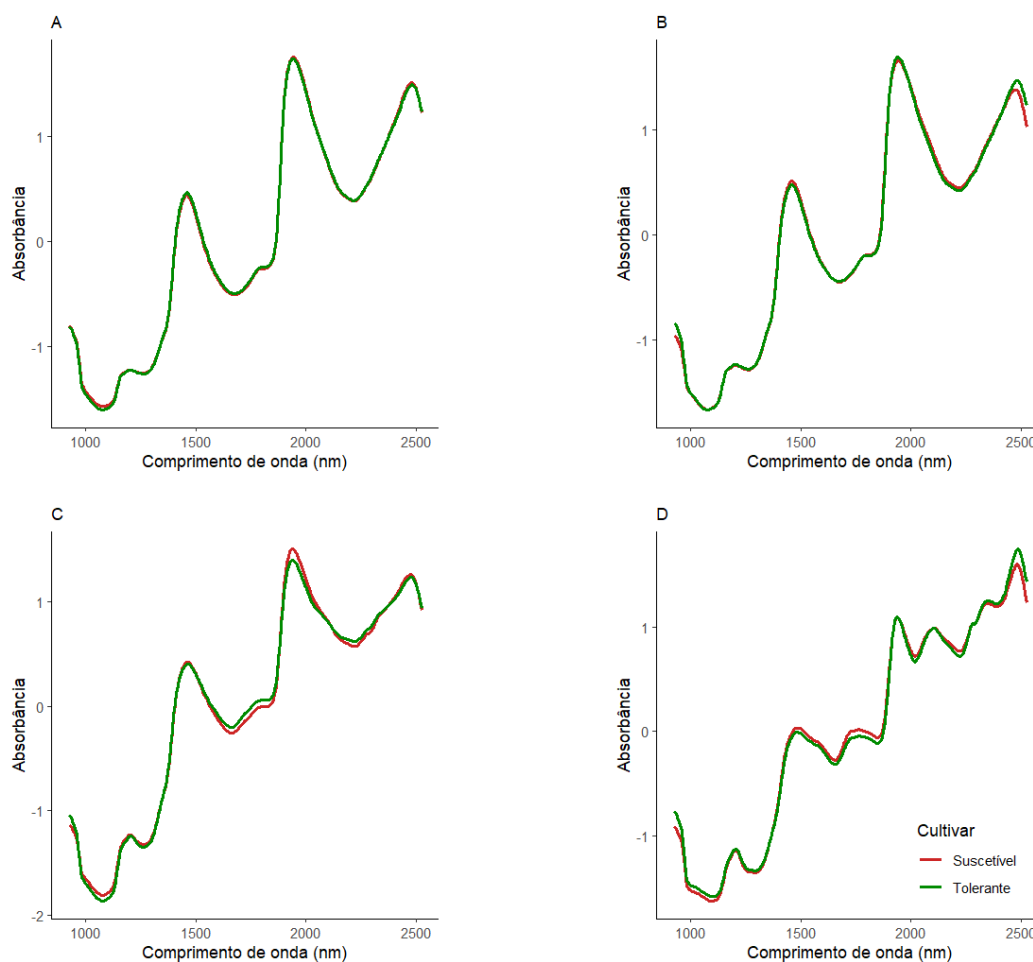


Figura 12. Espectros médios de absorvância para sementes de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante os estádios de desenvolvimento da cultura sob a condição controle de fornecimento de água
A estágio R5; B – estágio R6; C – estágio R7; D – estágio R8.

Os picos de absorvância nos comprimentos de onda de 990 nm e na região espectral 1400-1450 nm estão associados ao teor de água (CHOI *et al.*, 2020; MOSCETTI *et al.*, 2021; NAWROCKA; LAMORSKA, 2013; OSBORNE, 2006). Os picos localizados nas regiões de 1200 nm e 1300-1400 nm, estão relacionados com carboidratos (YIN *et al.*, 2017). Por outro lado, os lipídeos e os ácidos graxos estão associados aos picos a 1100 nm, 1170 nm, 1210 – 1250 nm, 1360 – 1397 nm, 1400 e 1600 nm – 1700 nm (CHOI *et al.*, 2020; LOEWE *et al.*, 2017; NAWROCKA; LAMORSKA, 2013; TEIXEIRA; SOUSA, 2019). As proteínas, por sua vez, foram relacionadas nas regiões de 1208 nm, 1420 nm, 1430 nm, 1450 nm, 1465 nm e 1550 nm (LOEWE *et al.*, 2017; NAWROCKA; LAMORSKA, 2013; YIN *et al.*, 2017). Portanto, foi possível observar que diversos picos nos espectros NIR de folhas e de sementes obtidas no presente trabalho, estão relacionadas a bandas específicas que refletem à presença de diferentes grupos de compostos químicos.

A Figura 13 exibe os espectros médios de folhas provenientes de condições de déficit hídrico, em seus respectivos estádios fenológicos, que apresentaram comportamentos espectrais distintos entre os cultivares em algumas faixas do espectro analisados. Essas condições que resultaram em maior diferenciação entre os genótipos ao longo do espectro NIR foram: déficit hídrico moderado ou severo no estágio vegetativo, bem como déficit hídrico severo em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo.

Especificamente, as imagens obtidas de folhas coletadas no estágio fenológico R2 revelaram maiores divergências entre os genótipos sob as condições de déficit hídrico moderado (Figura 13A) e severo (Figura 13B) apenas no estágio vegetativo. Por outro lado, nas condições de déficit hídrico severo nos estádios vegetativo e reprodutivo, as imagens obtidas das folhas nos estádios R6 e R7 também evidenciaram resposta diferenciada entre os cultivares.

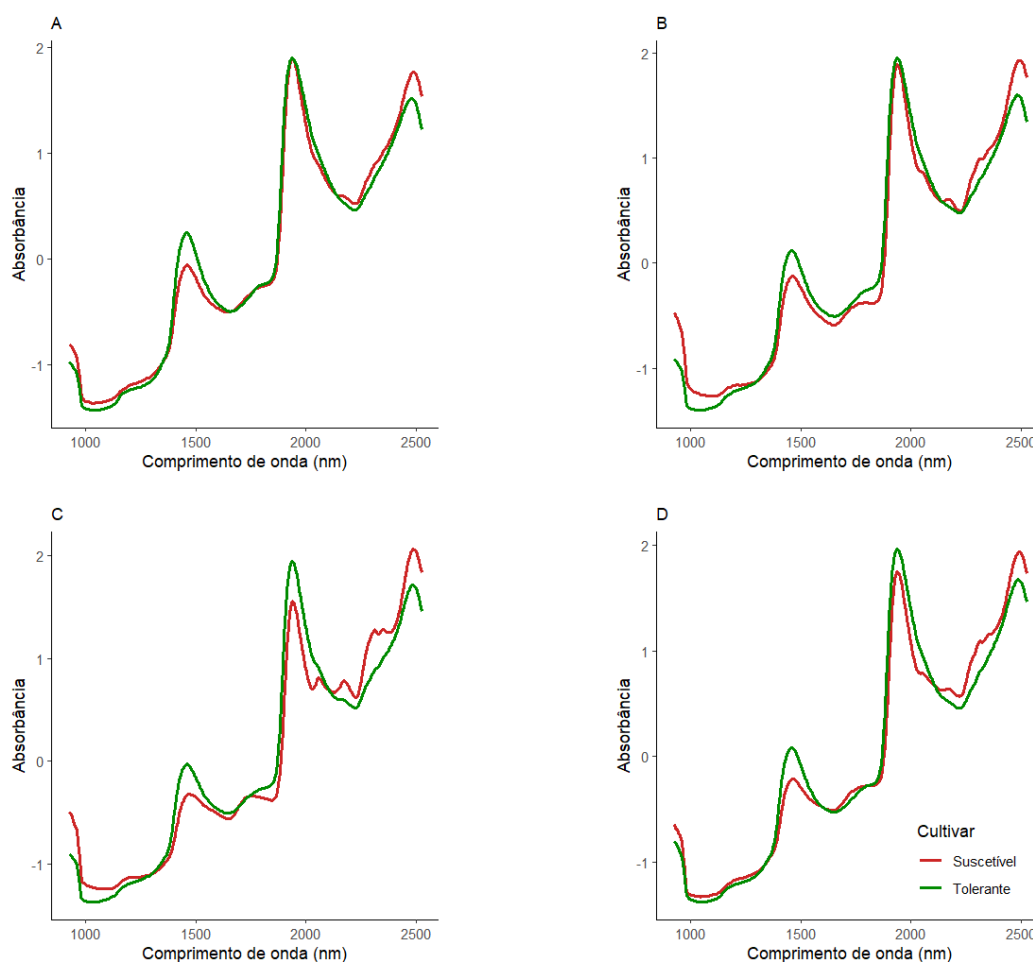


Figura 13. Espectros médios de absorvância para folhas das plantas de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante o estágio R2 para as condições de déficit moderado no vegetativo (A) e déficit severo no vegetativo (B) e durante os estádios R6 (C) e R7 (D) para a condição de déficit severo em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo

Dessa vez, para as imagens hiperespectrais oriunda das sementes, também foram selecionados os conjuntos de dados que mais evidenciaram o comportamento espectral distinto entre os cultivares, como pode ser observado na Figura 14. Os dados hiperespectrais provenientes da condição de déficit hídrico severo no estágio reprodutivo (Figura 14A), bem como da condição de déficit hídrico severo nos estádios vegetativo e reprodutivo, obtidos nos estádios R6 (Figura 14B) e R7 (Figura 14C), revelaram uma resposta diferenciada entre os cultivares.

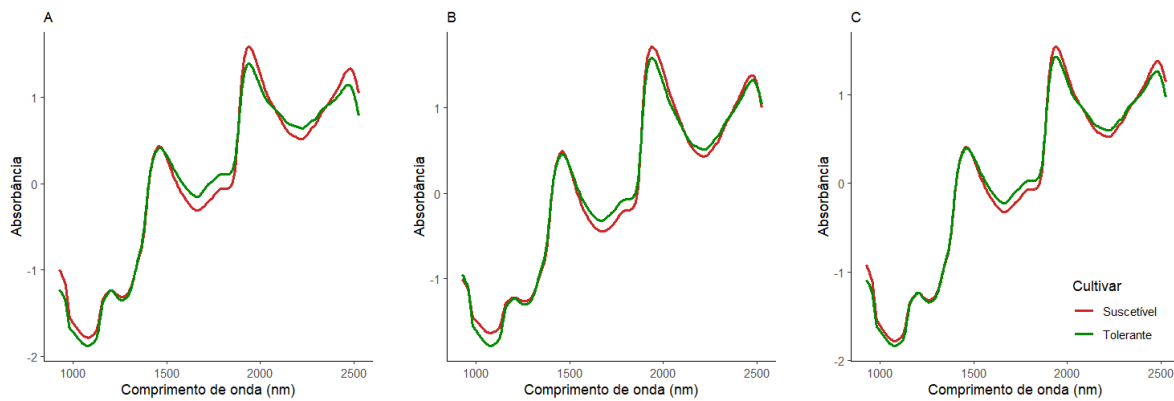


Figura 14. Espectros médios de absorvância para sementes de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante o estágio R6 para a condição de déficit severo no estágio reprodutivo (A) e durante os estádios R6 (B) e R7 (C) para a condição de déficit severo em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo

A partir desses conjuntos de dados selecionados de folhas e de sementes, foram realizadas as análises subsequentes para aprofundar a compreensão das variações espectrais relacionadas aos diferentes estádios fenológicos e condições de fornecimento de água nos cultivares de interesse.

4.2.1.2. Análise de componentes principais

A análise de componentes principais foi utilizada para explorar imagens hiperespectrais das folhas e de sementes de soja que indicavam possuir uma divergência espectral entre os cultivares e que, portanto, poderiam ser destinadas à modelagem estatística. As superfícies de pontuação e as cargas dos dois primeiros componentes (PCs), assim como a variação explicada para cada PC e os coeficientes (*loadings*) dos componentes estão apresentadas na Figura 15.

Para cada um dos conjuntos de dados analisados foram obtidas as superfícies de pontuação em cada um dos componentes principais gerados por meio da aplicação do modelo PCA. As variações nas intensidades das cores presentes nas imagens, sendo o item A para o primeiro componente principal (PC1) e item B para o segundo componente principal (PC2), estão associadas à variabilidade dos *pixels* das imagens hiperespectrais oriundas das folhas do cultivar suscetível (à esquerda) e do cultivar tolerante (à direita) nas imagens, a qual pode ser, em certa medida, atribuída à composição das amostras analisadas.

Os resultados da análise de componentes principais (PCA) para os dois primeiros componentes (PC1 e PC2) são apresentados em diferentes subitens (A e B) na Figura 15. Para o PC1, foi observada uma clara diferença entre as folhas do

cultivar suscetível (à esquerda na imagem) e o cultivar tolerante (à direita na imagem) em todos os conjuntos de dados analisados. O PC1 conseguiu capturar uma porcentagem significativa da variância dos dados em diferentes condições: no estádio R2 sob condições moderadas (Figura 15 I-A), o PC1 capturou cerca de 73 % da variância dos dados; ainda no mesmo estádio, mas sob condição severa (Figura 15 II-A), o PC1 capturou aproximadamente 83 % da variância dos dados; no estádio R6 sob condição de déficit hídrico severo em associação com os estádios vegetativo e reprodutivo (Figura 15 III-A), o PC1 capturou cerca de 82 % da variância dos dados, enquanto no estádio R7, na mesma condição de déficit hídrico (Figura 15 IV-A), o PC1 conseguiu capturar aproximadamente 86 % da variância dos dados. O segundo componente (PC2) não apresentou uma quantidade significativa de variância explicada em nenhum dos conjuntos de dados analisados, ficando sempre abaixo de 10 % de explicação da variância.

Por outro lado, ao examinar os picos de maior destaque no gráfico de cargas para o PC1 (subitem C) nos diferentes conjuntos de dados analisados (Figuras 15 I a IV/C), observa-se que esse componente apresenta picos intensos nas regiões espectrais de 1450 nm, que normalmente estão associadas à presença de água e de proteínas (YIN *et al.*, 2017), e 1900 nm, que também está associada à presença de proteínas (OSBORNE, 2006).

Ao confrontarmos esses picos com os valores das análises bioquímicas realizadas e discutidas anteriormente no item 4.1.3., podemos constatar que, de fato, houve uma alteração no teor de proteínas nas folhas das plantas provenientes das condições de déficit hídrico, que foram submetidas à análise de PCA. Essa associação entre os picos de destaque no PC1 e a alteração nos teores de proteínas reforça a relevância do componente na diferenciação entre os cultivares. Portanto, a análise de PCA capturou efetivamente informações espectrais relacionadas às mudanças bioquímicas nas folhas das plantas de soja, permitindo uma compreensão mais profunda das respostas das plantas ao estresse hídrico.

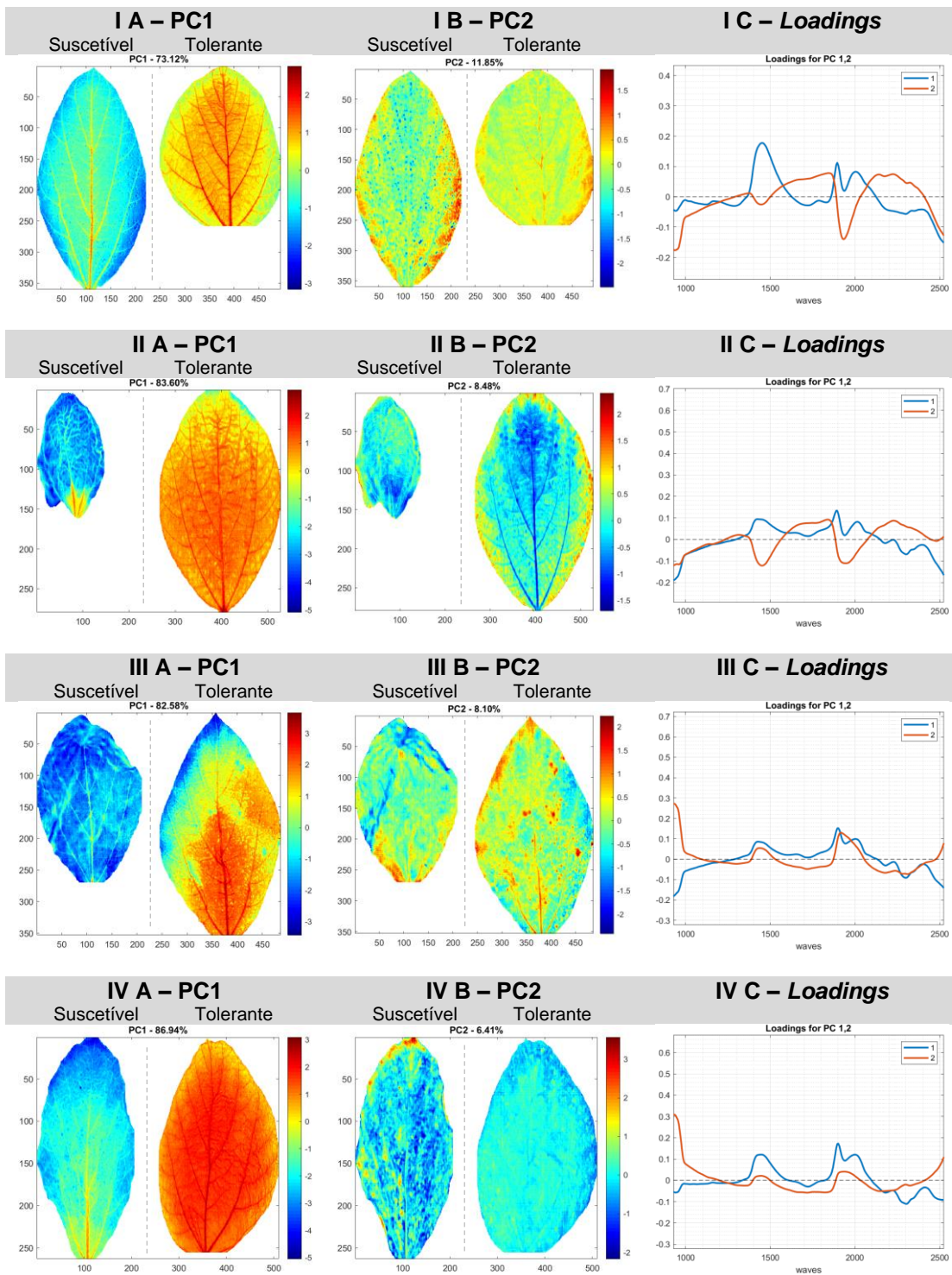


Figura 15. Modelo PCA para dados obtidos de folhas das plantas de soja dos cultivares suscetível e tolerante coletados em diferentes épocas e condições de déficit hídrico, sendo: **I** – conjunto de dados obtidos no estágio R2, oriundo da condição de déficit hídrico moderado no estágio vegetativo; **II** – conjunto de dados obtidos no estágio R2, oriundo da condição de déficit hídrico severo no estágio vegetativo; **III** – conjunto de dados obtidos no estágio R6 oriundo da condição de déficit hídrico em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo; **IV** – conjunto de dados obtidos no estágio R7 oriundo da condição de déficit hídrico em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo. Para cada conjunto de dados, foram obtidas as variâncias de correspondentes a cada componente principal, assim como as superfícies de pontuações dos *pixels* e os coeficientes de cada componente, onde: “**A**” apresenta a imagem da variância e pontuações obtidas para o primeiro componente (PC1), “**B**”, representa a variância e pontuações obtidas para o segundo componente (PC2) e “**C**” o gráfico de coeficientes (*loadings*) para os dois primeiros componentes

O conjunto de dados proveniente das sementes também foi submetido à análise de PCA, conforme demonstrado na Figura 16. Da mesma forma que nos conjuntos de dados proveniente de folhas de soja, também foram obtidas as superfícies de pontuação para cada um dos conjuntos provenientes de sementes. As variações coloração dos *pixels* das sementes de cada cultivar está relacionada à composição das amostras.

