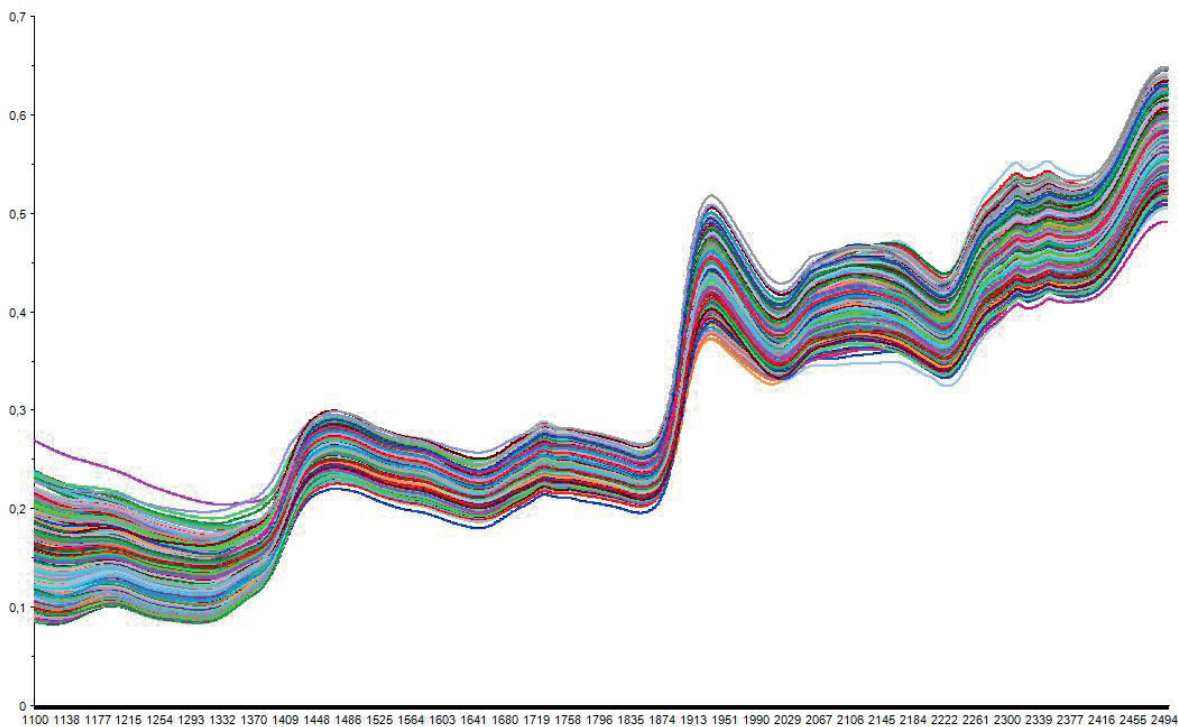


Predição de Características Bromatológicas em
Arachis pintoi Krap & Greg. via Espectroscopia
de Reflectância do Infravermelho Próximo



OBJETIVOS DE
DESENVOLVIMENTO
SUSTENTÁVEL



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Acre
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
61

Predição de Características Bromatológicas em
Arachis pintoi Krap & Greg. via Espectroscopia
de Reflectância do Infravermelho Próximo

Natália Bortoleto Athayde
Everaldo Paulo de Medeiros
Carlos Eduardo Lazarini da Fonseca
Giselle Mariano Lessa de Assis

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Acre
Rodovia BR-364, km 14,
sentido Rio Branco/Porto Velho
Caixa Postal 321
CEP 69900-970, Rio Branco, AC
Fone: (68) 3212-3200
Fax: (68) 3212-3285
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Acre

Presidente
Elias Melo de Miranda

Secretário-Executivo
Claudia Carvalho Sena

Membros
Carlos Mauricio Soares de Andrade, Celso Luis Bergo, Evandro Orfanó Figueiredo, Rivaldvalve Coelho Gonçalves, Rodrigo Souza Santos, Romeu de Carvalho Andrade Neto, Tadário Kamel de Oliveira, Tatiana de Campos, Virgínia de Souza Álvares

Supervisão editorial e revisão de texto
Claudia Carvalho Sena
Suely Moreira de Melo

Normalização bibliográfica
Renata do Carmo França Seabra

Diagramação
Francisco Carlos da Rocha Gomes

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Foto da capa
Natália Bortoleto Athayde

1ª edição
On-line (2020)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Acre

Predição de características bromatológicas em *Arachis pintoi* Krap & Greg. via espectroscopia de reflectância do infravermelho próximo / por Natália Bortoleto Athayde... [et al]. – Rio Branco, AC: Embrapa Acre, 2020.

26 p. : il. color. – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Acre, ISSN 0101-5516; 61).

1. Recuperação de pastagem. 2. Melhoramento genético vegetal. 3. *Arachis pintoi* – características bromatológicas. 4. Amendoim forrageiro. 5. Análise multivariada. 6. Espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIRS). 7. Quadrados mínimos parciais (PLS). 8. Athayde, Natália Bortoleto. I. Embrapa Acre. II. Série.

CDD (21.ed.) 633.3

Sumário

Resumo	5
Abstract	6
Introdução.....	7
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	15
Conclusões.....	23
Agradecimentos.....	23
Referências	23

Predição de Características Bromatológicas em *Arachis pintoi* Krap & Greg. via Espectroscopia de Reflectância do Infravermelho Próximo

Natália Bortoleto Athayde¹

Everaldo Paulo de Medeiros²

Carlos Eduardo Lazarini da Fonseca³

Giselle Mariano Lessa de Assis⁴

Resumo – Objetivou-se verificar a efetividade da espectroscopia no infravermelho próximo e calibração multivariada para a predição de características bromatológicas do amendoim forrageiro (*Arachis pintoi* Krap & Greg.). Amostras de diferentes origens genéticas, anos e épocas de colheita foram usadas para leituras espectrais e análises de referência. Para o desenvolvimento das regressões por quadrados mínimos parciais (PLS) utilizaram-se 206 amostras como conjunto de calibração e 103 como conjunto de validação externa. Como os ajustes das calibrações iniciais foram de moderados a baixos, uma nova etapa foi feita com 462 amostras para calibração e 231 para validação externa. Outras 231 amostras foram utilizadas para uma segunda validação dos modelos. As calibrações foram escolhidas baseadas nos maiores coeficientes de determinação (R^2), menores erros padrões da calibração (SEC), menores diferenças entre SEC e erro padrão da validação externa (SEP) e maiores correlações entre os dados preditos e de referência. As calibrações foram melhores na etapa 2, com R^2 variando de 0,57 para matéria seca (MS) a 0,79 para proteína bruta. Os resultados preditos e de referência tiveram médias e desvios-padrões similares para as características estudadas. As correlações variaram de 0,66 a 0,84, sendo os valores para proteína bruta e lignina acima de 0,80. A magnitude desses valores sugere que os modelos podem ser utilizados para triagem de amostras em um programa de seleção de material superior.

Termos para indexação: PLS, análise multivariada, seleção para qualidade.

¹ Zootecnista, doutora em Zootecnia, analista da Embrapa Cerrados, Brasília, DF.

² Químico, doutor em Química, pesquisador da Embrapa Algodão, Campina Grande, PB.

³ Engenheiro-agrônomo, Ph.D em Melhoramento Vegetal e Biometria, pesquisador da Embrapa Cerrados, Brasília, DF.

⁴ Zootecnista, doutora em Genética e Melhoramento, pesquisadora da Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

Bromatological Traits' Prediction in *Arachis pintoi* Krap & Greg. by Near Infrared Reflectance Spectroscopy

Abstract – The objective was to verify the effectiveness of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) in the prediction of bromatological characteristics of forage peanuts (*Arachis pintoi* Krap & Greg.). Samples of different genetic origins, years and harvests were used for spectral readings and reference analyzes. For partial least square (PLS) regressions, 206 samples were used as the calibration set and 103 as the external validation set. As initial calibration fits were moderate to low, a new calibration with 462 samples for calibration and 231 for external validation was performed. In addition, another 231 samples were used for a second validation of the models. The best calibrations were chosen based on higher values of R^2 , lower standard error of calibration (SEC), smaller differences between SEC and standard error of prediction (SEP), and higher correlations between predicted and reference data. The second calibrations were better, with R^2 ranging from 0.57 for dry matter (MS) to 0.79 for crude protein (PB). Comparisons of the predicted and reference resulted in similar means and standard deviations for the characteristics. The correlations ranged from 0.66 to 0.84, with values for PB and lignin (ADL) above 0.80. The magnitude of the values suggested that the models may be used for screening superior material in a selection program for forage quality.

Index terms: PLS, multivariate analysis, forage quality selection.

Introdução

As plantas forrageiras apresentam fundamental importância na rentabilidade e sustentabilidade da produção de ruminantes, sendo essencial o conhecimento sobre a qualidade da forragem consumida pelo animal em pastejo. Na Amazônia e no Brasil Central, estima-se que metade das pastagens está degradada ou em processo de degradação (Santos, 2012). Nesse contexto, uma das alternativas existentes na recuperação de pastagens é a introdução de leguminosas forrageiras adaptadas às condições ambientais e aos sistemas de produção. O amendoim forrageiro tem se destacado e despertado interesse de produtores do estado do Acre, pois, além da boa adaptação às condições edafoclimáticas da região, tem alto valor nutritivo e apresenta boa compatibilidade em associações com gramíneas (Valentim et al., 2002).

A qualidade de material forrageiro envolve a determinação de suas propriedades físicas, químicas ou biológicas. Os métodos tradicionais utilizados para determinação de características bromatológicas de qualidade forrageira envolvem etapas morosas e de custo elevado. Adicionalmente, geram resíduos, inutilizam as amostras para estudos posteriores, além de expor, com maior frequência, os profissionais de laboratório a uma diversidade de químicos que, se não manejados adequadamente, podem causar sérios problemas a sua saúde. A espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIRS) aparece como uma ferramenta alternativa e promissora para ser utilizada frente aos desafios de desempenho analítico a que os laboratórios são demandados. Trata-se de um método preciso, não destrutivo, de baixo custo operacional e que permite a realização de inúmeras análises de forma simultânea e rápida.

O princípio da análise por NIRS consiste na leitura de reflectância da radiação na região do infravermelho próximo (1100 nm a 2500 nm) por compostos orgânicos. O método se baseia no fato de que cada componente orgânico tem características de absorvância em regiões específicas. Vibrações moleculares nas ligações diatômicas com hidrogênio são induzidas pela radiação eletromagnética na região do infravermelho próximo e suas diferenças permitem que grupos funcionais, representados pelas ligações

C-H, O-H, S-H e N-H, por exemplo, sejam reconhecidos e quantificados (Marten et al., 1985).