Assim como observado nas folhas, o PC1 capturou a maior proporção da variância dos dados, embora em menor magnitude que nas folhas. Para as sementes coletadas em R6, sob a condição de déficit hídrico severo no estágio reprodutivo, o PC1 capturou aproximadamente 51 % da variância dos dados (Figura 16 I-A), enquanto, para as sementes coletadas em R6, provenientes da condição de déficit hídrico severo em associação com os estádios vegetativo e reprodutivo, o PC1 capturou cerca de 54 % da variância dos dados (Figura 16 II-A). Além disso, para as sementes coletadas em R7, sob a mesma condição de déficit hídrico, o PC1 conseguiu capturar aproximadamente 55 % da variância dos dados (Figura 16 III-A). Por outro lado, o segundo componente (subitem B na figura) não capturou uma parcela significativa da variância nos diferentes conjuntos de dados, permanecendo sempre abaixo de 21%.

Esses resultados indicam que o PC1 foi novamente o componente principal que mais contribuiu para diferenciar as sementes sob diferentes condições de déficit hídrico, demonstrando sua relevância na identificação das variações espectrais relacionadas ao estresse hídrico nesse contexto. Embora a proporção de variância explicada pelo PC1 tenha sido menor nas sementes em comparação com as folhas, ele ainda se mostrou como o componente mais importante para compreender as alterações nas propriedades espectrais das sementes em resposta ao estresse hídrico.

Por outro lado, ao analisar os coeficientes, não foram identificados picos de destaque acentuado no gráfico de cargas para o PC1, como ocorreu nas folhas. Em geral, nos três conjuntos de dados, foi observado um pico a partir de 1400 nm, que permaneceu relativamente estável até 1800 nm, o qual está associado a compostos proteicos (OSBORNE, 2006). A partir desse ponto, houve um pico de intensidade negativa na região de 1940 nm, novamente relacionado à presença de proteínas, e um novo pico de intensidade positiva em torno da região de 2200 nm, o qual está associado à presença de carboidratos e proteínas (FISCHER *et al.*, 2022).

Ao correlacionar essas bandas espectrais em destaque com os teores dos compostos bioquímicos que foram mensurados anteriormente (item 4.1.3.), observa-se que o conjunto de dados proveniente das condições de déficit hídrico em questão apresentou variações significativas entre os cultivares em relação ao teor de proteínas e carboidratos em suas sementes. Esses resultados sugerem que as informações espectrais capturadas pelo PC1 nas sementes estão relacionadas principalmente aos compostos proteicos e a carboidratos, com diferenças notáveis entre os cultivares sob diferentes condições de déficit hídrico.

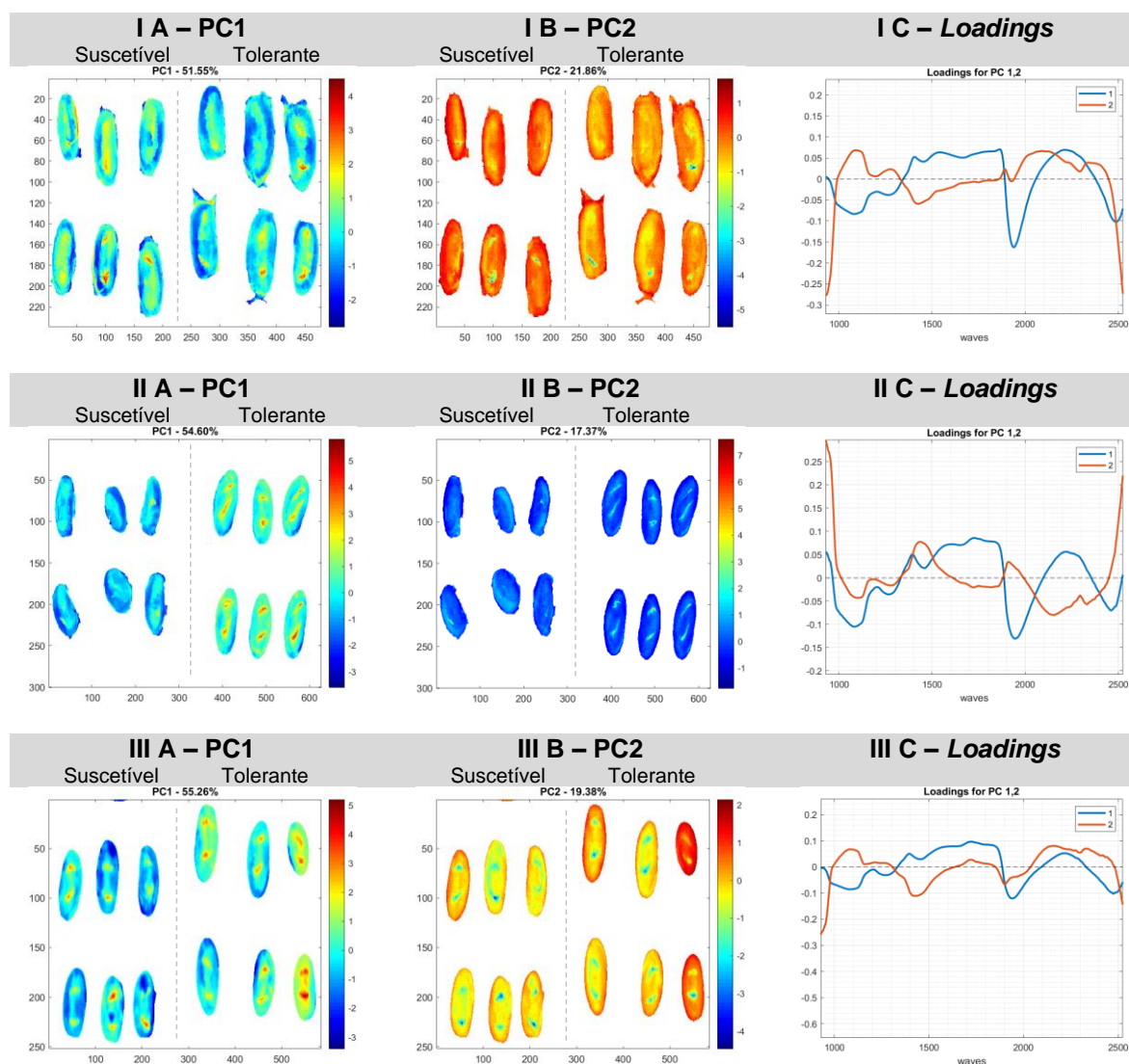


Figura 16. Modelo PCA para dados obtidos de sementes de soja dos cultivares suscetível e tolerante coletados em diferentes épocas e condições de déficit hídrico, sendo: **I** – conjunto de dados obtidos no estágio R6, oriundas da condição de déficit hídrico severo no estágio reprodutivo; **II** – conjunto de dados obtidos no estágio R6 oriundas da condição de déficit hídrico em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo; **III** – conjunto de dados obtidos no estágio R7 oriundas da condição de déficit hídrico em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo. Para cada conjunto de dados, foram obtidas as variâncias de correspondentes a cada componente principal, assim como as superfícies de pontuações dos *pixels* e os coeficientes de cada componente, onde: “**A**” apresenta a imagem da variância obtida para o primeiro componente (PC1), “**B**”, representa a variância e pontuações obtidos para o segundo componente (PC2) e “**C**” o gráfico de coeficientes (*loadings*) para os dois primeiros componentes

4.2.2. Análise supervisionada dos dados

Os resultados da avaliação de desempenho dos modelos SVM e KNN para classificação de cultivares de soja a partir de folhas das plantas de soja coletadas no estágio fenológico R2, oriundas da condição de déficit moderado no estágio vegetativo estão apresentados na Tabela 17. Para o modelo SVM, tanto na fase de calibração quanto na validação, obteve-se acurácia de 98 %, indicando a capacidade de classificar corretamente a grande maioria das amostras. Além disso, tanto a

sensitividade quanto a especificidade atingiram 98 %, ressaltando sua habilidade em identificar tanto a classe "Suscetível" quanto a "Tolerante" com igual aptidão. O coeficiente Kappa, avaliando a concordância entre previsões e observações, apresentou um valor de 97 %, reforçando a consistência das previsões.

O modelo KNN também demonstrou bom desempenho na classificação dos cultivares, com acurácia, sensitividade, especificidade e Kappa de 99 %, 98 %, 99 % e 98 %, respectivamente, tanto na calibração quanto na validação. Esses resultados atestam a robustez e precisão dos modelos SVM e KNN na tarefa de classificação, contribuindo para decisões assertivas em cenários de análise de dados.

Tabela 17. Desempenho dos modelos SVM e KNN para classificação de cultivares de soja usando espectros NIRS de folhas das plantas de soja coletadas no estágio fenológico R2, oriundas da condição de déficit moderado no estágio vegetativo

SVM				
Classes	Calibração		Validação	
	Suscetível	Tolerante	Suscetível	Tolerante
Suscetível	5388	60	2310	24
Tolerante	89	5225	39	2239
Desempenho do modelo	Acurácia	98 %	Acurácia	98 %
	Sensitividade	98 %	Sensitividade	98 %
	Especificidade	98 %	Especificidade	98 %
	Kappa	97 %	Kappa	97 %
KNN				
Classes	Calibração		Validação	
	Suscetível	Tolerante	Suscetível	Tolerante
Suscetível	5421	35	2318	10
Tolerante	56	5250	31	2253
Desempenho do modelo	Acurácia	99 %	Acurácia	99 %
	Sensitividade	98 %	Sensitividade	98 %
	Especificidade	99 %	Especificidade	99 %
	Kappa	98 %	Kappa	98 %

A Tabela 18 traz os resultados da classificação de cultivares a partir do conjunto de dados coletados no estágio fenológico R2, sob a condição de déficit severo no estágio vegetativo. No caso do modelo SVM, tanto na fase de calibração quanto na validação, observou-se uma acurácia de 98 %; a sensitividade, especificidade e o coeficiente Kappa também apresentaram valores consistentemente elevados, todos acima de 97 %. O modelo KNN, por sua vez, apresentou acurácia de 99 % na fase de calibração e 98 % na validação. As métricas de sensitividade, especificidade e Kappa também permaneceram altas, corroborando com a confiabilidade dessas previsões.

Tabela 18. Desempenho dos modelos SVM e KNN para classificação de cultivares de soja usando espectros NIRS de folhas das plantas de soja coletadas no estágio fenológico R2, oriundas da condição de déficit severo no estágio vegetativo

SVM				
Classes	Calibração		Validação	
	Suscetível	Tolerante	Suscetível	Tolerante
Suscetível	4445	26	1891	8
Tolerante	67	4497	34	1939
Desempenho do modelo	Acurácia	98 %	Acurácia	98 %
	Sensitividade	98 %	Sensitividade	98 %
	Especificidade	99 %	Especificidade	99 %
	Kappa	97 %	Kappa	97 %
KNN				
Classes	Calibração		Validação	
	Suscetível	Tolerante	Suscetível	Tolerante
Suscetível	4452	14	1894	8
Tolerante	60	4509	31	1339
Desempenho do modelo	Acurácia	99 %	Acurácia	98 %
	Sensitividade	98 %	Sensitividade	98 %
	Especificidade	99 %	Especificidade	99 %
	Kappa	98 %	Kappa	97 %

Para o conjunto de dados obtidos no estágio fenológico R6, provenientes da condição de déficit severo em associação com os estádios vegetativo e reprodutivo, são apresentados na Tabela 19, os resultados obtidos indicam bom desempenho em ambos os modelos. No caso do SVM, tanto na etapa de calibração quanto na de validação, foi alcançada uma acurácia de 99 %, evidenciando a capacidade de classificação precisa das amostras. A sensibilidade e a especificidade apresentaram valores de 99 % e 98 %, respectivamente, e coeficiente Kappa com 98 %, destacando a robustez das previsões. O modelo KNN também registrou desempenho semelhante, com acurácia, sensibilidade, especificidade e Kappa todos atingindo 99% e 98 %, respectivamente, tanto na fase de calibração quanto na validação.

Tabela 19. Desempenho dos modelos SVM e KNN para classificação de cultivares de soja usando espectros NIRS de folhas das plantas de soja coletadas no estágio fenológico R6, oriundas da condição de déficit severo em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo

SVM				
Classes	Calibração		Validação	
	Suscetível	Tolerante	Suscetível	Tolerante
Suscetível	3170	35	1359	18
Tolerante	14	3016	5	1289
Desempenho do modelo	Acurácia	99 %	Acurácia	99 %
	Sensitividade	99 %	Sensitividade	99 %
	Especificidade	98 %	Especificidade	98 %
	Kappa	98 %	Kappa	98 %
KNN				
Classes	Calibração		Validação	
	Suscetível	Tolerante	Suscetível	Tolerante
Suscetível	3169	34	1357	15
Tolerante	15	3017	7	1292
Desempenho do modelo	Acurácia	99 %	Acurácia	99 %
	Sensitividade	99 %	Sensitividade	99 %
	Especificidade	98 %	Especificidade	98 %
	Kappa	98 %	Kappa	98 %

O conjunto de dados obtidos no estágio fenológico R7, na condição de déficit severo em associação com os estádios vegetativo e reprodutivo, também apresentaram resultados consistentemente satisfatórios na classificação dos cultivares, conforme pode ser observado na Tabela 20. No modelo SVM, tanto na fase de calibração quanto na validação, a acurácia atingiu 99 %, a sensibilidade, especificidade e Kappa também alcançaram valores notáveis de 99 %, 100 % e 99 %, respectivamente. O modelo KNN compartilhou desempenho similar, registrando acurácia, sensibilidade, especificidade e Kappa iguais a 99 % e 100 %, em ambas as fases de calibração e validação.

Tabela 20. Desempenho dos modelos SVM e KNN para classificação de cultivares de soja usando espectros NIRS de folhas das plantas de soja coletadas no estágio fenológico R7, oriundas da condição de déficit severo em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo

SVM				
Classes	Calibração		Validação	
	Suscetível	Tolerante	Suscetível	Tolerante
Suscetível	6959	0	2900	0
Tolerante	1	6893	2	3035
Desempenho do modelo	Acurácia	99 %	Acurácia	99 %
	Sensitividade	99 %	Sensitividade	99 %
	Especificidade	100 %	Especificidade	100 %
	Kappa	99 %	Kappa	99 %
KNN				
Classes	Calibração		Validação	
	Suscetível	Tolerante	Suscetível	Tolerante
Suscetível	6958	0	2900	0
Tolerante	2	6893	2	3035
Desempenho do modelo	Acurácia	99 %	Acurácia	99 %
	Sensitividade	99 %	Sensitividade	99 %
	Especificidade	100 %	Especificidade	100 %
	Kappa	99 %	Kappa	99 %

Assim como para as folhas, o conjunto de dados oriundo de sementes também foram submetidos aos modelos para classificação dos cultivares. A Tabela 21 apresenta os resultados da avaliação de desempenho dos modelos SVM e KNN para a classificação de cultivares de soja usando espectros NIRS de sementes coletadas no estágio fenológico R6, sob a condição de déficit severo no estágio reprodutivo. No caso do modelo SVM, tanto na fase de calibração quanto na validação, os resultados indicam uma acurácia de 75 %. A sensibilidade e especificidade atingiram 77 % e 73 %, respectivamente, enquanto o coeficiente Kappa, registrou um valor de 50 %.

Por sua vez, o modelo KNN, na fase de calibração, apresentou uma acurácia ligeiramente superior, de 78 %; no entanto, na fase de validação, a acurácia caiu para 74 %. Na calibração do modelo, a sensibilidade alcançou 79 %, a especificidade apresentou 77 % e o coeficiente Kappa registrou um valor de 56 %, sugerindo um nível moderado de concordância entre previsões e observações. Na validação, os percentuais de desempenho dos modelos caíram, sendo que a sensibilidade apresentou 74 %, a especificidade 73 % e o coeficiente Kappa 47 %.