Inicialmente, um grupo de amostras, representando o universo de variabilidade das características bromatológicas de interesse, é utilizado para o desenvolvimento de modelos de regressão usando calibração multivariada, a qual associa os resultados das análises de referência, realizadas via química tradicional, às respostas espectrais de absorvância das amostras. Como resultado dessas regressões tem-se os modelos de calibração multivariada que são utilizados, então, para fazer predições de características bromatológicas de novas amostras a partir de suas respostas espectrais na faixa NIR.

De acordo com a literatura, as informações disponíveis sobre o desenvolvimento de modelos de calibração NIR para prever a qualidade do amendoim forrageiro ainda são muito incipientes. O desenvolvimento de calibrações utilizando a espectroscopia NIR para componentes de qualidade do amendoim forrageiro pode ser uma solução viável para selecionar genótipos superiores entre um grande número de genótipos comumente utilizado em programas de melhoramento genético. O objetivo foi desenvolver modelos de calibração multivariada para estimar as concentrações de proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA), lignina detergente ácido (ADL), matéria seca (MS), digestibilidade in vitro da matéria seca (DIVMS), celulose (CEL) e hemicelulose (HEM) em amendoim forrageiro, bem como validá-los para serem usados como ferramenta eficaz na estimativa de qualidade de novas amostras.

Esta publicação está de acordo com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável 2 (Fome Zero e Agricultura Sustentável) e 12 (Consumo e Produção Responsáveis). Os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) são uma coleção de 17 metas globais estabelecidas pela Assembleia Geral das Nações Unidas e que tem o apoio da Embrapa para que sejam atingidas.

Material e Métodos

Os estudos foram realizados no campo experimental e laboratório da Embrapa Acre, em Rio Branco, AC, situada a 09°58'29" de latitude sul e 67°48'36" de longitude oeste. O clima da região, segundo Köppen, é do tipo Am, tropical úmido ou subúmido, com temperatura média do mês mais frio sempre superior a 18 °C e uma estação seca de pequena duração que é compensada pelos totais elevados de precipitação (Peel et al., 2007). A temperatura média é de 24,8 °C, a máxima média de 31,5 °C e a mínima média de 19,8 °C, precipitação média anual de 1.950 mm e umidade relativa média de cerca de 80%.

O trabalho foi desenvolvido em duas etapas. Na primeira, foram utilizadas 412 amostras de planta inteira de *Arachis pintoi* de diferentes experimentos de competição de genótipos do programa de melhoramento da Embrapa Acre. As amostras foram colhidas nos períodos de dezembro de 2010 a abril de 2011, janeiro de 2013 na época das águas e julho de 2012 e 2013 na época da seca, todas cortadas a 2 cm da superfície do solo. Na segunda etapa, foram consideradas as mesmas amostras da primeira etapa e incluídas mais 512 amostras de planta inteira, totalizando 924, compondo um banco de dados mais robusto. As 512 amostras foram colhidas em 2016, nos meses de janeiro e março, época das águas, e julho e setembro, época da seca. As amostras foram pré-secas em estufa de circulação de ar forçado a 55 °C durante 72 horas, trituradas em moinhos de facas tipo Willey com peneira de 1 milímetro e armazenadas em ambiente com temperatura de aproximadamente 20 °C, em sacos plásticos selados a vácuo, até a leitura dos espectros NIR e análises físico-químicas pelos métodos de referência.

Aquisição dos espectros

Os dados espectrais foram colhidos em um equipamento de infravermelho próximo NIRS FOSS DS2500 (FOSS Analytical SA, DK 3400 Hillerød, Dinamarca) por meio dos softwares ISIScan™ Nova v.6.0 (ISI Software, FOSS Analytical AB, Hoganas, Suécia), WinISI v.4.5.0 e Mosaic Solo. Cerca de 2 g de amostras homogêneas foram colocadas em cápsulas de janela de quartzo com 3,8 cm de diâmetro interno para a leitura espectral no modo de reflectância. Foram realizadas varreduras espectrais na faixa de

comprimento de onda de 1100 nm a 2499 nm, a cada 1 nm, e média de 32 varreduras para cada amostra. A absorbância espectral foi registrada como o logaritmo do inverso da reflectância ($A = \text{Log } 1 / R$).

Análises de referência

O teor de MS das amostras foi determinado por meio de secagem a $105 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ por 12 horas (Association of Official Analytical Chemists, 1996). A análise sequencial de FDN, FDA e ADL da amostra foi realizada em 0,5 g de amostras que foi adicionado em uma bolsa de filtro ANKOM F57 (Van Soest et al., 1991; Mertens, 2002). Para a análise de FDN e FDA, as amostras foram digeridas em um analisador automático de fibras ANKOM 2000 (ANKOM Tech. Corp., Fairport, NY, EUA) usando solução detergente neutro pH 6,9–7,1 sem α -amilase e solução detergente ácida $1,0 \text{ Mol L}^{-1}$ de H_2SO_4 , sequencialmente. A determinação de ADL foi realizada em seguida pela adição do resíduo de FDA em solução de H_2SO_4 $12,0 \text{ Mol L}^{-1}$ em um béquer com agitação manual intermitente por 3 horas. A concentração de nitrogênio (N) foi determinada pelo método de Kjeldahl (Association of Official Analytical Chemists, 1990), em um sistema de digestão-destilação Micro-Kjeldahl, e a PB foi estimada pela multiplicação do teor de N encontrado na amostra pelo fator 6,25. A DIVMS foi determinada via fermentação ruminal por 48 horas e $39 \text{ }^\circ\text{C}$ em um sistema de incubadora in vitro ANKOM Daisy II usando o procedimento descrito por Tilley e Terry (1963), com modificação por Goering e Van Soest (1970). Todos os resultados foram expressos em % de MS. A HEM foi estimada subtraindo o FDA do FDN e a CEL subtraindo a ADL do FDA, de acordo com Van Soest e Wine (1968).