Tabela 21. Desempenho dos modelos SVM e KNN para classificação de cultivares de soja usando espectros NIRS de sementes de soja coletadas no estágio fenológico R6, oriundas da condição de déficit severo no estágio reprodutivo

SVM				
Classes	Calibração		Validação	
	Suscetível	Tolerante	Suscetível	Tolerante
Suscetível	3783	1128	1634	483
Tolerante	1101	3130	474	1326
Desempenho do modelo	Acurácia	75 %	Acurácia	75 %
	Sensitividade	77 %	Sensitividade	77 %
	Especificidade	73 %	Especificidade	73 %
	Kappa	50 %	Kappa	50 %

KNN				
Classes	Calibração		Validação	
	Suscetível	Tolerante	Suscetível	Tolerante
Suscetível	3864	944	1569	477
Tolerante	1020	3314	539	1332
Desempenho do modelo	Acurácia	78 %	Acurácia	74 %
	Sensitividade	79 %	Sensitividade	74 %
	Especificidade	77 %	Especificidade	73 %
	Kappa	56 %	Kappa	47 %

Na Tabela 22 estão apresentados os resultados da avaliação de desempenho dos modelos para a classificação de cultivares de soja do conjunto de dados obtidos no estágio fenológico R6, sob a condição de déficit severo nos estádios vegetativo e reprodutivo, a partir dos espectros NIRS de suas sementes. Para o modelo SVM, tanto na fase de calibração quanto na validação, os resultados demonstram uma acurácia de 71 % e 70 %, respectivamente. A sensibilidade foi de 73 % em ambas as fases, a especificidade apresentou 70 % na calibração e 68 % na validação, enquanto o coeficiente Kappa apresentou 43 % e 41 %, respectivamente. No caso do modelo KNN, o desempenho variou entre as fases de calibração e de validação; a acurácia na calibração foi de 76 %, enquanto na validação caiu para 68 %. A sensibilidade registrou 75 % na calibração e 68 % na validação. A especificidade, por sua vez, apresentou valores de 77 % e 69 % nas respectivas fases. O coeficiente Kappa foi de 53 % na calibração e 37 % na validação.

Tabela 22. Desempenho dos modelos SVM e KNN para classificação de cultivares de soja usando espectros NIRS de sementes de soja coletadas no estágio fenológico R6, oriundas da condição de déficit severo nos estádios vegetativo e reprodutivo

SVM				
Classes	Calibração		Validação	
	Suscetível	Tolerante	Suscetível	Tolerante
Suscetível	3467	1406	1493	625
Tolerante	1259	3306	551	1375
Desempenho do modelo	Acurácia	71 %	Acurácia	70 %
	Sensitividade	73 %	Sensitividade	73 %
	Especificidade	70 %	Especificidade	68 %
	Kappa	43 %	Kappa	41 %
KNN				
Classes	Calibração		Validação	
	Suscetível	Tolerante	Suscetível	Tolerante
Suscetível	3570	1056	1407	617
Tolerante	1156	3656	637	1383
Desempenho do modelo	Acurácia	76 %	Acurácia	68 %
	Sensitividade	75 %	Sensitividade	68 %
	Especificidade	77 %	Especificidade	69 %
	Kappa	53 %	Kappa	37 %

A Tabela 23 apresenta os resultados da avaliação de desempenho dos modelos para o conjunto de dados das sementes coletadas no estágio fenológico R7, sob a condição de déficit severo nos estádios vegetativo e reprodutivo. No que diz respeito ao modelo SVM, tanto na fase de calibração quanto na validação, os resultados revelam uma acurácia de 77 %, a sensibilidade foi de 79 % na fase de calibração e aumentou para 80 % na validação. A especificidade registrou 75 % na calibração e 73 % na validação e o coeficiente Kappa atingiu 54 % tanto na fase de calibração quanto na validação.

Para o modelo KNN, a acurácia foi de 79 % na calibração e 75 % na validação. A sensibilidade obteve valores de 82 % e 79 %, respectivamente, nas fases de calibração e validação. A especificidade ficou em 77 % na calibração e caiu para 70 % na validação. O coeficiente Kappa registrou 59 % e 50 % nas respectivas fases de desempenho dos modelos.

Tabela 23. Desempenho dos modelos SVM e KNN para classificação de cultivares de soja usando espectros NIRS de sementes de soja coletadas no estágio fenológico R7, oriundas da condição de déficit severo nos estádios vegetativo e reprodutivo

SVM				
Classes	Calibração		Validação	
	Suscetível	Tolerante	Suscetível	Tolerante
Suscetível	4359	1369	1906	613
Tolerante	1139	4127	467	1725
Desempenho do modelo	Acurácia	77 %	Acurácia	77 %
	Sensitividade	79 %	Sensitividade	80 %
	Especificidade	75 %	Especificidade	73 %
	Kappa	54 %	Kappa	54 %
KNN				
Classes	Calibração		Validação	
	Suscetível	Tolerante	Suscetível	Tolerante
Suscetível	4536	1245	1887	686
Tolerante	962	5251	486	1652
Desempenho do modelo	Acurácia	79 %	Acurácia	75 %
	Sensitividade	82 %	Sensitividade	79 %
	Especificidade	77 %	Especificidade	70 %
	Kappa	59 %	Kappa	50 %

Considerando a avaliação de desempenho dos modelos SVM e KNN para a classificação de cultivares de soja com base em espectros NIRS de folhas e de sementes coletadas em diferentes estádios fenológicos e sob diferentes condições de déficit hídrico, observa-se que para ambos os modelos o desempenho variou em função da natureza da amostra avaliada. Observa-se que modelos baseados em informações foliares, tiveram desempenho consideravelmente superior aos modelos gerados para as sementes, que apontaram certa complexidade em discernir os cultivares.

Para os conjuntos de dados obtidos a partir das folhas, é possível observar que ambos os modelos apresentaram desempenho equiparável; no entanto, para o conjunto de dados obtido no estágio R7, sob a condição de déficit hídrico severo em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo, observa-se que os parâmetros de desempenho dos modelos apresentaram valores ligeiramente superiores, indicando uma tendência de maior capacidade de classificação correta. Porém, é importante ressaltar que, apesar dessa discreta vantagem, ambos os modelos apresentaram uma ótima capacidade de classificar as cultivares de soja em todas as condições avaliadas.

Por outro lado, avaliando-se o desempenho dos modelos construídos com base em conjuntos de dados gerados a partir das características espectrais de sementes, observa-se um desempenho moderado. Apesar de que o modelo KNN tenha demonstrado maior precisão do que o modelo SVM na fase de calibração, é evidente que o desempenho do modelo KNN durante a validação foi comprometido. Por outro

lado, o SVM pareceu manter uma estabilidade em alguns cenários, resultando em previsões consistentes, ao passo que o KNN exibiu maior variação nas previsões dos dados.

Deve-se destacar que houve variações nos resultados de acordo com as condições de déficit hídrico e os estádios fenológicos em que as amostras foram coletadas. A capacidade dos modelos em lidar com diferentes níveis de estresse hídrico e estádios de desenvolvimento pode influenciar seu desempenho, conforme os resultados obtidos neste estudo. No entanto, parece haver um consenso de que sob condições mais severas de déficit hídrico, especialmente em estádios mais avançados de desenvolvimento, como no estágio R7, tanto os modelos baseados em folhas quanto os baseados em sementes demonstraram maior precisão na previsão das cultivares.

Apesar de haver um número restrito de estudos que se dedicaram à classificação dos genótipos de soja com base em suas respostas espectrais ao estresse hídrico, os resultados obtidos no presente estudo podem ser contextualizados em relação a algumas pesquisas incipientes. Alvino (2020), submetendo seis cultivares de soja a diferentes condições de restrição hídrica, onde o perfil espectral dessas plantas foi monitorado semanalmente por meio de um espectrorradiômetro hiperespectral, constatou que as mudanças bioquímicas e fisiológicas, ocasionadas pela condição de estresse, foi capaz de alterar os valores de reflectância de uma amostra e que, portanto, torna possível a análise de imagem hiperespectral, associada a modelos preditivos, a fim de prever os valores característicos de interesse para a fenotipagem de plantas.

Breunig *et al.* (2011) buscando classificar diferentes genótipos de soja a partir de imagens da parte aérea de plantas de soja obtidas por sensores, que compreendiam desde a faixa do visível até o infravermelho médio (508- 2163 nm), concluíram que diferentes modelos quimiométricos podem ser utilizados com sucesso na distinção de genótipos de soja, sendo SVM, um dos quais apresentaram maior acurácia no estudo.

Em uma abordagem semelhante, Crusiol *et al.* (2021) realizaram uma avaliação dos genótipos de soja em condição de campo, submetidos a diferentes níveis de disponibilidade de água e em diferentes estádios de desenvolvimento; por meio da utilização de modelos estatísticos, os resultados revelaram que a precisão das classificações variou entre 50 % e 100 %, demonstrando a capacidade desses

modelos em distinguir as características espectrais dos genótipos sob estresse hídrico.

Crusiol *et al.* (2021) conduziram um estudo em ambiente controlado, com o intuito de classificar os genótipos de soja que exibem respostas diversas à seca após serem submetidos a diferentes regimes de irrigação e déficit hídrico; por meio da combinação das informações espectrais das folhas das plantas de soja e da aplicação da análise discriminante linear (LDA), foi possível discriminar com sucesso esses genótipos, alcançando níveis de precisão entre 84% e 100%.

Apesar da performance mediana nos resultados obtidos nesse estudo pelos conjuntos de dados provenientes de sementes, vários estudos têm corroborado a eficácia da abordagem de imagens hiperespectrais aliada a modelos quimiométricos para discriminar entre diferentes cultivares de soja. Alves *et al.* (2023), por meio de imagens HSI e modelos quimiométricos obtiveram resultado satisfatório na predição do vigor das sementes de soja antes e depois do tratamento com micronutrientes. De maneira similar, Wang *et al.* (2022), concluíram que a aplicação de modelos SVM, KNN e LDA são efetivos na classificação de diferentes cultivares de soja a partir de imagens hiperespectrais. Li *et al.* (2021), empregaram a técnica de espectroscopia em conjunto com modelos de SVM e redes neurais, obtendo êxito na diferenciação entre 10 cultivares de soja.

Deve-se destacar que é fundamental considerar que este é estudo incipiente e teve como objetivo a compreensão dos efeitos do estresse hídrico em diferentes cultivares de soja com níveis variados de tolerância à escassez de água ao longo de todo o ciclo de desenvolvimento das plantas. Além disso, procurou-se identificar quais características de interesse poderiam ser selecionadas para uma eventual fenotipagem de alto desempenho, utilizando imagens hiperespectrais. Para atingir essa meta, foram realizadas amostragens periódicas em várias fases de desenvolvimento das plantas, o que culminou em um extenso conjunto de dados coletados. Entretanto, é importante observar que nem todos os dados obtidos se mostraram aplicáveis às finalidades propostas neste estudo. Os dados finalmente empregados nos modelos preditivos envolveram apenas algumas amostras de folhas e, ou de sementes de somente dois cultivares, fornecendo apenas um indício preliminar da aplicabilidade dessa técnica na criação de modelos para fins específicos.

Diante do exposto, é crucial que pesquisas futuras explorem uma gama mais ampla de cultivares de soja, submetidas a condições reais de escassez de água,

especialmente em ambientes de campo. Isso permitirá o desenvolvimento de modelos mais abrangentes, que possam contribuir de maneira eficaz na seleção de genótipos mais resistentes a situações de estresse hídrico.

5. CONCLUSÕES

A ocorrência de estresse hídrico no período vegetativo afeta o crescimento e o desenvolvimento das plantas de soja, assim como o rendimento de cultivares suscetíveis a condição de estresse.

Os cultivares com certa tolerância ao déficit hídrico, apesar de terem o seu crescimento e desenvolvimento afetados, são capazes de assegurar maior rendimento da produção final.

A ocorrência de déficit hídrico no período reprodutivo afeta mais a composição química e a qualidade fisiológica de sementes do que a produção de sementes.

Independentemente do nível de suscetibilidade ou de tolerância de um cultivar às condições de déficit hídrico, o seu crescimento e a produção, assim como a qualidade fisiológica de sementes, são significativamente afetados quando impostos em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo.

A ocorrência de déficit hídrico, sobretudo nas condições mais severas, é capaz de alterar o perfil espectral de cultivares de soja com diferentes aptidões para tolerância ao estresse hídrico, tornando possível avaliar a sua dissimilaridade fenotípica por meio de sensores hiperespectrais.

Os modelos de predição baseados em dados hiperespectrais foliares na região do infravermelho apresenta a capacidade de identificar cultivares de soja que tenham comportamento distinto quando são submetidas ao estresse hídrico.

REFERÊNCIAS

- ABUD, H. F.; CICERO, S. M.; GOMES-JUNIOR, F. G. Radiographic images and relationship of the internal morphology and physiological potential of broccoli seeds. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 40, p. e34950, 2018.
- AHA, D. W.; KIBLER, D.; ALBERT, M. K. Instance-based learning algorithms. **Machine learning**, v. 6, p. 37–66, 1991.
- ALAMPRESE, C.; AMIGO, J. M.; CASIRAGHI, E.; ENGELSEN, S. B. Identification and quantification of turkey meat adulteration in fresh, frozen-thawed and cooked minced beef by FT-NIR spectroscopy and chemometrics. **Meat Science**, v. 121, p. 175–181, 2016.
- ALVES, R. M.; GOMES-JUNIOR, F. G.; CARMO-FILHO, A. S.; RIBEIRO, G. 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**, v. 13, n. 7, p. 1945, 2023.
- ALVINO, F. C. G. **Análise hiperespectral foliar na identificação de déficit hídrico em cultivares de soja**. 2020. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2020.
- AMIGO, J. M. Practical issues of hyperspectral imaging analysis of solid dosage forms. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 398, p. 93–109, 2010.
- AMIGO, J. M.; BABAMORADI, H.; ELCOROARISTIZABAL, S. Hyperspectral image analysis. A tutorial. **Analytica chimica acta**, v. 896, p. 34–51, 2015.
- AMIGO, J. M.; MARTÍ, I.; GOWEN, A. Hyperspectral imaging and chemometrics: A perfect combination for the analysis of food structure, composition and quality. *In*: MARINI, F. (org.) **Data handling in science and technology**. Roma: Elsevier, 2013. p. 343–370.
- ANGRA, S.; KAUR, S.; SINGH, K.; PATHANIA, D.; KAUR, N.; SHARMA, S.; NAYYAR, H. Water-deficit stress during seed filling in contrasting soybean genotypes:

association of stress sensitivity with profiles of osmolytes and antioxidants. **International Journal of Agricultural Research**, v. 5, n. 6, p. 328–345, 2010.

ARAÚJO-FILHO, J. T.; PAES, R. A.; AMORIM, P. L.; COMASSETTO, F. F.; SILVA, S. C. Características morfológicas e produtivas da maniçoba cultivada sob lâminas hídricas e doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 14, n. 4, p. 609–623, 2013.

ARAUS, J. L.; CAIRNS, J. E. Field high-throughput phenotyping: the new crop breeding frontier. **Trends in plant science**, v. 19, n. 1, p. 52–61, 2014.

ARMSTRONG, P. R.; TALLADA, J. G.; HURBURGH, C.; HILDEBRAND, D. F.; SPECHT, J. E. Development of single-seed near-infrared spectroscopic predictions of corn and soybean constituents using bulk reference values and mean spectra. **Transactions of the ASABE**, v. 54, n. 4, p. 1529–1535, 2011.

BADARÓ, A. T.; GARCIA-MARTIN, J. F.; LÓPEZ-BARRERA, M. C.; BARBIN, D. F.; ALVAREZ-MATEOS, P. Determination of pectin content in orange peels by near infrared hyperspectral imaging. **Food Chemistry**, v. 323, p. 126861, 2020.

BARBIN, D. F.; KAMINISHIKAWAHARA, C. M.; SOARES, A. L.; MIZUBUTI, I. Y.; GRESPAN, M.; SHIMOKOMAKI, M.; HIROOKA, E. Y. Prediction of chicken quality attributes by near infrared spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 168, n. 1, p. 554–560, 2015.

BELLALOUI, N.; MENGISTU, A.; FISHER, D. K.; ABEL, C. A. Soybean seed composition constituents as affected by drought and phomopsis in phomopsis susceptible and resistant genotypes. **Journal of Crop Improvement**, v. 26, n. 3, p. 428–453, 2012.

BELLALOUI, N.; SMITH, J. R.; RAY, J. D.; GILLEN, A. M. Effect of maturity on seed composition in the early soybean production system as measured on near-isogenic soybean lines. **Crop Science**, v. 49, n. 2, p. 608–620, 2009.

BEDDINGTON, J. Food security: contributions from science to a new and greener revolution. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 365, n. 1537, p. 61–71, 2010.

- BERGER, B.; DE REGT, B.; TESTER, M. High-throughput phenotyping of plant shoots. *In*: NORMANLY, J. (org.) **High-throughput phenotyping in plants: Methods and protocols**. New York: Springer, 2012. p. 9–20.
- BEWLEY, J. D.; BRADFORD, K.; HILHORST, H.; NONOGAKI, H. **Seeds: physiology of development, germination and dormancy**. New York: Springer, 2013. 392 p.
- BLANCO, M.; VILLARROYA, I. NIR spectroscopy: a rapid-response analytical tool. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 21, n. 4, p. 240–250, 2002.
- BOARD, J. E.; KAHN, C. S. Soybean yield formation: what controls it and how it can be improved. *In*: EL-SHEMY, A. **Soybean physiology and biochemistry**. Rijeka: IntechOpen, 2011. p. 1–36.
- BOLOURI-MOGHADDAM, M. R.; LE ROY, K.; XIANG, L.; ROLLAND, F.; VAN DEN ENDE, W. Sugar signalling and antioxidant network connections in plant cells. **The FEBS journal**, v. 277, n. 9, p. 2022–2037, 2010.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 1976.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Secretaria de defesa agropecuária. Brasília, 2009. 399 p.
- BRASIL. **Painel Brasileiro de Sementes: SIGEF - Controle da Produção de Sementes e Mudas - Indicadores**. 2023. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Brasília, 2023. Disponível em: < <https://indicadores.agricultura.gov.br/sigefsementes/index.htm> >
- BREURETON, R. G. One-class classifiers. **Journal of Chemometrics**, v. 25, n. 5, p. 225–246, 2011.
- BREUNIG, F. M.; GALVAO, L. S.; FORMAGGIO, A. R.; EPIPHANIO, J. C. N. Classification of soybean varieties using different techniques: Case study with Hyperion and sensor spectral resolution simulations. **Journal of Applied Remote Sensing**, v. 5, n. 1, p. 053533, 2011.

- CANDOGAN, B. N.; YAZGAN, S. Yield and quality response of soybean to full and deficit irrigation at different growth stages under sub-humid climatic conditions. **Journal of Agricultural Sciences**, v. 22, n. 2, p. 129–144, 2016.
- CAPORASO, N.; WHITWORTH, M. B.; FISK, I. D. Protein content prediction in single wheat kernels using hyperspectral imaging. **Food chemistry**, v. 240, p. 32–42, 2018.
- CAPORASO, N.; WHITWORTH, M. B.; GREBBY, S.; FISK, I. D. Rapid prediction of single green coffee bean moisture and lipid content by hyperspectral imaging. **Journal of Food Engineering**, v. 227, p. 18–29, 2018.
- CARVALHO, A.; FACELI, K.; LORENA, A.; GAMA, J. **Inteligência Artificial: Uma Abordagem de Aprendizado de Máquina**. São Paulo: LTC, 2011. 245 p.
- CASTRO, J.; HODAR, J. A.; GOMEZ, J. M. Seed Size. *In*: BASRA, A. S. **Handbook of Seed Science and Technology**. New York: The Haworth Press , 2006. 397-428 p.
- CERRI, R.; DE LEON FERREIRA, A. C. P. Aprendizado de máquina: breve introdução e aplicações. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 34, n. 3, p. 297–313, 2017.
- CHENG, X.; ZHANG, Y.; CHEN, Y.; WU, Y.; YUE, Y. Pest identification via deep residual learning in complex background. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 141, p. 351–356, 2017.
- CHOI, J.Y.; HEO, S.; BAE, S.; KIM, J.; MOON, K.-D. Discriminating the origin of basil seeds (*Ocimum basilicum* L.) using hyperspectral imaging analysis. **LWT**, v. 118, p. 108715, 2020.
- COHEN, J. A coefficient of agreement for nominal scales. **Educational and psychological measurement**, v. 20, n. 1, p. 37–46, 1960.
- COOK, J. P.; MCMULLEN, M. D.; HOLLAND, J. B.; TIAN, F.; BRADBURY, P.; ROSS-IBARRA, J.; BUCKLER, E. S.; FLINT-GARCIA, S. A. Genetic architecture of maize kernel composition in the nested association mapping and inbred association panels. **Plant physiology**, v. 158, n. 2, p. 824–834, 2012.

- CORTES, C.; VAPNIK, V. Support-vector networks. **Machine learning**, v. 20, p. 273–297, 1995.
- COWE, I. A.; MCNICOL, J. W. The use of principal components in the analysis of near-infrared spectra. **Applied spectroscopy**, v. 39, n. 2, p. 257–266, 1985.
- COZZOLINO, D. Authentication of cereals and cereal products. *In*: DOWNEY, G. **Advances in Food Authenticity Testing**. Sawston: Elsevier, 2016. p. 441–457.
- CRUSIOL, L. G. T.; BRAGA, P.; RAFAEL NANNI, M.; FURLANETTO, R. H.; SIBALDELLI, R. N. R.; CEZAR, E.; SUN, L.; FOLONI, J. S. S.; MERTZ-HENNING, L. M.; LIMA NEPOMUCENO, A.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B. Using leaf-based hyperspectral reflectance for genotype classification within a soybean germplasm collection assessed under different levels of water availability. **International Journal of Remote Sensing**, v. 42, n. 21, p. 8165–8184, 2021.
- CRUSIOL, L. G. T.; NANNI, M. R.; FURLANETTO, R. H.; SIBALDELLI, R. N. R.; CEZAR, E.; SUN, L.; FOLONI, J. S. S.; MERTZ-HENNING, L. M.; NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B. Classification of soybean genotypes assessed under different water availability and at different phenological stages using leaf-based hyperspectral reflectance. **Remote Sensing**, v. 13, n. 2, p. 172, 2021.
- DAS, B.; NAIR, B.; REDDY, V. K.; VENKATESH, P. Evaluation of multiple linear, neural network and penalised regression models for prediction of rice yield based on weather parameters for west coast of India. **International journal of biometeorology**, v. 62, n. 10, p. 1809–1822, 2018.
- DE SOUZA, P. I.; EGLI, D. B.; BRUENING, W. P. Water stress during seed filling and leaf senescence in soybean. **Agronomy Journal**, v. 89, n. 5, p. 807–812, 1997.
- DEMIRTAS, C.; YAZGAN, S.; CANDOGAN, B. N.; SINCIK, M.; BÜYÜKCANGAZ, H.; GÖKSOY, A. T. Quality and yield response of soybean (*Glycine max* L. Merrill) to drought stress in sub-humid environment. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 41, p. 6873–6881, 2010.

- DESCLAUX, D.; ROUMET, P. Impact of drought stress on the phenology of two soybean (*Glycine max* L. Merr) cultivars. **Field Crops Research**, v. 46, n. 1–3, p. 61–70, 1996.
- DHONDT, S.; WUYTS, N.; INZÉ, D. Cell to whole-plant phenotyping: the best is yet to come. **Trends in plant science**, v. 18, n. 8, p. 428–439, 2013.
- DONG, S.; JIANG, Y.; DONG, Y.; WANG, L.; WANG, W.; MA, Z.; YAN, C.; MA, C.; LIU, L. A study on soybean responses to drought stress and rehydration. **Saudi journal of biological sciences**, v. 26, n. 8, p. 2006–2017, 2019.
- DORNBOS JR, D. L.; MCDONALD JR, M. B. Mass and composition of developing soybean seeds at five reproductive growth stages. **Crop Science**, v. 26, n. 3, p. 624–630, 1986.
- DORNBOS, D. L.; MULLEN, R. E. Soybean seed protein and oil contents and fatty acid composition adjustments by drought and temperature. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 69, p. 228–231, 1992.
- DU, Y.; ZHAO, Q.; CHEN, L.; YAO, X.; ZHANG, W.; ZHANG, B.; XIE, F. Effect of drought stress on sugar metabolism in leaves and roots of soybean seedlings. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 146, p. 1–12, 2020.
- DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. T.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1956.
- EGLI, D. B.; BRUENING, W. P. Water stress, photosynthesis, seed sucrose levels and seed growth in soybean. **The Journal of Agricultural Science**, v. 142, n. 1, p. 1–8, 2004.
- EL SABAGH, A.; SOROUR, S.; OMAR, A.; ISLAM, M. S.; UEDA, A.; SANEOKA, H.; BARUTÇULAR, C. Soybean (*Glycine max* L.) Growth enhancement under water stress conditions. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON CHEMICAL, AGRICULTURAL AND BIOLOGICAL SCIENCES, 4-5, 2015. Istanbul. **CABS-2015**, 2015. p. 144–148.

- ELMASRY, G.; SUN, D.-W.; ALLEN, P. Chemical-free assessment and mapping of major constituents in beef using hyperspectral imaging. **Journal of food engineering**, v. 117, n. 2, p. 235–246, 2013.
- ELMASRY, G.; SUN, D.-W.; ALLEN, P. Near-infrared hyperspectral imaging for predicting colour, pH and tenderness of fresh beef. **Journal of Food Engineering**, v. 110, n. 1, p. 127–140, 2012.
- FAHLGREN, N.; GEHAN, M. A.; BAXTER, I. Lights, camera, action: high-throughput plant phenotyping is ready for a close-up. **Current opinion in plant biology**, v. 24, p. 93–99, 2015.
- FARIAS, J. R. B.; NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.. **Ecofisiologia da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 9p. (Circular técnica 48).
- FÁVERO, L. P.; BELFIORE, P. **Manual de análise de dados: estatística e modelagem multivariada com Excel®, SPSS® e Stata®**. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2017. 1216 p.
- FEHÉR-JUHÁSZ, E.; MAJER, P.; SASS, L.; LANTOS, C.; CSISZÁR, J.; TURÓCZY, Z.; MIHÁLY, R.; MAI, A.; HORVÁTH, G. V; VASS, I. Phenotyping shows improved physiological traits and seed yield of transgenic wheat plants expressing the alfalfa aldose reductase under permanent drought stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, p. 663–673, 2014.
- FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. Stages of soybean development. **Iowa Agricultural Experimental Station Special Report**, v.80, p.1 - 11, 1977.
- FENG, L.; ZHU, S.; LIU, F.; HE, Y.; BAO, Y.; ZHANG, C. Hyperspectral imaging for seed quality and safety inspection: A review. **Plant methods**, v. 15, n. 1, p. 1–25, 2019.
- FERRARI, E.; PAZ, A.; SILVA, A. C. Déficit hídrico no metabolismo da soja em semeaduras antecipadas no Mato Grosso. **Nativa**, v. 3, p. 67-77, 2015.
- FERREIRA, T.; RASBAND, W. **ImageJ: User Guide**. IJ 1.46r. 2012

- FISCHER, H.; ROMANO, N.; RENUKDAS, N.; KUMAR, V.; SINHA, A. K. Comparing black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae versus prepupae in the diets of largemouth bass, *Micropterus salmoides*: Effects on their growth, biochemical composition, histopathology, and gene expression. **Aquaculture**, v. 546, p. 737323, 2022.
- FRANÇA-NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A.; PÁDUA, G. P.; LORINI, I.; HENNING, F. A. **Tecnologia da produção de semente de soja de alta qualidade**. Londrina: Embrapa Soja. 2016. 82 p. (Documentos 380).
- FRANÇA-NETO, J.B.; KRZYZANOWSKI, F.C. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2022. 111p. (Documentos, 449).
- FRANÇA-NETO, J.B.; PADUA, G.P.; CARVALHO, M.L.M.; COSTA, O.; BRUMATTI, P.S.R.; KRZYZANOWSKI, F.C.; COSTA, N.P.; HENNING, A.A.; SANCHES, D.P. **Semente esverdeada de soja e sua qualidade fisiológica**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. (Circular Técnica, 38).
- FREDERICK, J. R.; WOOLLEY, J. T.; HESKETH, J. D.; PETERS, D. B. Seed yield and agronomic traits of old and modern soybean cultivars under irrigation and soil water-deficit. **Field Crops Research**, v. 27, n. 1–2, p. 71–82, 1991.
- FU, P.; MONTES, C. M.; SIEBERS, M. H.; GOMEZ-CASANOVAS, N.; MCGRATH, J. M.; AINSWORTH, E. A.; BERNACCHI, C. J. Advances in field-based high-throughput photosynthetic phenotyping. **Journal of experimental botany**, v. 73, n. 10, p. 3157–3172, 2022.
- FURBANK, R. T.; TESTER, M. Phenomics–technologies to relieve the phenotyping bottleneck. **Trends in plant science**, v. 16, n. 12, p. 635–644, 2011.
- GARAY, A. F.; WILHELM, W. W. Root System Characteristics of Two Soybean Isolines Undergoing Water Stress Conditions 1. **Agronomy Journal**, v. 75, n. 6, p. 973–977, 1983.
- GAVA, R.; FRIZZONE, J. A.; SNYDER, R. L.; JOSE, J. V.; JUNIOR, E. F. F.; PERBONI, A. O estresse hídrico em diferentes fases da cultura da soja. **Revista Brasileira de Agricultura Irrigada-RBAI**, v. 9, n. 6, p. 349–359, 2015.

- GE, Y.; BAI, G.; STOERGER, V.; SCHNABLE, J. C. Temporal dynamics of maize plant growth, water use, and leaf water content using automated high throughput RGB and hyperspectral imaging. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 127, p. 625–632, 2016.
- GÉRON, A. **Hands-on machine learning with Scikit-Learn, Keras, and TensorFlow**. Sebastopol: O'Reilly Media, 2022. 861 p.
- GHANEM, M. E.; MARROU, H.; SINCLAIR, T. R. Physiological phenotyping of plants for crop improvement. **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 3, p. 139–144, 2015.
- GONÇALVES, A. R. Máquina de vetores suporte. **Universidade Estadual de Campinas**, Campinas, 2010.
- GRANT, O. M.; DAVIES, M. J.; JAMES, C. M.; JOHNSON, A. W.; LEINONEN, I.; SIMPSON, D. W. Thermal imaging and carbon isotope composition indicate variation amongst strawberry (*Fragaria x ananassa*) cultivars in stomatal conductance and water use efficiency. **Environmental and Experimental Botany**, v. 76, p. 7–15, 2012.
- HAIRMANSIS, A.; BERGER, B.; TESTER, M.; ROY, S. J. Image-based phenotyping for non-destructive screening of different salinity tolerance traits in rice. **Rice**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2014.
- HAO, L.; WANG, Y.; ZHANG, J.; XIE, Y.; ZHANG, M.; DUAN, L.; LI, Z. Coronatine enhances drought tolerance via improving antioxidative capacity to maintaining higher photosynthetic performance in soybean. **Plant Science**, v. 210, p. 1–9, 2013.
- HARBINSON, J.; PRINZENBERG, A. E.; KRUIJER, W.; AARTS, M. G. M. High throughput screening with chlorophyll fluorescence imaging and its use in crop improvement. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 23, n. 2, p. 221–226, 2012.
- HE, H. J.; WU, D.; SUN, D. W. Potential of hyperspectral imaging combined with chemometric analysis for assessing and visualising tenderness distribution in raw farmed salmon fillets. **Journal of Food Engineering**, v. 126, p. 156–164, 2014.

- HOLLUNG, K.; ØVERLAND, M.; HRUSTIĆ, M.; SEKULIĆ, P.; MILADINOVIĆ, J.; MARTENS, H.; NARUM, B.; SAHLSTRØM, S.; SØRENSEN, M.; STOREBAKKEN, T.; SKREDE, A. Evaluation of nonstarch polysaccharides and oligosaccharide content of different soybean varieties (*Glycine max*) by near-infrared spectroscopy and proteomics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 23, p. 9112–9121, 2005.
- HOSSAIN, M. M.; LIU, X.; QI, X.; LAM, H. M.; ZHANG, J. Differences between soybean genotypes in physiological response to sequential soil drying and rewetting. **The Crop Journal**, v. 2, n. 6, p. 366–380, 2014.
- HUBER, S.; TAGESSON, T.; FENSHOLT, R. An automated field spectrometer system for studying VIS, NIR and SWIR anisotropy for semi-arid savanna. **Remote Sensing of Environment**, v. 152, p. 547–556, 2014.
- HUMPLÍK, J. F.; LAZÁR, D.; FÜRST, T.; HUSIČKOVÁ, A.; HÝBL, M.; SPÍCHAL, L. Automated integrative high-throughput phenotyping of plant shoots: a case study of the cold-tolerance of pea (*Pisum sativum* L.). **Plant methods**, v. 11, p. 1–11, 2015.
- IQBAL, A.; SUN, D.-W.; ALLEN, P. Prediction of moisture, color and pH in cooked, pre-sliced turkey hams by NIR hyperspectral imaging system. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 1, p. 42–51, 2013.
- JORDAN, M. I.; MITCHELL, T. M. Machine learning: Trends, perspectives, and prospects. **Science**, v. 349, n. 6245, p. 255–260, 2015.
- JUMRANI, K.; BHATIA, V. S. Combined effect of high temperature and water-deficit stress imposed at vegetative and reproductive stages on seed quality in soybean. **Indian Journal of Plant Physiology**, v. 23, n. 2, p. 227–244, 2018.
- KARN, A.; HEIM, C.; FLINT-GARCIA, S.; BILYEU, K.; GILLMAN, J. Development of rigorous fatty acid near-infrared spectroscopy quantitation methods in support of soybean oil improvement. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 94, p. 69–76, 2017.

- KHODARAHMPOUR, Z. Effect of drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) on germination indices in corn (*Zea mays* L.) hybrids. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 79, p. 18222–18227, 2011.
- KIM, J.Y.; MAHÉ, A.; BRANGEON, J.; PRIOUL, J. L. A maize vacuolar invertase, IVR 2, is induced by water stress. Organ/tissue specificity and diurnal modulation of expression. **Plant physiology**, v. 124, n. 1, p. 71–84, 2000.
- KIRNAK, H.; DOGAN, E.; TÜRKOĞLU, H. Effect of drip irrigation intensity on soybean seed yield and quality in the semi arid Harran plain, Turkey. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 4, p. 1208–1217, 2010.
- KIST, B. B.; SANTOS, C. E.; CARVALHO, C.; BELING, R. R. A base da lavoura. **Anuário Brasileiro de Sementes 2019**. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2019. 72 p.
- KJÆR, A.; NIELSEN, G.; STÆRKE, S.; CLAUSEN, M. R.; EDELENBOS, M.; JØRGENSEN, B. Prediction of starch, soluble sugars and amino acids in potatoes (*Solanum tuberosum* L.) using hyperspectral imaging, dielectric and LF-NMR methodologies. **Potato research**, v. 59, p. 357–374, 2016.
- KOVALENKO, I. V.; RIPPKE, G. R.; HURBURGH, C. R. Determination of amino acid composition of soybeans (*Glycine max*) by near-infrared spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 10, p. 3485–3491, 2006.
- KUMAR, V.; RANI, A.; SOLANKI, S.; HUSSAIN, S. M. Influence of growing environment on the biochemical composition and physical characteristics of soybean seed. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 2–3, p. 188–195, 2006.
- KUNERT, K. J.; VORSTER, B. J.; FENTA, B. A.; KIBIDO, T.; DIONISIO, G.; FOYER, C. H. Drought stress responses in soybean roots and nodules. **Frontiers in plant science**, v. 7, p. 1015, 2016.
- LI, X.; HE, Z.; LIU, F.; CHEN, R. Fast identification of soybean seed varieties using laser-induced breakdown spectroscopy combined with convolutional neural network. **Frontiers in plant science**, v. 12, p. 714557, 2021.

- LI, Z.; GUO, R.; LI, M.; CHEN, Y.; LI, G. A review of computer vision technologies for plant phenotyping. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 176, p. 105672, 2020.
- LOBATO, A. K. S.; OLIVEIRA-NETO, C. F.; SANTOS-FILHO, B. G.; COSTA, R. C. L.; CRUZ, F. J. R.; NEVES, H. K. B.; LOPES, M. J. S. Physiological and biochemical behavior in soybean (*Glycine max* cv. Sambaiba) plants under water deficit. **Aust. J. Crop Sci**, v. 2, n. 1, p. 25–32, 2008.
- LOEWE, V.; NAVARRO-CERRILLO, R. M.; GARCÍA-OLMO, J.; RICCIOLI, C.; SÁNCHEZ-CUESTA, R. Discriminant analysis of Mediterranean pine nuts (*Pinus pinea* L.) from Chilean plantations by near infrared spectroscopy (NIRS). **Food Control**, v. 73, p. 634–643, 2017.
- LOPES, N. F.; LIMA, M. G. S. **Fisiologia da produção**. Viçosa: Editora UFV, 2015. 492 p.
- MABHAUDHI, T.; MODI, A. T. Growth, phenological and yield responses of a bambara groundnut (*Vigna subterranea* (L.) Verdc.) landrace to imposed water stress under field conditions. **South African Journal of Plant and Soil**, v. 30, n. 2, p. 69–79, 2013.
- MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v. 2, p. 176–177, 1962.
- MAKBUL, S.; GÜLER, N. S.; DURMUŞ, N.; GÜVEN, S. Changes in anatomical and physiological parameters of soybean under drought stress. **Turkish Journal of Botany**, v. 35, n. 4, p. 369–377, 2011.
- MANGENA, P. Water stress: morphological and anatomical changes in soybean (*Glycine max* L.) plants. In: ANDJELKOVIC, V. (org). **Plant, abiotic stress and responses to climate change**, London: IntechOpen, 2018. p. 9–31,
- MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Londrina: Abrates, 2015. 659 p.