Análise quimiométrica

O pré-tratamento dos dados espectrais brutos (Figuras 1 e 3) foi utilizado para minimizar os efeitos associados à dispersão da radiação, devido a diferenças no tamanho das partículas, remoção do ruído, aumento das bandas de absorção fracas e afinação dos picos da banda de onda para diminuir a sobreposição. Os pré-tratamentos testados incluíram correção de dispersão multiplicativa (MSC) (Rodrigues et al., 2008) seguida da 1ª derivada de Savitzky Golay (SG), com polinômio de primeira ordem e janelas

de 11 pontos (Rorabacher, 1991) – MSC+SG (Figuras 2 e 4). As principais vantagens das derivadas em relação às bandas de absorvância originais são uma linha de base zero bem definida, assim como bandas mais estreitas, o que facilita o retorno de dados de referência a bandas que são menos influenciadas pela interferência nos espectros (Hopkins, 2016).

Análises de componentes principais (PCAs) foram realizadas com o objetivo de identificar possíveis *outliers* na matriz original de dados e na matriz transformada com MSC+SG. O método utilizado foi o de validação cruzada, aleatório, com modelo completo e 10 componentes principais. Para identificação de possíveis *outliers*, foi utilizada a Elipse T² de Hotelling.

Após identificação e retirada das amostras *outliers*, foram selecionados grupos de calibração, validação e predição, na proporção de 50%, 25% e 25% das amostras, respectivamente. O grupo de amostras para calibração foi selecionado de forma aleatória ou por meio da ferramenta de amostras uniformemente distribuídas – mínimo e máximo (mín./máx.) do software Unscrambler®, versão 9.8 (CAMO S.A.). Já os grupos de amostras para validação e predição foram selecionados de forma aleatória. Na etapa 1 foram, então, utilizadas 206 amostras para calibração, 103 para validação e 103 para predição. Na etapa 2 foram utilizadas 461 amostras para calibração, 230 para validação e 230 para predição.

Foram realizadas regressões por quadrados mínimos parciais (PLS) tendo como variáveis independentes os resultados das análises de referência e como dependentes as respostas espectrais no intervalo do espectro de 1100 nm a 2499 nm, com resolução de 1 nm. As regressões por PLS foram realizadas com resultados centrados na média e as análises PCA com no máximo 10 componentes, com o grupo de calibração selecionado previamente e utilizando o algoritmo NIPALS. Para a validação externa, foi utilizado o método TestSet, com o grupo de validação também selecionado previamente.

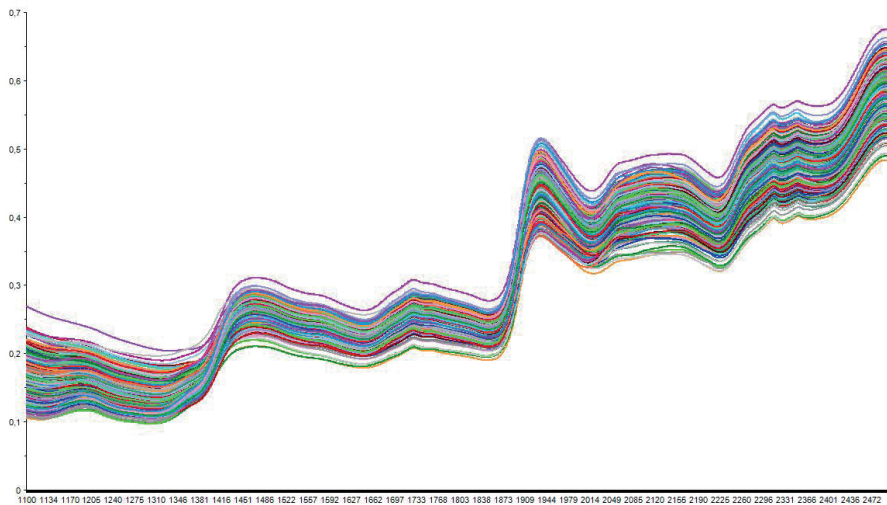


Figura 1. Espectros originais de 412 amostras de *Arachis pinto* usadas na etapa 1 de construção dos modelos de calibração NIR-PLS.

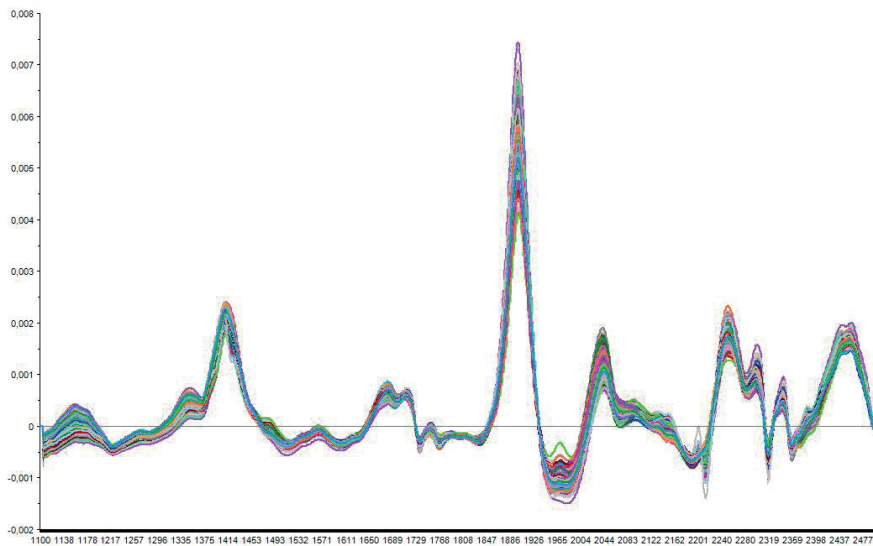


Figura 2. Espectros de 412 amostras de *Arachis pinto* com pré-tratamento MSC+SG usadas na etapa 1 de construção dos modelos de calibração NIR-PLS.

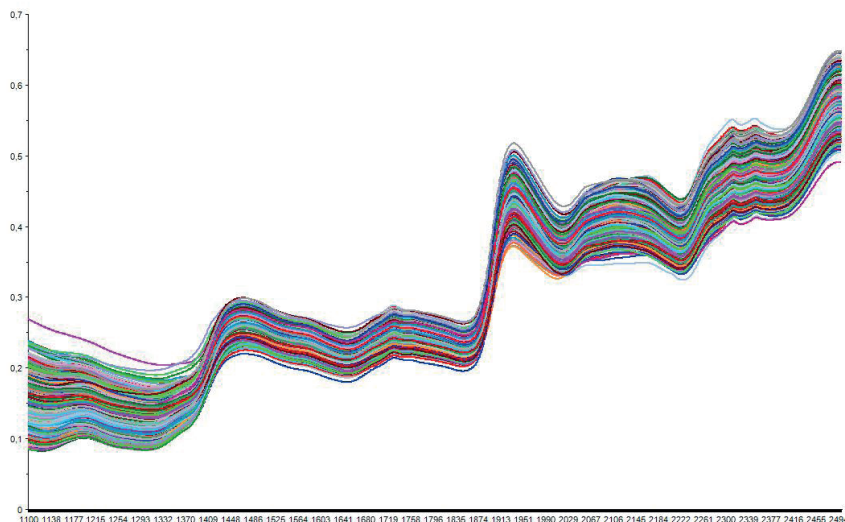


Figura 3. Espectros originais de 924 amostras de *Arachis pinto* usadas na etapa 2 de construção dos modelos de calibração NIR-PLS.

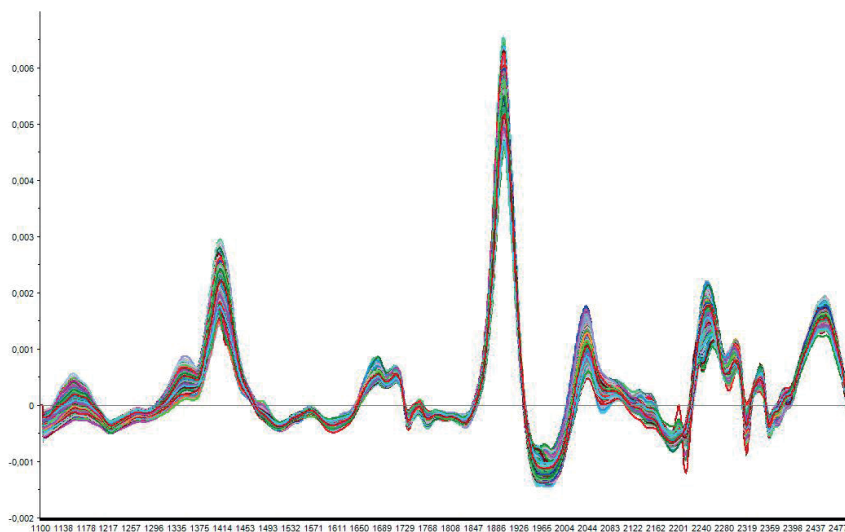


Figura 4. Espectros de 924 amostras de *Arachis pinto* com pré-tratamento MSC+SG usadas na etapa 2 de construção dos modelos de calibração NIR-PLS.

Os modelos de calibração foram avaliados com base no maior valor do coeficiente de determinação (R^2) para calibração, que é a proporção da variação explicada pelo modelo, no erro padrão da calibração (SEC), que mede a dispersão das amostras de calibração ao redor da linha de regressão, e o erro padrão da validação externa (SEP), que mede a dispersão das amostras do conjunto de validação ao redor da linha de regressão. A qualidade dos modelos desenvolvidos foi avaliada com base no menor SEC e similaridade entre as estatísticas dos dados previstos e daqueles dos métodos de referência. O melhor modelo de calibração para cada característica foi, então, escolhido pela melhor combinação: a) modelos com menor SEC e maior R^2 ; b) validação com o menor SEP, maior R^2 e inclinação mais próxima de 1,0; c) menor diferença entre SEC e SEP; e d) maiores coeficientes de correlação (r) e similares entre a calibração e validação.