- MARCOS-FILHO, J.; DA SILVA, W. R.; NOVENBRE, A. D. C.; CHAMMA, H. M. C. P. Estudo comparativo de métodos para a avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja, com ênfase ao teste de condutividade elétrica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 25, n. 12, p. 1805–1815, 1990.
- MATSUDA, O.; TANAKA, A.; FUJITA, T.; IBA, K. Hyperspectral imaging techniques for rapid identification of Arabidopsis mutants with altered leaf pigment status. **Plant and Cell Physiology**, v. 53, n. 6, p. 1154–1170, 2012.
- MECKEL, L.; EGLI, D. B.; PHILLIPS, R. E.; RADCLIFFE, D.; LEGGETT, J. E. Effect of moisture stress on seed growth in soybeans. **Agronomy Journal**, v. 76, n. 4, p. 647–650, 1984.
- MOBARAKI, N.; AMIGO, J. M. HYPER-Tools. A graphical user-friendly interface for hyperspectral image analysis. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 172, p. 174–187, 2018.
- MONTES, C. M.; FOX, C.; SANZ-SÁEZ, Á.; SERBIN, S. P.; KUMAGAI, E.; KRAUSE, M. D.; XAVIER, A.; SPECHT, J. E.; BEAVIS, W. D.; BERNACCHI, C. J.; DIERS, B. W.; AINSWORTH, E. A. High-throughput characterization, correlation, and mapping of leaf photosynthetic and functional traits in the soybean (*Glycine max*) nested association mapping population. **Genetics**, v. 221, n. 2, p. iyac065, 2022.
- MOSCETTI, R.; BERHE, D. H.; AGRIMI, M.; HAFF, R. P.; LIANG, P.; FERRI, S.; MONARCA, D.; MASSANTINI, R. Pine nut species recognition using NIR spectroscopy and image analysis. **Journal of Food Engineering**, v. 292, p. 110357, 2021.
- NAKAGAWA, A. C. S.; ITOYAMA, H.; ARIYOSHI, Y.; ARIO, N.; TOMITA, Y.; KONDO, Y.; IWAYA-INOUE, M.; ISHIBASHI, Y. Drought stress during soybean seed filling affects storage compounds through regulation of lipid and protein metabolism. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 40, p. 1–8, 2018.
- NAWROCKA, A.; LAMORSKA, J. Determination of food quality by using spectroscopic methods. *In: Advances in agrophysical research*. Rijeka: IntechOpen, 2013. 408 p.

- NEILSON, E. H.; EDWARDS, A. M.; BLOMSTEDT, C. K.; BERGER, B.; MØLLER, B. L.; GLEADOW, R. M. Utilization of a high-throughput shoot imaging system to examine the dynamic phenotypic responses of a C4 cereal crop plant to nitrogen and water deficiency over time. **Journal of experimental botany**, v. 66, n. 7, p. 1817–1832, 2015.
- NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; NEPOMUCENO, A. L.; MERTZ-HENNING, L. M.; FOLONI, J. S. S.; MORAES, L. A. C.; GONÇALVES, S. L. Ecofisiologia da soja. *In: Tecnologias de produção de soja*. Londrina: Embrapa Soja, 2020. p. 33–54.
- OSBORNE, B.G.E.; FEARN, T. **NIR Spectroscopy in Food Analysis**. New York: John Wiley & Sons, 1986, 200p.
- PÁDUA, G. P.; CARVALHO, M. L. M.; FRANÇA-NETO, J. B.; GUERREIRO, M. C.; GUIMARÃES, R. M. Response of soybean genotypes to the expression of green seed under temperature and water stresses. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, p. 140–149, 2009.
- PÁDUA, G. P.; FRANÇA-NETO, J. B.; CARVALHO, M. L. M.; COSTA, O.; KRZYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P.; HENNING, A. A. Determinação do nível máximo de tolerância de sementes esverdeadas em lotes de sementes de soja. *In: XIV CONGRESSO BRASILEIRO DE SEMENTES*, 2005, Foz do Iguaçu. **Resumos...** Pelotas: Associação Brasileira de Tecnologia de Sementes, Informativo ABRATES, Pelotas, v.15, ago. 2005. p. 56
- PALACIOS, C.; SERRA, D.; TORRES, P. Papel ecológico dos metabólitos secundários frente ao estresse abiótico. **Botânica no Inverno 2013**, n. April 2018, p. 52–59, 2013.
- PANDEY, P.; GE, Y.; STOERGER, V.; SCHNABLE, J. C. High throughput in vivo analysis of plant leaf chemical properties using hyperspectral imaging. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 1348, 2017.
- PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MCMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and earth system sciences**, v. 11, n. 5, p. 1633–1644, 2007.

- PELLESCHI, S.; ROCHER, J.; PRIOUL, J. Effect of water restriction on carbohydrate metabolism and photosynthesis in mature maize leaves. **Plant, Cell & Environment**, v. 20, n. 4, p. 493–503, 1997.
- R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, 2023.
- RADY, A.; ADEDEJI, A. Assessing different processed meats for adulterants using visible-near-infrared spectroscopy. **Meat Science**, v. 136, p. 59–67, 2018.
- RAHAMAN, M. M.; AHSAN, M. A.; CHEN, M. Data-mining techniques for image-based plant phenotypic traits identification and classification. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 19526, 2019.
- RAIJ, B. van. **Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo**. Campinas: IAC, 1996. 285 p.
- RAJENDRAN, K.; TESTER, M.; ROY, S. J. Quantifying the three main components of salinity tolerance in cereals. **Plant, Cell & Environment**, v. 32, n. 3, p. 237–249, 2009.
- RAVAZZI, C. G. **Identificação e quantificação de adulterantes em whey protein concentrado empregando espectroscopia no infravermelho próximo e resolução multivariada de curvas**. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Química Analítica). Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2019.
- RHARRABTI, Y.; VILLEGAS, D.; GARCÍA-DEL-MORAL, L. F.; APARICIO, N.; ELHANI, S.; ROYO, C. Environmental and genetic determination of protein content and grain yield in durum wheat under Mediterranean conditions. **Plant Breeding**, v. 120, n. 5, p. 381–388, 2001.
- RODRIGUES, M.; GOMES-JUNIOR, F. G.; MARCOS-FILHO, J. Vigor-S: system for automated analysis of soybean seed vigor. **Journal of Seed Science**, v. 42, 2020.
- RÖMER, C.; WAHABZADA, M.; BALLVORA, A.; PINTO, F.; ROSSINI, M.; PANIGADA, C.; BEHMANN, J.; LÉON, J.; THURAU, C.; BAUCKHAGE, C. Early

- drought stress detection in cereals: simplex volume maximisation for hyperspectral image analysis. **Functional Plant Biology**, v. 39, n. 11, p. 878–890, 2012.
- ROSE, I. A. Effects of moisture stress on the oil and protein components of soybean seeds. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 39, n. 2, p. 163–170, 1988.
- ROTUNDO, J. L.; WESTGATE, M. E. Meta-analysis of environmental effects on soybean seed composition. **Field Crops Research**, v. 110, n. 2, p. 147–156, 2009.
- ROUSSEAU, C.; BELIN, E.; BOVE, E.; ROUSSEAU, D.; FABRE, F.; BERRUYER, R.; GUILLAUMÈS, J.; MANCEAU, C.; JACQUES, M.-A.; BOUREAU, T. High throughput quantitative phenotyping of plant resistance using chlorophyll fluorescence image analysis. **Plant methods**, v. 9, p. 1–13, 2013.
- SAMARAH, N. H.; MULLEN, R. E.; ANDERSON, I. Soluble sugar contents, germination, and vigor of soybean seeds in response to drought stress. **Journal of New Seeds**, v. 10, n. 2, p. 63–73, 2009.
- SAMARAH, N. H.; MULLEN, R. E.; CIANZIO, S. R.; SCOTT, P. Dehydrin-Like Proteins in Soybean Seeds in Response to Drought Stress during Seed Filling. **Crop Science**, v. 46, n. 5, p. 2141–2150, 2006.
- SANTOS, G. L. A. A.; REIS, A. S.; BESEN, M. R.; FURLANETTO, R. H.; RODRIGUES, M.; CRUSIOL, L. G. T.; OLIVEIRA, K. M.; FALCIONI, R.; OLIVEIRA, R. B.; BATISTA, M. A. Spectral method for macro and micronutrient prediction in soybean leaves using interval partial least squares regression. **European Journal of Agronomy**, v. 143, p. 126717, 2023.
- SHARMA, P. K.; SINGHAL, G. S. Effect of water stress on primary photosynthetic process: interaction with light and temperature. **Indian Journal of Biochemistry & Biophysics**, v. 30, n. 1, p. 10–14, 1993.
- SIONIT, N.; KRAMER, P. J. Effect of water stress during different stages of growth of soybean. **Agronomy journal**, v. 69, n. 2, p. 274–278, 1977.

- SOUSA, C. A. F.; CUNHA, B. A. D. B.; MARTINS, P. K.; CORREA, H. B.; MOLINARI, A. K. K.; JÚNIOR, M. T. S. Nova abordagem para a fenotipagem de plantas: conceitos, ferramentas e perspectivas. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 8, p. 660–672, 2015.
- STEIDLE-NETO, A. J.; LOPES, D. C.; PINTO, F. A. C.; ZOLNIER, S. Vis/NIR spectroscopy and chemometrics for non-destructive estimation of water and chlorophyll status in sunflower leaves. **Biosystems engineering**, v. 155, p. 124–133, 2017.
- SU, W. H.; HE, H. J.; SUN, D. W. Non-destructive and rapid evaluation of staple foods quality by using spectroscopic techniques: a review. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 57, n. 5, p. 1039–1051, 2017.
- SUN, D.; CEN, H.; WENG, H.; WAN, L.; ABDALLA, A.; EL-MANAWY, A. I.; ZHU, Y.; ZHAO, N.; FU, H.; TANG, J. Using hyperspectral analysis as a potential high throughput phenotyping tool in GWAS for protein content of rice quality. **Plant methods**, v. 15, p. 1–16, 2019.
- SUN, S. Meta-analysis of Cohen's kappa. **Health Services and Outcomes Research Methodology**, v. 11, p. 145–163, 2011.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2017. 858 p.
- TAJUDDIN, T.; WATANABE, S.; MASUDA, R.; HARADA, K.; KAWANO, S. Application of near infrared transmittance spectroscopy to the estimation of protein and lipid contents in single seeds of soybean recombinant inbred lines for quantitative trait loci analysis. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, v. 10, n. 4, p. 315–325, 2002.
- TAN, P.-N.; STEINBACH, M.; KUMAR, V. **Introduction to data mining**. [s.l.] Pearson Education India, 2016. 169 p.
- TEA, I.; GENTER, T.; NAULET, N.; BOYER, V.; LUMMERZHEIM, M.; KLEIBER, D. Effect of foliar sulfur and nitrogen fertilization on wheat storage protein composition and dough mixing properties. **Cereal Chemistry**, v. 81, n. 6, p. 759–766, 2004.

- TEIXEIRA, A. M.; SOUSA, C. A review on the application of vibrational spectroscopy to the chemistry of nuts. **Food Chemistry**, v. 277, p. 713–724, 2019.
- TEIXEIRA, P. C.; DONAGEMMA, G. K.; FONTANA, A.; TEIXEIRA, W. G. (org.). **Manual de métodos de análise de solo** 3. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2017. 573 p.
- TEIXEIRA, R. N.; LIGTERINK, W.; FRANÇA-NETO, J. B.; HILHORST, H. W. M.; SILVA, E. A. A. Gene expression profiling of the green seed problem in soybean. **BMC Plant Biology**, v. 16, n. 1, p. 1–15, 2016.
- TESSMER, O. L.; JIAO, Y.; CRUZ, J. A.; KRAMER, D. M.; CHEN, J. Functional approach to high-throughput plant growth analysis. **BMC systems biology**, v. 7, n. 6, p. 1–13, 2013.
- TESTER, M.; LANGRIDGE, P. Breeding technologies to increase crop production in a changing world. **Science**, v. 327, n. 5967, p. 818–822, 2010.
- TIBOLA, C. S.; MEDEIROS, E. P.; SIMEONE, M. L. F.; OLIVEIRA, M. A. (org.) **Espectroscopia no infravermelho próximo para avaliar indicadores de qualidade tecnológica e contaminantes em grãos**. Brasília: Embrapa, 2018. 200 p.
- UMER, M. J.; BIN SAFDAR, L.; GEBREMESKEL, H.; ZHAO, S.; YUAN, P.; ZHU, H.; KASEB, M. O.; ANEES, M.; LU, X.; HE, N. Identification of key gene networks controlling organic acid and sugar metabolism during watermelon fruit development by integrating metabolic phenotypes and gene expression profiles. **Horticulture research**, v. 7, p. 193, 2020.
- VAN DEN ENDE, W.; VALLURU, R. Sucrose, sucrosyl oligosaccharides, and oxidative stress: scavenging and salvaging? **Journal of experimental botany**, v. 60, n. 1, p. 9–18, 2009.
- VIRLET, N.; LEBOURGEOIS, V.; MARTINEZ, S.; COSTES, E.; LABBÉ, S.; REGNARD, J.-L. Stress indicators based on airborne thermal imagery for field phenotyping a heterogeneous tree population for response to water constraints. **Journal of Experimental Botany**, v. 65, n. 18, p. 5429–5442, 2014.

- WANG, J.; BADENHORST, P.; PHELAN, A.; PEMBLETON, L.; SHI, F.; COGAN, N.; SPANGENBERG, G.; SMITH, K. Using sensors and unmanned aircraft systems for high-throughput phenotyping of biomass in perennial ryegrass breeding trials. **Frontiers in plant science**, v. 10, p. 1381, 2019.
- WANG, L.; PANG, L.; YAN, L.; ZHANG, J. Nondestructive Rapid Identification of Soybean Varieties Using Hyperspectral Imaging Technology. **Journal of Applied Spectroscopy**, v. 89, n. 1, p. 84–91, 2022.
- WARRENS, M. J. Kappa coefficients for dichotomous-nominal classifications. **Advances in Data Analysis and Classification**, v. 15, n. 1, p. 193–208, 2021.
- WHITE, J.; MCMASTER, G.; EDMEADES, G. PREFACE: PHYSIOLOGY, GENOMICS AND CROP RESPONSE TO GLOBAL CHANGE. **Field Crops Research**, v. 90, n. 1, p. 1–3, 2004.
- WIJEWARDANA, C.; REDDY, K. R.; ALSAJRI, F. A.; IRBY, J. T.; KRUTZ, J.; GOLDEN, B. Quantifying soil moisture deficit effects on soybean yield and yield component distribution patterns. **Irrigation Science**, v. 36, p. 241–255, 2018.
- WIJEWARDANA, C.; REDDY, K. R.; BELLALLOUI, N. Soybean seed physiology, quality, and chemical composition under soil moisture stress. **Food Chemistry**, v. 278, p. 92–100, 2019.
- WOLD, S.; ESBENSEN, K.; GELADI, P. Principal component analysis. **Chemometrics and intelligent laboratory systems**, v. 2, n. 1–3, p. 37–52, 1987.
- WU, D.; SUN, D.-W. Advanced applications of hyperspectral imaging technology for food quality and safety analysis and assessment: A review—Part I: Fundamentals. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 19, p. 1–14, 2013.
- WU, G.; QIU, D.; YANG, X.; WU, G.; ZHAO, S. Effects of new fungal activator protein on physiological character of soybean. **Soybean Science**, v. 26, n. 5, p. 691, 2007.
- WU, J.; PENG, Y.; LI, Y.; WANG, W.; CHEN, J.; DHAKAL, S. Prediction of beef quality attributes using VIS/NIR hyperspectral scattering imaging technique. **Journal of Food Engineering**, v. 109, n. 2, p. 267–273, 2012.

- XU, R.; HU, W.; ZHOU, Y.; ZHANG, X.; XU, S.; GUO, Q.; QI, P.; CHEN, L.; YANG, X.; ZHANG, F. Use of near-infrared spectroscopy for the rapid evaluation of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill.] water soluble protein content. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 224, p. 117400, 2020.
- YAKUN, Z.; BIN, L.; PENG, S.; DAYU, P.; WENCHAO, L.; YANAN, Z.; CHENG, W.; CHUNJIANG, Z. Rapid determination of soluble protein content for soybean leaves based on near infrared spectroscopy. **Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering**, v. 34, n. 18, 2018.
- YANG, B.; GAO, Y.; LI, H.; YE, S.; HE, H.; XIE, S. Rapid prediction of yellow tea free amino acids with hyperspectral images. **PLoS One**, v. 14, n. 2, p. e0210084, 2019.
- YIN, W.; ZHANG, C.; ZHU, H.; ZHAO, Y.; HE, Y. Application of near-infrared hyperspectral imaging to discriminate different geographical origins of Chinese wolfberries. **PloS one**, v. 12, n. 7, p. e0180534, 2017.
- ZHANG, H.; BERGER, J. D.; MILROY, S. P. Genotypex environment interaction studies highlight the role of phenology in specific adaptation of canola (*Brassica napus*) to contrasting Mediterranean climates. **Field Crops Research**, v. 144, p. 77–88, 2013.
- ZHANG, Q.; LI, Q.; ZHANG, G. Rapid determination of leaf water content using VIS/NIR spectroscopy analysis with wavelength selection. **Spectroscopy: An International Journal**, v. 27, n. 2, p. 93–105, 2012.
- ZHAO, C.; ZHANG, Y.; DU, J.; GUO, X.; WEN, W.; GU, S.; WANG, J.; FAN, J. Crop phenomics: current status and perspectives. **Frontiers in plant science**, v. 10, p. 714, 2019.
- ZORATO, M. F.; PESKE, S. T.; TAKEDA, C.; FRANÇA-NETO, J. B. Presença de sementes esverdeadas em soja e seus efeitos sobre seu potencial fisiológico. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, p. 11–19, 2007.