Na primeira etapa foram testados 35 modelos. Dessa forma, foi desenvolvido para cada característica bromatológica um modelo para todas as matrizes geradas, de acordo com a seleção dos grupos de calibração, validação e predição. Adicionalmente, foram feitas calibrações para PB, FDA e LIG, considerando os intervalos de espectros correspondentes aos picos em que são absorvidos determinados grupos químicos. Para PB, foi considerado o intervalo de espectros entre 1852 nm e 2252 nm, que corresponde ao pico de 2052 nm, em que é absorvido o grupo amida (Font et al., 2003), com 200 nm a mais e a menos de garantia. Para a FDA, foi considerado o intervalo de espectros entre 2108 nm e 2499 nm, que corresponde ao pico de 2308 nm (Font et al., 2003), com 200 nm a menos de garantia e o limite de leitura do equipamento que é de 2499 nm. Já para a LIG, foi considerado o intervalo de espectros entre 1240 nm e 2140 nm, que corresponde aos picos de 1440 nm e 1940 nm, em que é absorvido o grupo O-H (Creaser; Davies, 1988) com 200 nm a mais de garantia.

Na segunda etapa foi considerado o banco de dados mais robusto, contendo 924 amostras, sendo testados mais 35 modelos, utilizando a mesma metodologia descrita para a primeira etapa.

Foi feito um segundo teste dos modelos de calibração desenvolvidos e validados nas etapas anteriores, para cada característica bromatológica, por meio da predição de mais 25% das amostras restantes (conjunto de teste)

que ainda não haviam sido utilizadas no processo de calibração. A qualidade dessas estimativas foi avaliada comparando os resultados preditos com os de referência de laboratório.

Resultados e Discussão

Para definição das matrizes utilizadas no processo de calibração, foram considerados os maiores valores encontrados nos primeiros componentes principais, que correspondem às maiores variações dos dados explicadas pelos componentes. Na etapa 1, as análises de PCA, após a retirada de *outliers* baseados na Elipse de Hotelling, resultaram em menores variações explicadas pelos componentes (PCAs 1.2 e 1.4 da Tabela 1). Assim, duas matrizes foram selecionadas com base na somatória das variâncias explicadas dos três primeiros PCs, com valores de 99% e 90%, respectivamente. A primeira matriz selecionada foi com os dados espectrais originais (sem pré-tratamento) e, a segunda, com os dados transformados com MSC e SG, ambas sem exclusão de *outliers* (PCAs 1.1 e 1.3 da Tabela 1). Em função do modelo selecionado para predição de FDN não ter apresentado resultados consistentes, realizou-se uma segunda etapa de análises, adicionando 512 amostras no banco de dados inicial, totalizando 924 amostras para a etapa 2.

Na etapa 2, de forma similar, as análises sem os *outliers* também fizeram com que as variações explicadas fossem menores (PCAs 1.6 e 1.8 da Tabela 1). As duas matrizes que foram selecionadas, uma com os dados originais e a outra com os dados transformados com MSC e SG, obtiveram a maior somatória de seus três primeiros PCs, com valores de 98% e 86%, respectivamente, e não tiveram também nenhuma amostra considerada *outliers* excluída (PCAs 1.5 e 1.7 da Tabela 1). Portanto, nessa fase não se identificaram *outliers* e as quatro matrizes de dados, acima relatadas, foram utilizadas para todas as 70 calibrações estudadas nas duas etapas.

A Tabela 2 mostra as concentrações das características de qualidade analisadas por meio dos métodos de referência. Os resultados revelaram amplas faixas de variação para as concentrações de MS, PB, DIVMS, FDN, FDA, HEM, CEL e ADL tanto para o conjunto de amostras da etapa 1 como da etapa 2. Essa ampla variação nas concentrações das características de

qualidade foi consistente com a variabilidade das amostras, uma vez que vieram de diferentes experimentos de avaliações de genótipos e populações de plantas, diferentes condições climáticas ao longo de 4 anos, bem como diferentes épocas de colheita. Essa amplitude de variabilidade é importante tanto para o processo de calibração, para representar o universo a ser previsto pelos modelos NIRS, quanto para o programa de melhoramento, que potencialmente pode obter ganhos de qualidade de forragem a partir da seleção. Resultado semelhante para amendoim forrageiro foi relatado por diversos autores: MS (Ladeira et al., 2002; Barcellos et al., 2008), PB (Gobbi et al., 2010; Ferreira et al.; Piazzani et al., 2012; Azevedo-Júnior et al., 2013; Koppelman et al., 2016), FDN e FDA (Ferreira et al., 2012; Paulino et al., 2012; Piazzani et al., 2012; Azevedo-Júnior et al., 2013), celulose (Silva et al., 2009; Ferreira et al., 2012), hemicelulose (Ladeira et al., 2002; Barcellos et al., 2008), lignina (Ladeira et al., 2002; Barcellos et al., 2008; Gobbi et al., 2010; Paulino et al., 2012) e DIVMS (Fernandes et al., 2003; Lima et al., 2003; Espíndola et al., 2006; Gobbi et al., 2010 e Ferreira et al., 2012).

Tabela 1. Análise dos componentes principais (PCA) para as matrizes de *Arachis pintoi*, nas duas etapas de calibração, considerando o intervalo de espectro NIR de 1100 nm a 2499 nm.