APÊNDICE A

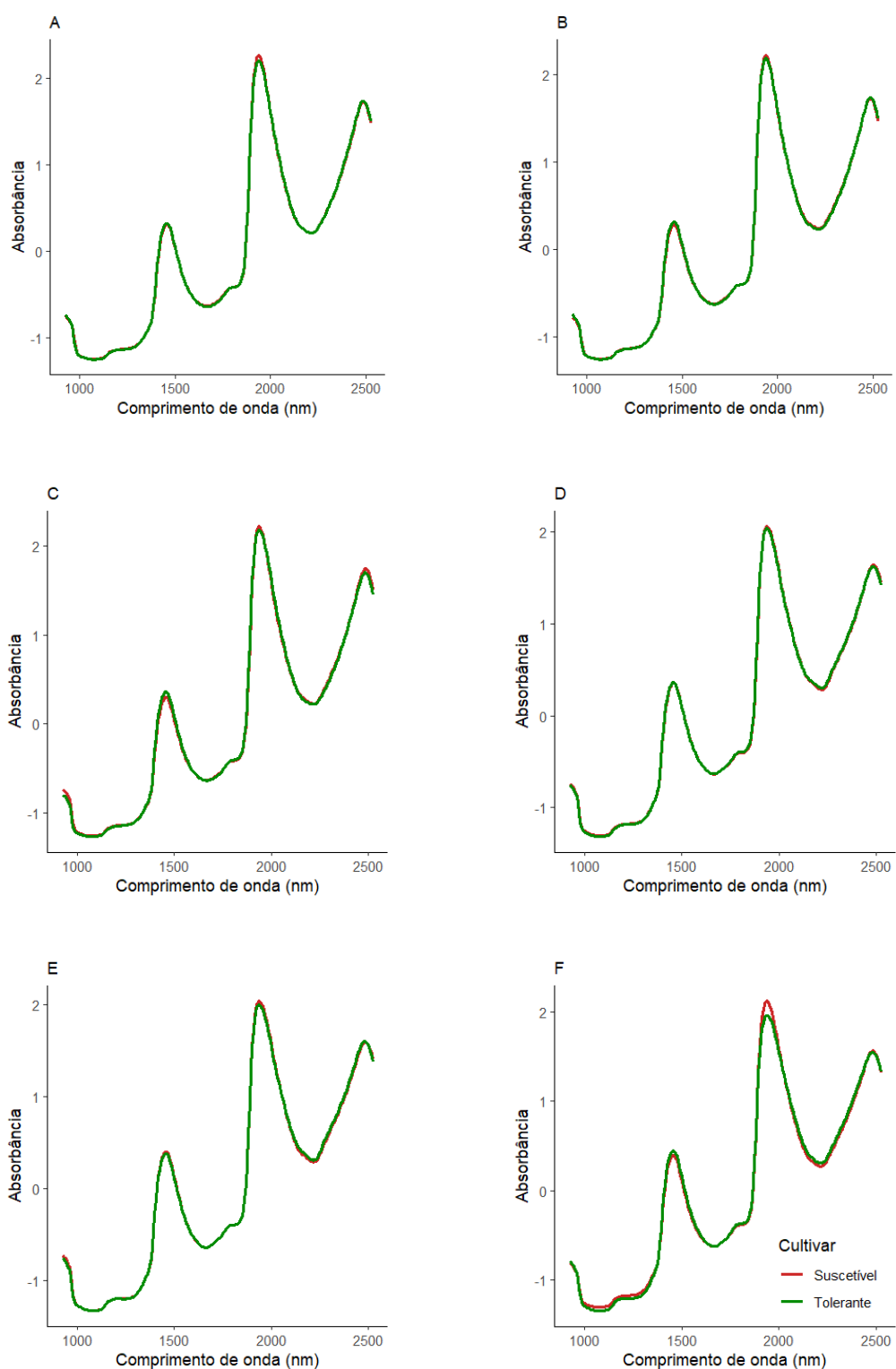


Figura 17. Espectros médios de absorvância para folhas de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante os estádios de desenvolvimento da cultura sob a condição controle de fornecimento de água
 A – estágio V4; B – estágio Vn; C – estágio R2; D – estágio R5; E – estágio R6; F – estágio R7

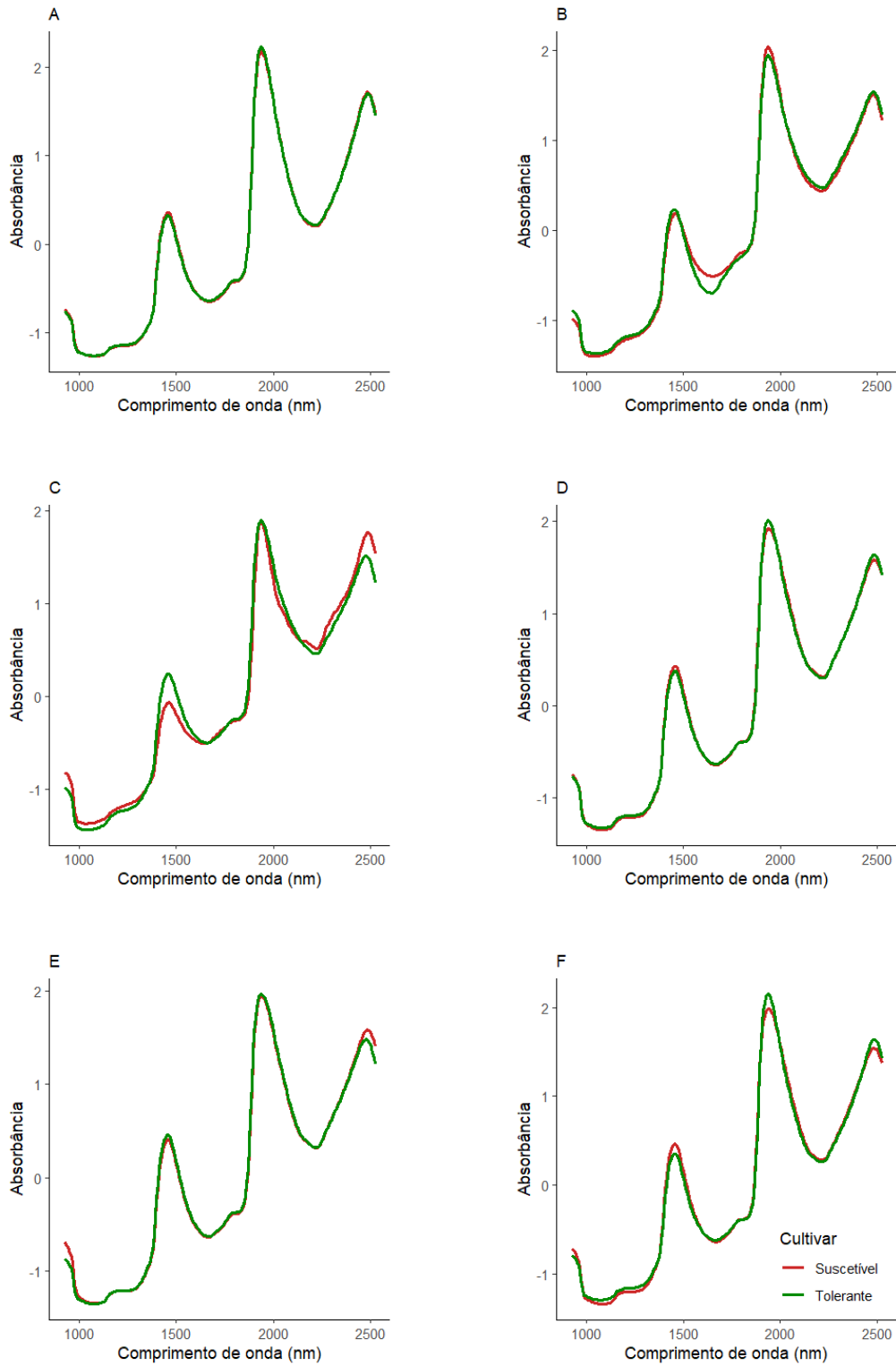


Figura 18. Espectros médios de absorvância para folhas de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante diferentes estádios de desenvolvimento para a condição de déficit moderado no estágio vegetativo (V2)

A – estágio V4; B – estágio Vn; C – estágio R2; D – estágio R5; E – estágio R6; F – estágio R7

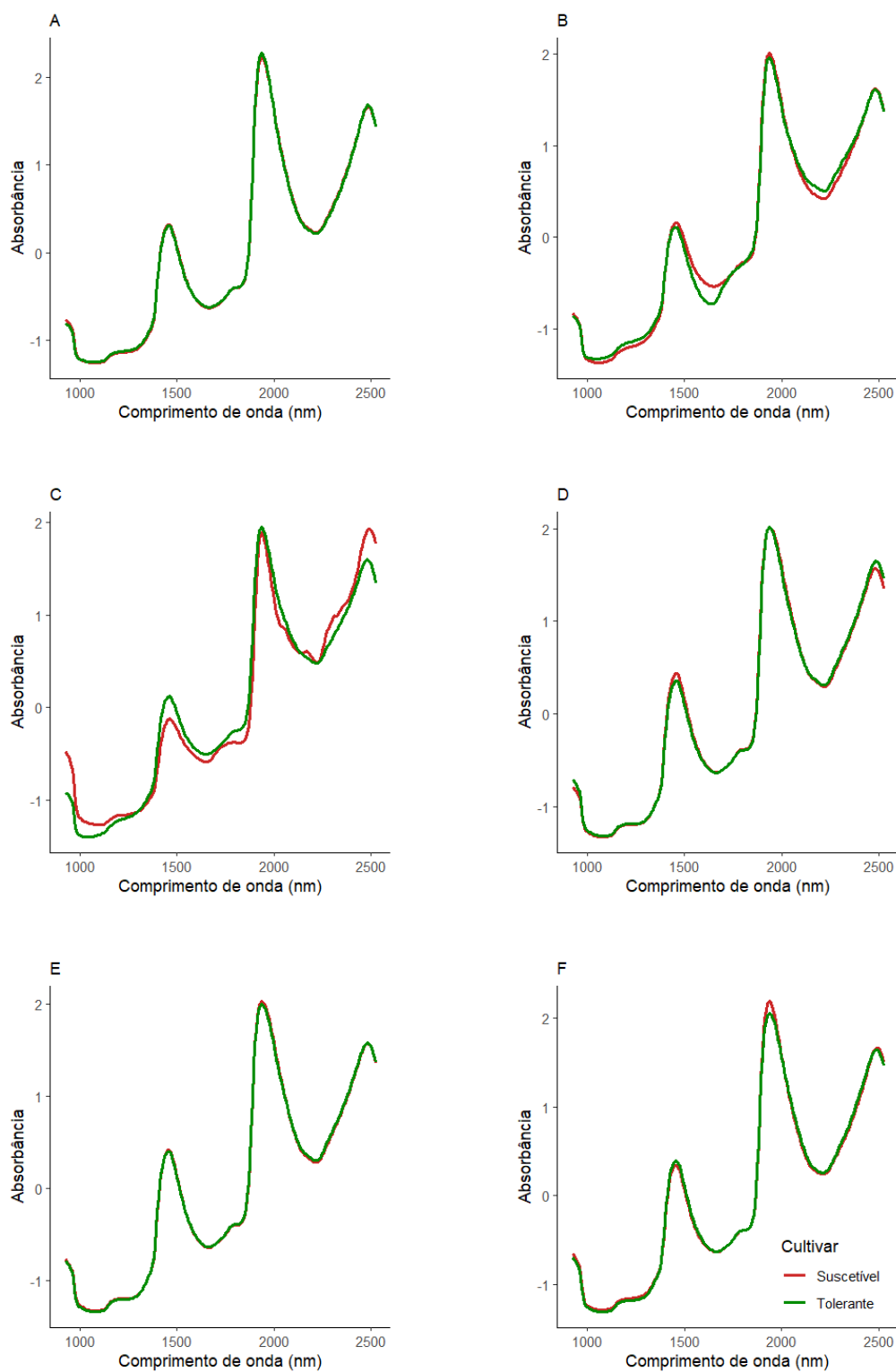


Figura 19. Espectros médios de absorvância para folhas de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante diferentes estádios de desenvolvimento para a condição de déficit severo no estádio vegetativo (V2)

A – estádio V4; B – estádio Vn; C – estádio R2; D – estádio R5; E – estádio R6; F – estádio R7

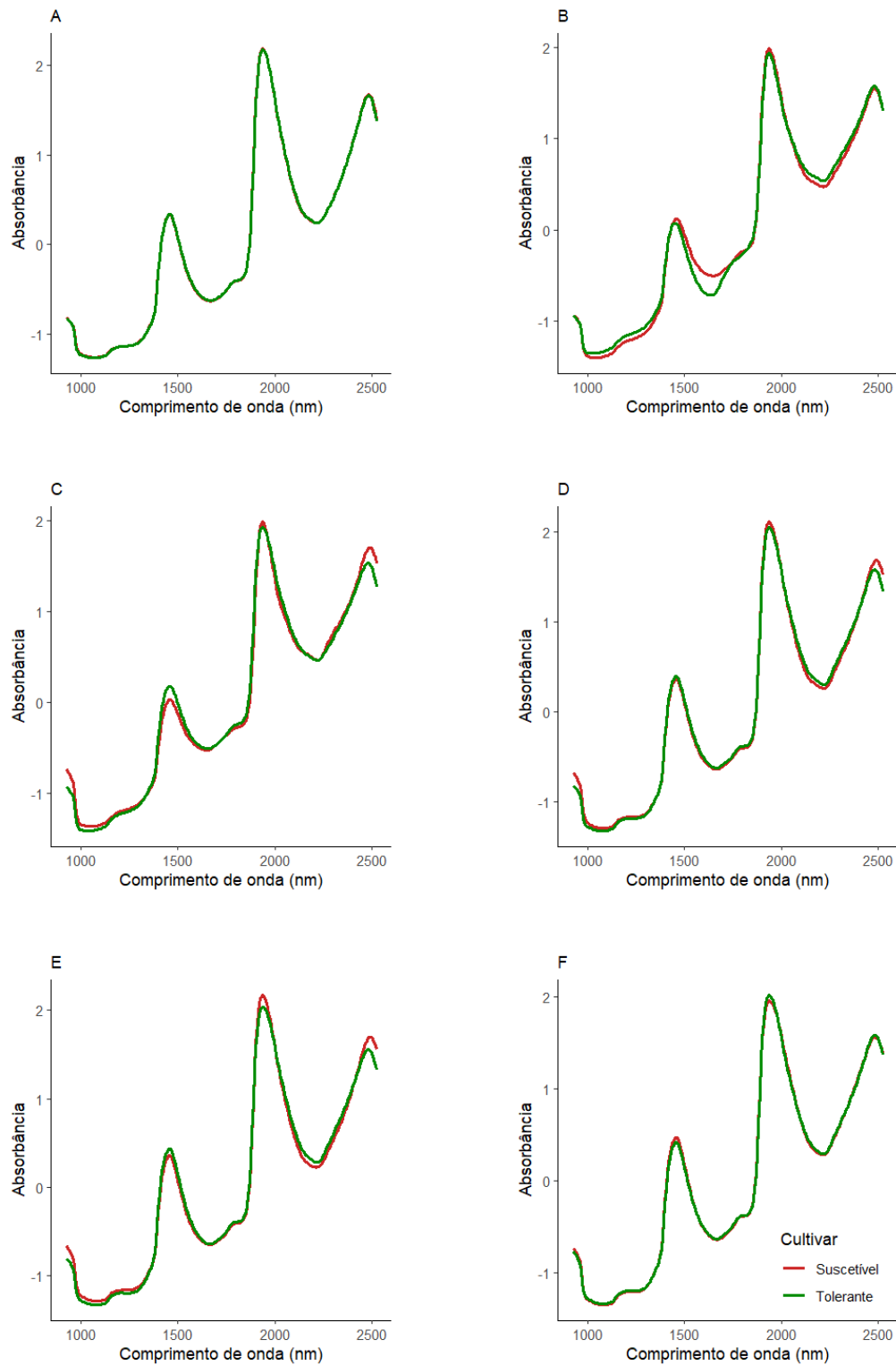


Figura 20. Espectros médios de absorvância para folhas de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante diferentes estádios de desenvolvimento para a condição de déficit moderado no estágio reprodutivo (R6)

A – estágio V4; B – estágio Vn; C – estágio R2; D – estágio R5; E – estágio R6; F – estágio R7