PCA	Transformação	Amostra	n	PC1 ⁽¹⁾	PC2	PC3	PC4	$\sum_{i=1}^3 PCi$
Etapa 1								
1.1	Nenhuma	Todas	412	74	21	4	1	99
1.2	Nenhuma	Sem 21 <i>outliers</i>	391	73	21	5	1	99
1.3	MSC+SG ⁽²⁾	Todas	412	59	24	7	4	90
1.4	MSC+SG	Sem 32 <i>outliers</i>	380	52	28	9	4	89
Etapa 2								
1.5	Nenhuma	Todas	922	68	26	4	1	98
1.6	Nenhuma	Sem 37 <i>outliers</i>	885	65	29	5	1	99
1.7	MSC+SG	Todas	922	49	28	9	5	86
1.8	MSC+SG	Sem 38 <i>outliers</i>	884	39	22	21	8	82

⁽¹⁾PC1 a PC4 = 1º ao 4º principal componente. ⁽²⁾MSC = Correção de dispersão multiplicativa. SG = 1ª derivada de Savitzky Golay.

Tabela 2. Concentrações médias, erro padrão associado (SD), máximo e mínimo em % (máx./mín.) de MS, PB, DIVMS, FDN, FDA, HEM, CEL e ADL de amostras de *Arachis pintoi* para as etapas 1 e 2, respectivamente, utilizadas para o desenvolvimento dos modelos de regressão usando dados de espectroscopia no infravermelho próximo.

Característica ⁽¹⁾	Calibração					Validação				
	n	Média	±SD	máx.	mín.	n	Média	±SD	máx.	mín.
Etapa 1										
MS	191	90,6	1,5	94,1	87,7	96	90,7	1,6	94,1	87,6
PB	191	22,7	2,2	26,9	16,9	96	22,5	2,3	27,8	17,8
DIVMS	178	64,5	7,9	85,9	44,8	98	66,1	7,2	82,0	48,8
FDN	197	46,5	4,3	58,9	36,1	98	47,0	4,1	55,2	36,5
FDA	197	28,3	4,9	41,1	20,1	98	29,5	5,0	40,9	19,9
HEM	197	18,0	4,4	30,0	10,1	98	17,8	4,2	27,3	10,4
CEL	191	15,4	3,7	23,9	9,8	96	15,1	3,6	23,4	9,6
ADL	178	9,8	2,5	15,7	4,3	98	9,1	2,1	14,8	4,3
Etapa 2										
MS	442	90,9	3,2	105,9 ⁽²⁾	81,7	221	91,5	3,1	99,5	81,8
PB	443	21,6	3,2	27,9	12,0	221	21,3	3,4	31,8	12,6
DIVMS	442	69,0	5,4	81,9	47,9	221	68,8	5,5	79,3	49,5
FDN	443	50,3	6,2	70,7	36,1	221	51,9	6,5	69,4	36,2
FDA	443	29,3	4,3	41,1	19,9	221	29,8	4,3	40,9	20,7
HEM	442	21,2	5,0	35,6	9,7	221	21,1	4,8	34,4	9,7
CEL	443	16,5	3,5	32,8	9,6	221	16,6	3,1	23,5	10,0
ADL	442	8,2	2,2	16,3	2,1	221	8,4	2,3	16,3	4,5

⁽¹⁾MS = Matéria seca da amostra. PB = Proteína bruta. DIVMS = Digestibilidade in vitro da matéria seca. FDN = Fibra detergente neutro. FDA = Fibra detergente ácido. HEM = Hemicelulose. CEL = Celulose. ADL = Lignina detergente ácido.

⁽²⁾Amostra com erro analítico, sendo o máximo sem erro 96,01%.

Os valores das médias, desvios-padrões e de amplitudes de variação foram bastante semelhantes para o conjunto de amostras para calibração e o conjunto de amostras externas para validação, de acordo com a norma E1655-05 (2012). Essa semelhança é esperada e imprescindível ao desenvolvimento de modelos de calibrações robustos para predição de qualidade das amostras.

Na Tabela 3 são relatadas as estatísticas de calibração e validação apenas para os modelos de calibração selecionados para cada propriedade bromatológica, dentre as 35 avaliadas em cada etapa. As matrizes sem nenhuma transformação proporcionaram as melhores calibrações para as características DIVMS, FDN, FDA, HEM e ADL na etapa 1 e PB, FDN, FDA e CEL na etapa 2. As matrizes com transformação MSC+SG proporcionaram as melhores calibrações para MS, PB e CEL na etapa 1 e MS, DIVMS, HEM e ADL na etapa 2. A seleção das amostras de calibração foi aleatória para todas as características e etapas, excetuando-se a DIVMS e ADL na etapa 1, que foi feita usando a seleção mín./máx. A região do espectro proporcionou as melhores calibrações que foram de 1100 nm a 2499 nm para todas as características e etapas, excetuando-se PB e ADL na etapa 1 que foram de 1852 nm a 2252 nm e de 1240 nm a 2140 nm, respectivamente.

O melhor modelo para cada característica analisada foi aquele que forneceu o maior valor de R^2 , o menor valor SEC e valores entre SEC e SEP mais próximos possíveis. O bias, que representa a diferença sistemática média entre os valores previstos e os de referência, foi muito baixo para a maioria das características nas duas etapas e variou de -0,68% a 1,87%. A porcentagem de *outliers* excluídos das calibrações individuais, também utilizando a Elipse de Hotelling, variou de 4,5% a 17,1% na etapa 1 e de 4,3% a 4,5% na etapa 2 para o conjunto de amostras de calibração. Já para o conjunto de amostras de validação, variou de 5,1% a 7,1% na etapa 1 e foi 4,5% para todas as características na etapa 2. Em geral, as quantidades de amostras consideradas como *outliers* foram baixas, ficando acima dos 10% somente nas características DIVMS e ADL na etapa 1. Na etapa 2, além de um menor número de amostras *outliers*, abaixo de 4,5% para todas as características, houve uma melhor consistência e menor amplitude de variação para todos os modelos de calibração.