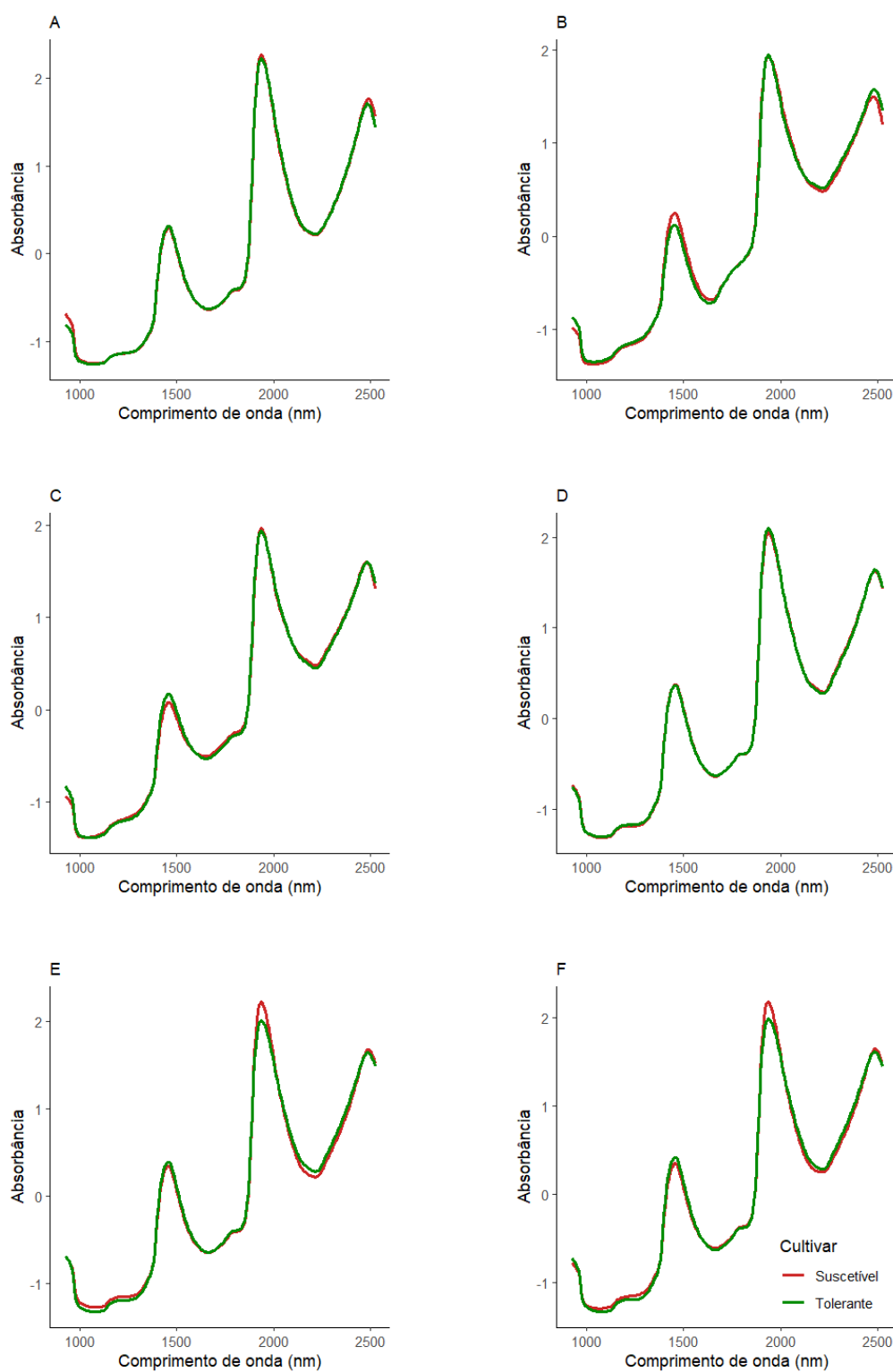


Figura 21. Espectros médios de absorvância para folhas de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante diferentes estádios de desenvolvimento para a condição de déficit severo no estágio reprodutivo (R6)

A – estágio V4; B – estágio Vn; C – estágio R2; D – estágio R5; E – estágio R6; F – estágio R7

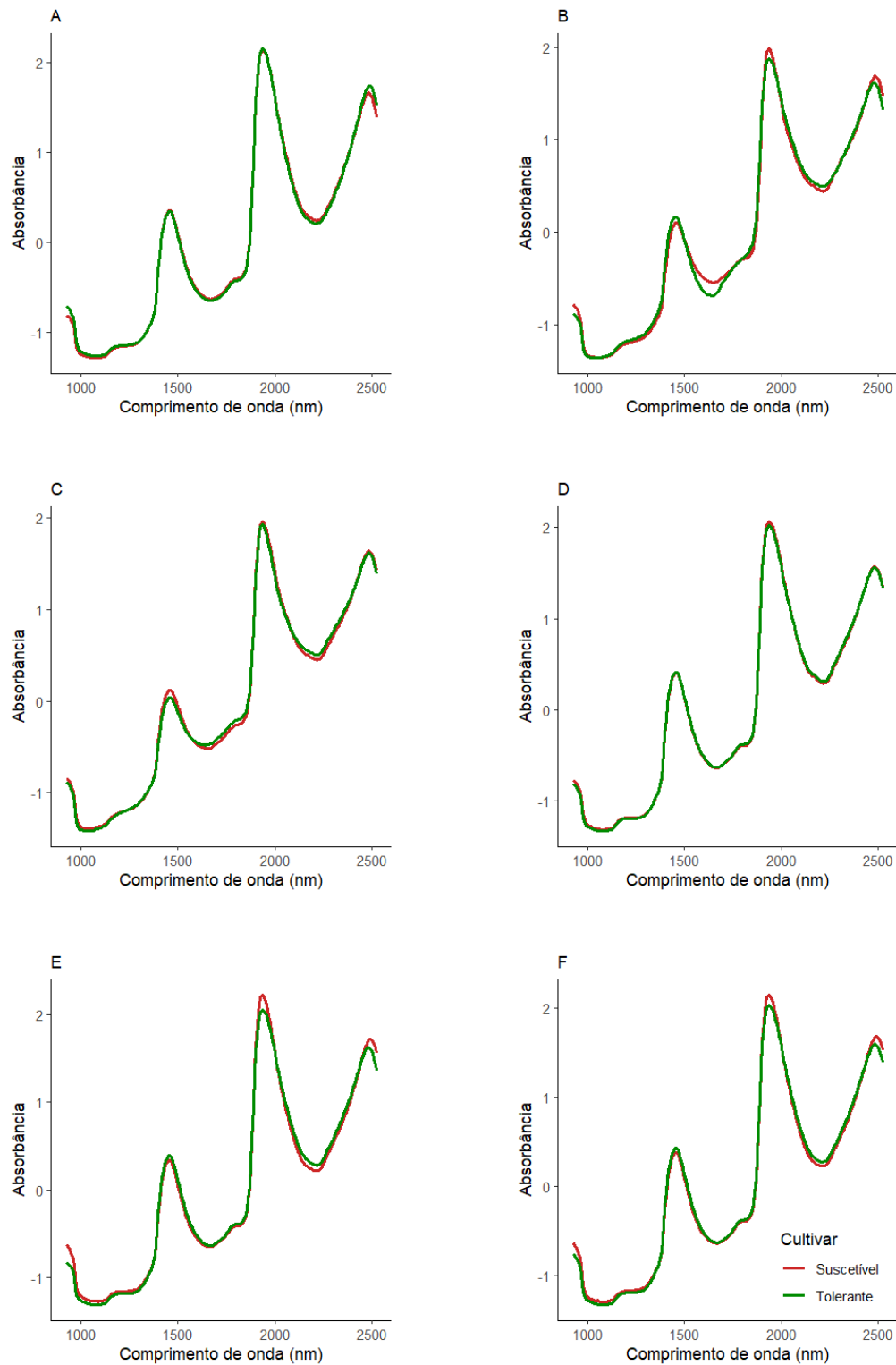


Figura 22. Espectros médios de absorvância para folhas de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante diferentes estádios de desenvolvimento para a condição de déficit moderado em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo (V2+R6)
 A – estágio V4; B – estágio Vn; C – estágio R2; D – estágio R5; E – estágio R6; F – estágio R7

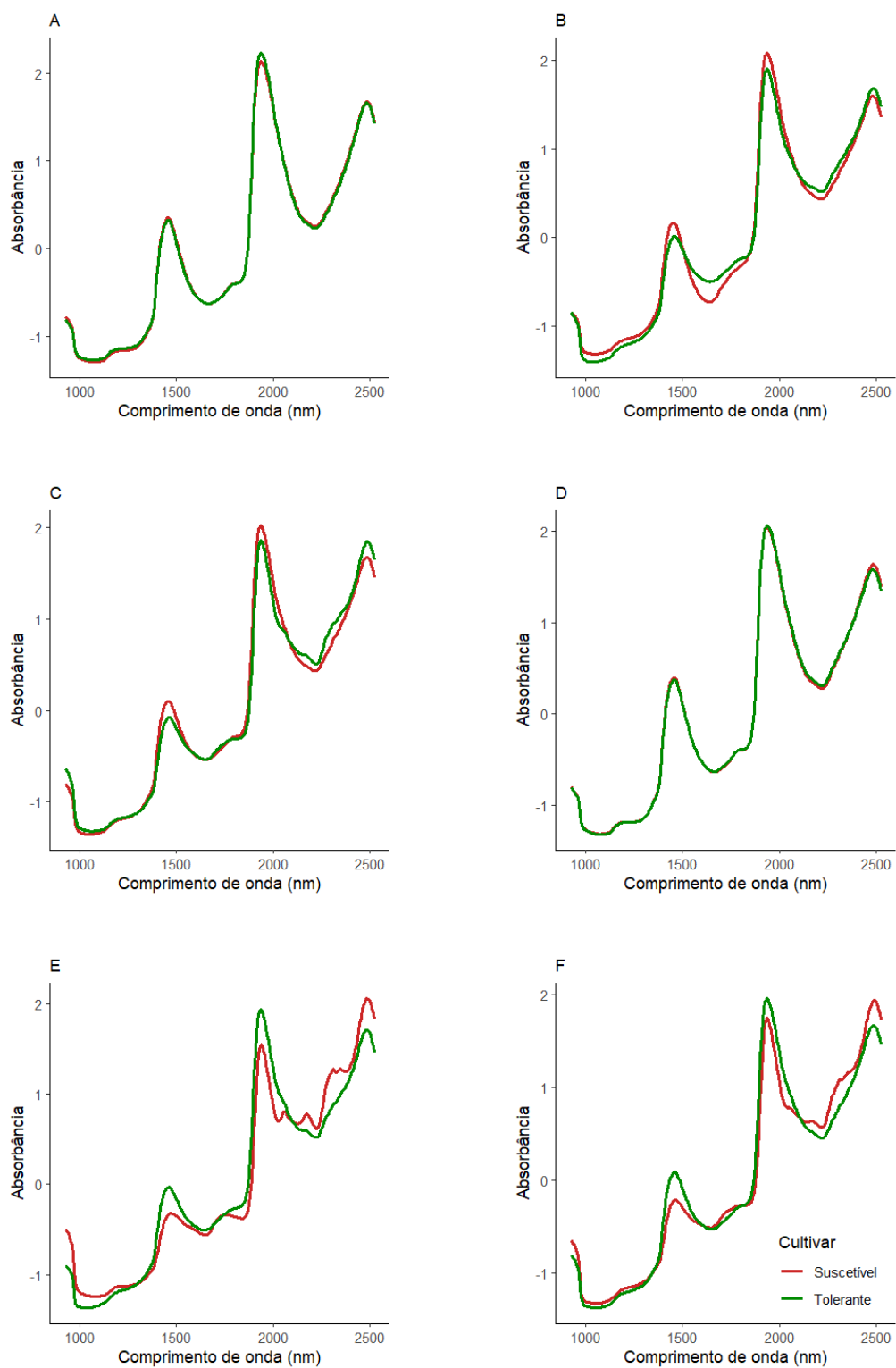


Figura 23. Espectros médios de absorvância para folhas de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante diferentes estádios de desenvolvimento para a condição de déficit severo em associação nos estádios vegetativos vegetativo e reprodutivo (V2+R6) A – estágio V4; B – estágio Vn; C – estágio R2; D – estágio R5; E – estágio R6; F – estágio R7

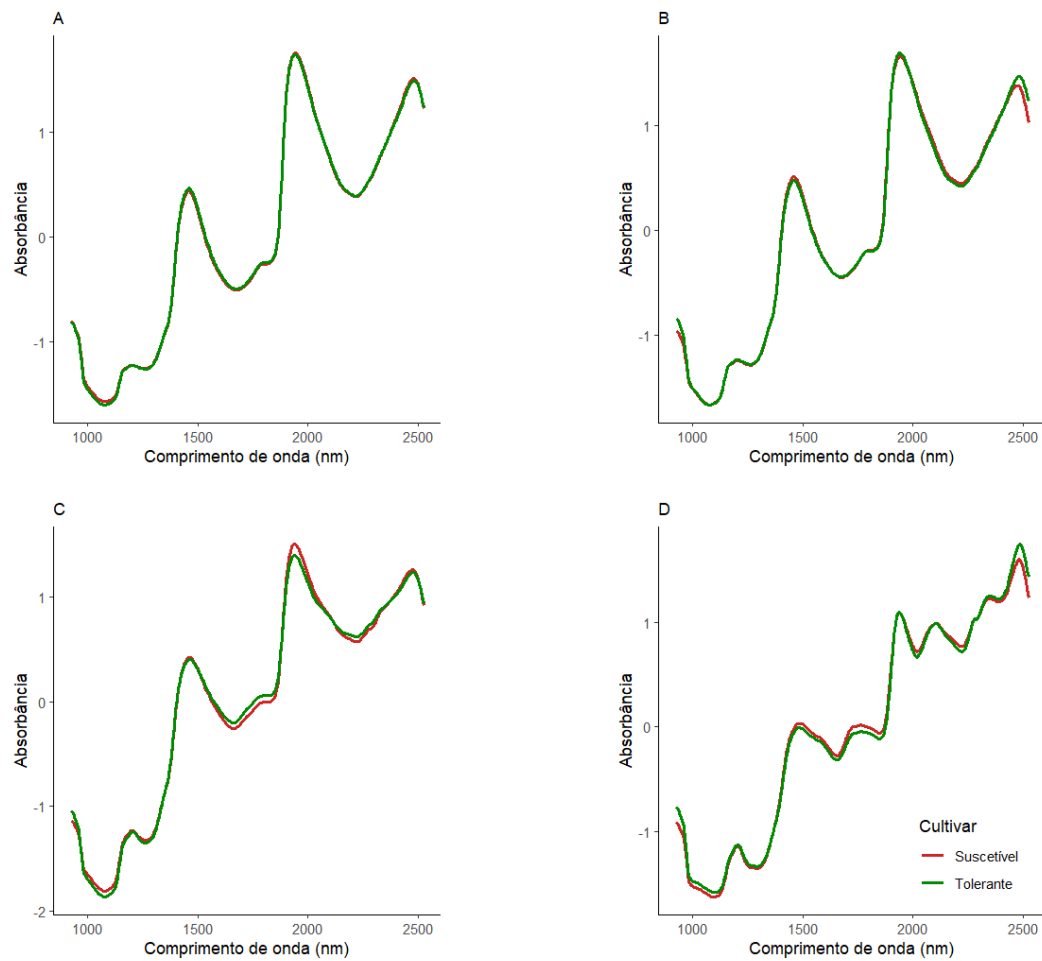


Figura 24. Espectros médios de absorvância para sementes de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante os estádios de desenvolvimento da cultura sob a condição controle de fornecimento de água
A estágio R5; B – estágio R6; C – estágio R7; D – estágio R8.

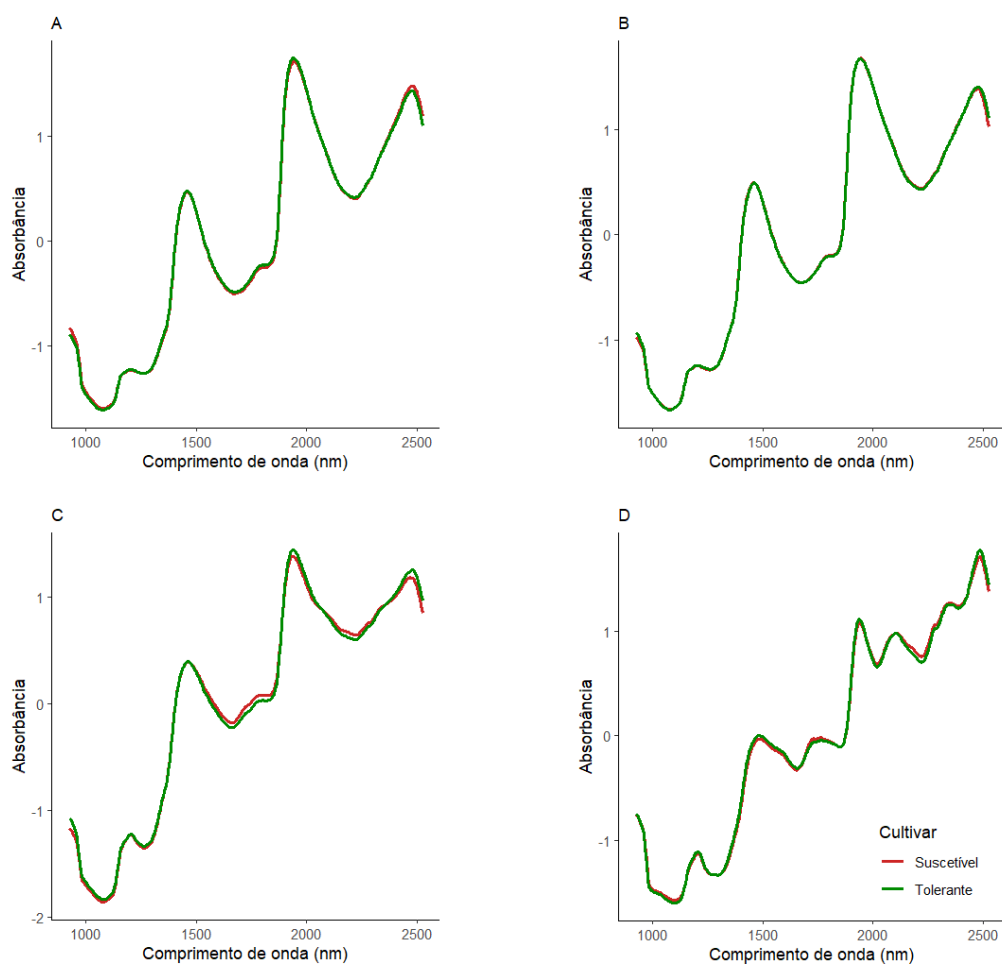


Figura 25. Espectros médios de absorvância para sementes de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante os estádios de desenvolvimento da cultura sob a condição de déficit moderado no estágio vegetativo (V2). A – estágio R5; B – estágio R6; C – estágio R7; D – estágio R8.

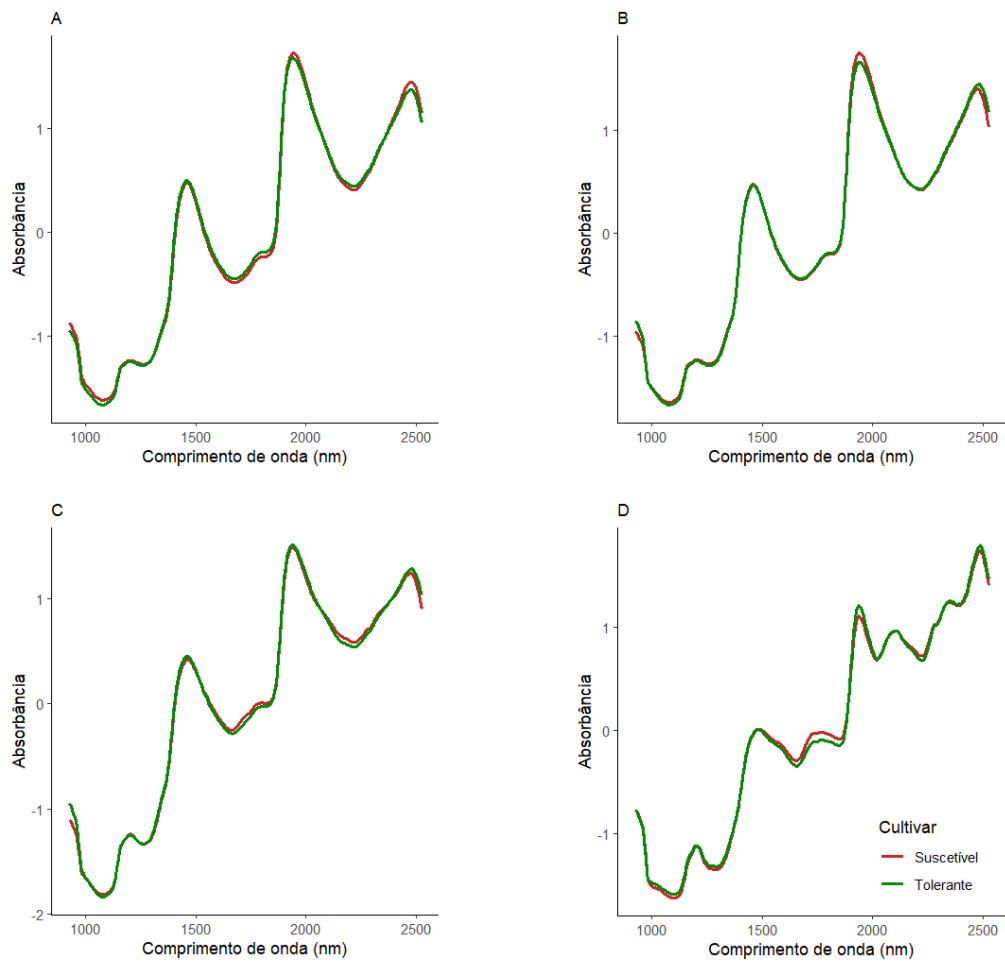


Figura 26. Espectros médios de absorvância para sementes de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante os estádios de desenvolvimento da cultura sob a condição de déficit severo no estágio vegetativo (V2). A – estágio R5; B – estágio R6; C – estágio R7; D – estágio R8.

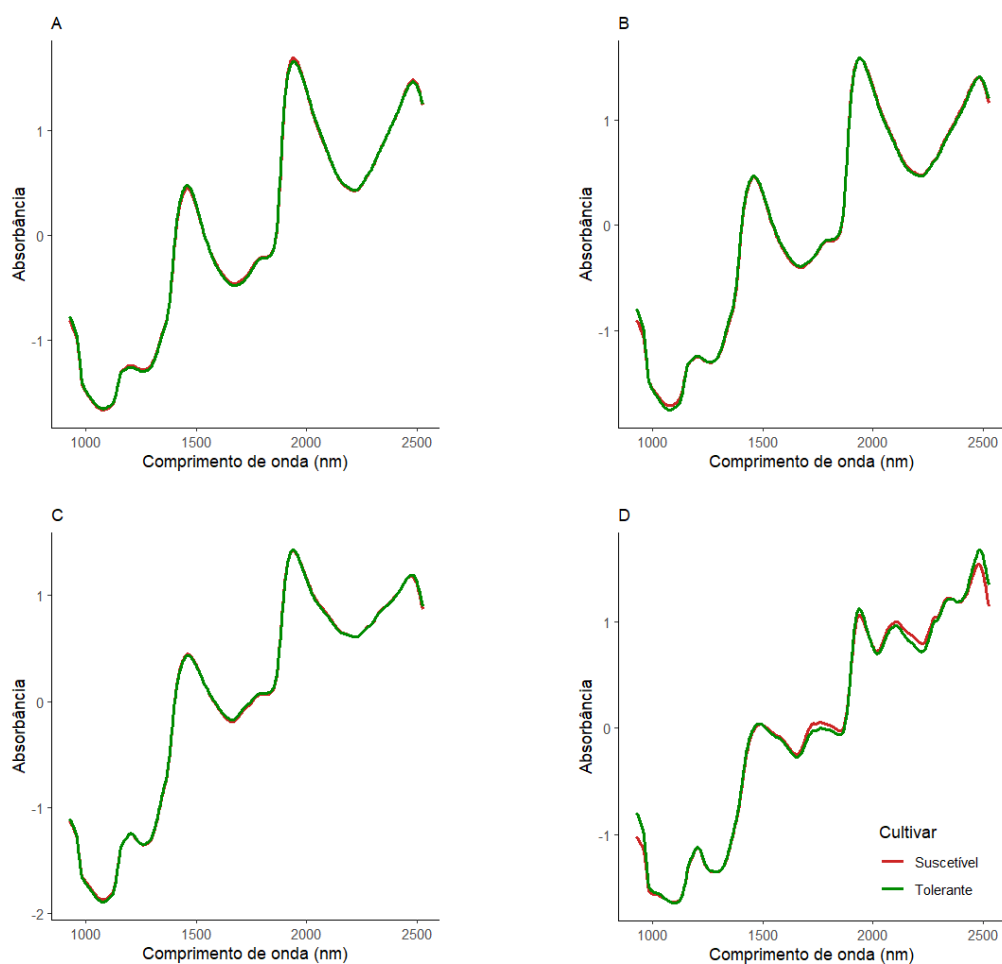


Figura 27. Espectros médios de absorvância para sementes de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante os estádios de desenvolvimento da cultura sob a condição de déficit moderado no estágio reprodutivo (R6). A – estágio R5; B – estágio R6; C – estágio R7; D – estágio R8.

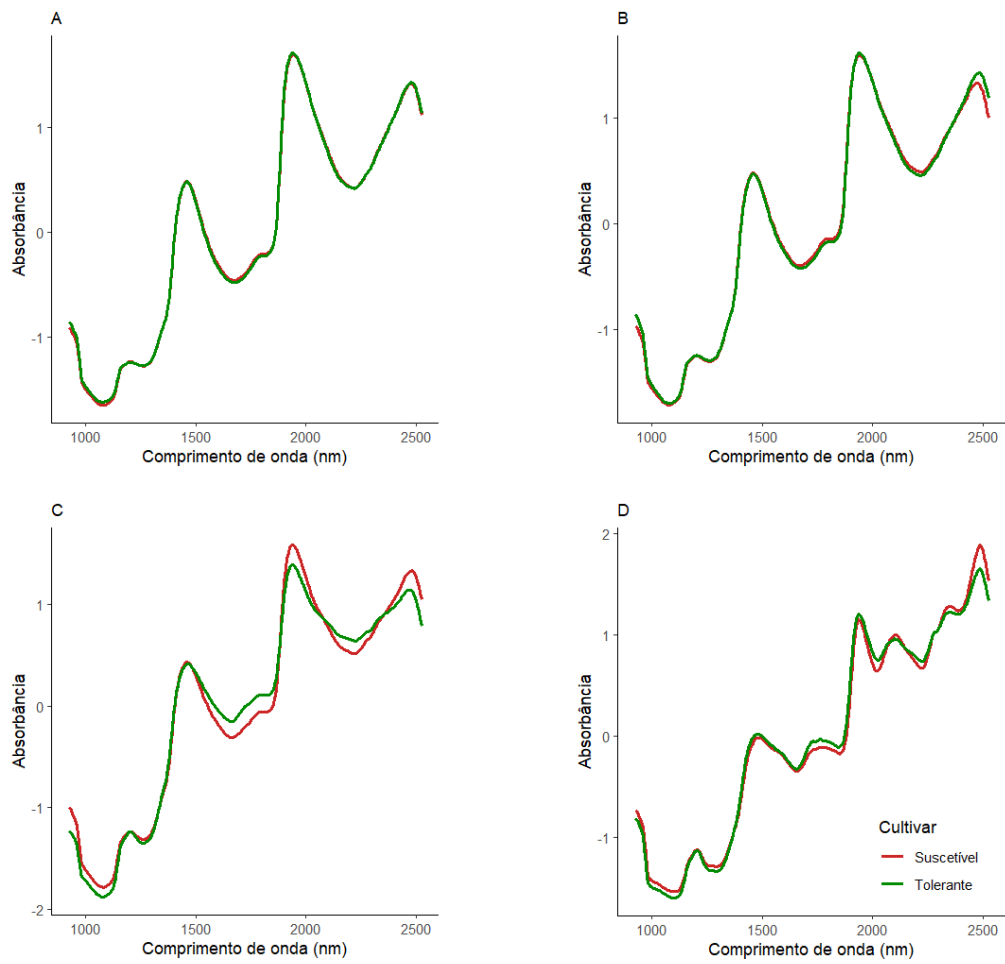


Figura 28. Espectros médios de absorvância para sementes de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante os estádios de desenvolvimento da cultura sob a condição de déficit severo no estágio reprodutivo (R6). A – estágio R5; B – estágio R6; C – estágio R7; D – estágio R8.

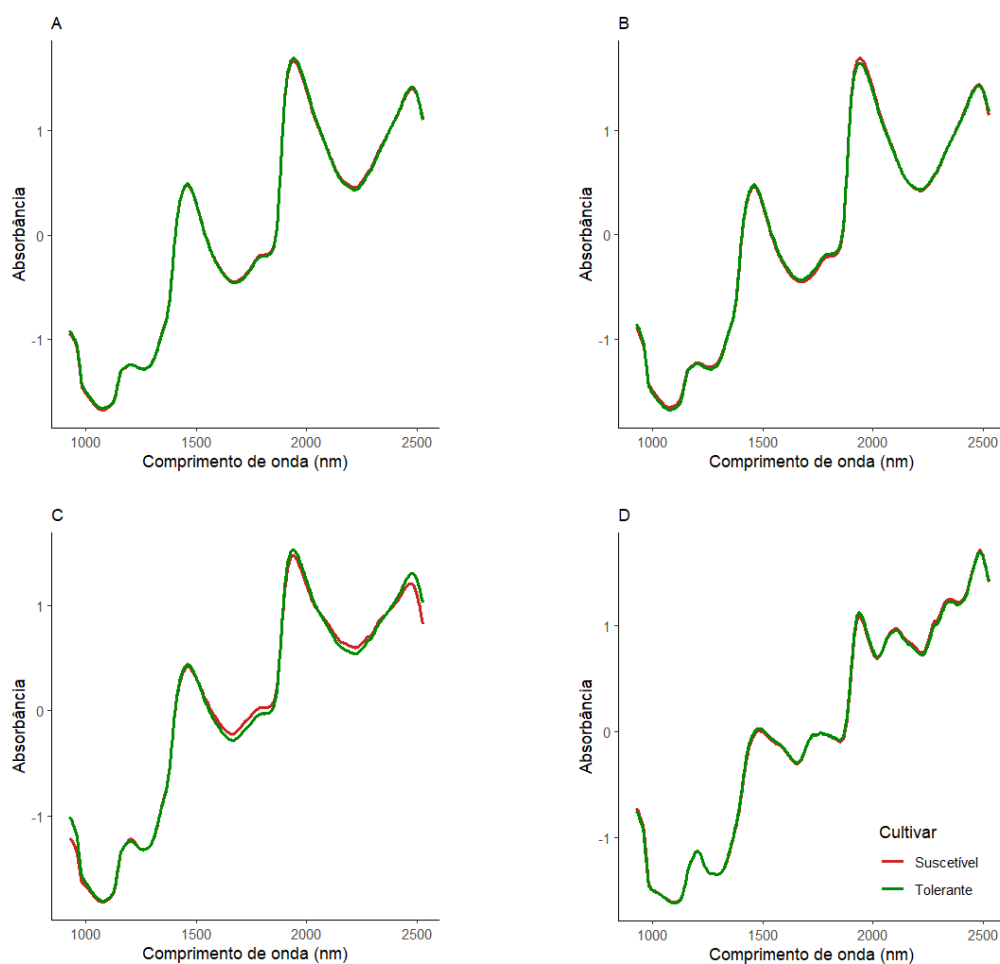


Figura 29. Espectros médios de absorvância para sementes de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante os estádios de desenvolvimento da cultura sob a condição de déficit moderado em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo (V2+R6). A – estágio R5; B – estágio R6; C – estágio R7; D – estágio R8.

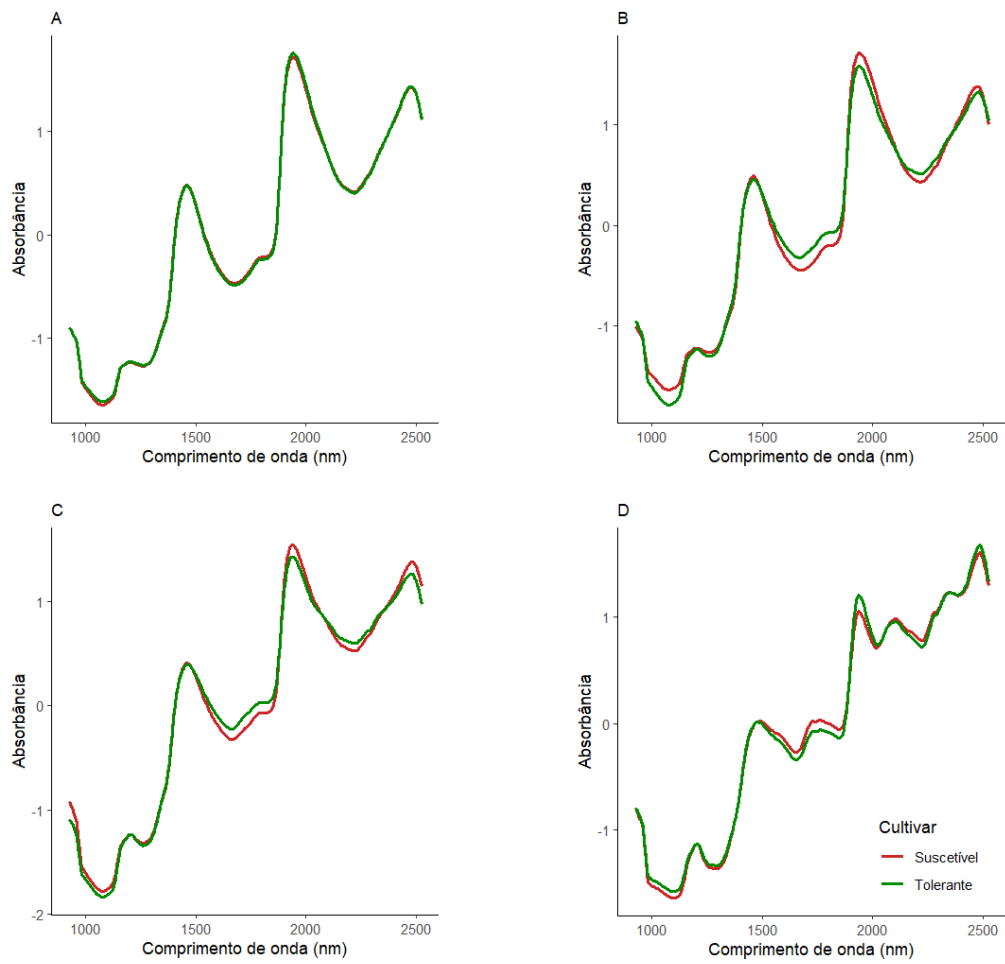


Figura 30. Espectros médios de absorvância para sementes de soja do cultivar suscetível (linha vermelha) e do cultivar tolerante (linha verde) durante os estádios de desenvolvimento da cultura sob a condição de déficit severo em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo (V2+R6). A – estágio R5; B – estágio R6; C – estágio R7; D – estágio R8.

APÊNDICE B

Tabela 24. Comprimentos de onda selecionados para os diferentes conjuntos de dados obtidos de folhas e sementes de soja submetidas a diferentes condições de déficit hídrico

Conjunto de dados	Natureza do material	Comprimentos de ondas selecionados
DMV2 – déficit moderado no estágio vegetativo <i>Imagem obtida no estágio fenológico R2</i>	Folhas	1381, 1388, 1394, 1400, 1407, 1413, 1419, 1876, 1883, 1889
DSV2 – déficit severo no estágio vegetativo <i>Imagem obtida no estágio fenológico R2</i>	Folhas	998, 1004, 1010, 1017, 1023, 1029, 1036, 1042, 1048, 1054, 1061, 1067, 1073, 1080, 1086, 1092, 1099, 1105, 1111, 1117, 1124, 1130, 1136, 1143, 1149, 1155, 1161, 1168, 1174, 1180, 1187, 1193, 1199, 1206, 1212, 1218, 1388, 1394, 1808, 1814, 1820, 1826, 1833, 1839, 1845, 1851, 1858, 1864, 1870, 1876, 1883, 1889, 1895.
DSV2R6 – déficit severo em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo <i>Imagem obtida no estágio fenológico R6</i>	Folhas	1895, 1901, 1908, 1914, 1920, 1995, 2001, 2007, 2014, 2020, 2026, 2032, 2039
DSV2R6 – déficit severo em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo <i>Imagem obtida no estágio fenológico R7</i>	Folhas	1388, 1394, 1400, 1870, 1876, 1883, 1889, 1895, 1901, 2001, 2007, 2014, 2020, 2026, 2032, 2039, 2045, 2051, 2263, 2269, 2275, 2282, 2288, 2294, 2300, 2307, 2313, 2319, 2325,
DSR6 – déficit severo no estágio reprodutivo <i>Imagem obtida no estágio fenológico R6</i>	Sementes	2512, 2518, 2524
DSV2R6 – déficit severo em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo <i>Imagem obtida no estágio fenológico R6</i>	Sementes	1193, 1199, 1206, 1876
DSV2R6 – déficit severo em associação nos estádios vegetativo e reprodutivo <i>Imagem obtida no estágio fenológico R7</i>	Sementes	966, 2512, 2518