Tabela 3. Estatísticas obtidas para o conjunto de amostras de calibração e validação do melhor modelo de regressão para cada uma das características de qualidade de *Arachis pintoi* nas duas etapas estudadas.

Característica	n ⁽¹⁾	R ²	r	Calibração				Validação								
				SEC	Bias	Slope	Offset	Out	n	R ²	r	SEP	Bias	Slope	Offset	Out
Etapa 1																
MS	191	0,58	0,76	0,97	0,00	0,58	38,41	15	96	0,68	0,83	0,90	0,03	0,61	35,43	7
PB	191	0,71	0,84	1,17	0,00	0,71	6,59	15	96	0,69	0,84	1,26	0,25	0,65	8,15	7
DIVMS	176	0,64	0,80	4,74	0,00	0,64	23,12	30	98	0,49	0,69	5,23	-0,43	0,48	33,73	5
FDN	197	0,42	0,65	3,30	0,00	0,42	26,90	9	98	0,31	0,55	3,41	0,27	0,34	31,06	5
FDA	197	0,70	0,84	2,67	0,00	0,70	8,47	9	98	0,69	0,82	2,88	-0,20	0,69	8,81	5
HEM	197	0,52	0,72	3,02	0,00	0,52	8,69	9	98	0,51	0,72	2,90	-0,25	0,55	7,83	5
CEL	191	0,69	0,83	2,05	0,00	0,69	4,74	15	96	0,59	0,77	2,32	0,25	0,58	6,50	7
ADL	176	0,70	0,84	1,37	0,00	0,70	2,96	30	98	0,47	0,66	1,61	0,29	0,54	4,47	5

Continua...

Tabela 3. Continuação.

Característica	n ⁽¹⁾	R ²	r	Calibração				Validação								
				SEC	Bias	Slope	Offset	Out	SEP	Bias	Slope	Offset	Out			
Etapa 2																
MS	442	0,57	0,76	2,09	0,00	0,57	38,76	20	221	0,56	0,75	2,08	-0,22	0,58	38,34	10
PB	443	0,79	0,89	1,46	0,00	0,79	4,45	19	221	0,80	0,90	1,50	0,07	0,76	5,26	10
DIVMS	442	0,68	0,83	3,06	0,00	0,68	21,85	20	221	0,68	0,83	3,13	0,01	0,74	17,85	10
FDN	443	0,60	0,77	3,92	0,00	0,60	20,28	19	221	0,58	0,75	4,26	-0,68	0,57	21,60	10
FDA	443	0,67	0,82	2,45	0,00	0,67	9,64	19	221	0,63	0,79	2,62	-0,28	0,64	10,47	10
HEM	442	0,62	0,79	3,07	0,00	0,62	8,07	20	221	0,58	0,77	3,09	-0,19	0,65	7,12	10
CEL	443	0,65	0,81	2,04	0,00	0,65	5,75	19	221	0,64	0,81	1,87	1,87	0,73	4,46	10
ADL	442	0,69	0,83	1,24	0,00	0,69	2,54	20	221	0,73	0,85	1,21	-0,04	0,72	2,34	10

⁽¹⁾n = Número de amostras. R² = Coeficiente de determinação. r = Correlação. SEC = Erro padrão da calibração. Bias = Diferença sistemática entre os valores previstos e de referência. Slope = Declividade da regressão. Offset = Valor de predição no eixo y. Out = Outliers. SEP = Erro padrão da validação. MS = % de matéria seca da amostra. PB = % de proteína bruta. DIVMS = % de digestibilidade in vitro da matéria seca. FDN = % de fibra detergente neutro. FDA = % de fibra detergente ácido. HEM = % de hemicelulose. CEL = % de celulose. ADL = % de lignina detergente ácido.

As estatísticas finais para os modelos PLS apontaram que os ajustes das calibrações foram de baixos a moderados e a quantidade de variabilidade explicada pelos modelos (R^2) variou de 0,42 para FDN a 0,71 para PB na etapa 1 e de 0,57 para MS a 0,79 para PB na etapa 2. A magnitude desses valores sugere que os modelos podem ser utilizados para triagem de amostras em um programa de seleção, no qual são escolhidos grupos de indivíduos com características semelhantes, sendo contraindicados para predições que necessitam de resultados mais precisos.

Os ajustes foram mais robustos e consistentes entre a calibração e validação na etapa 2, quando se utilizou um maior número de amostras (Tabela 3). Os ajustes dos modelos de validação tiveram comportamentos similares aos da calibração, mostrando consistência entre os dois conjuntos de amostras para todos os modelos desenvolvidos. Os valores de R^2 e SEC foram, respectivamente, 0,79 e 1,46 para PB, 0,69 e 1,24 para LIG, 0,68 e 3,06 para DIVMS, 0,67 e 2,45 para FDA, 0,65 e 2,04 para CEL, 0,62 e 3,07 para HEM e 0,60 e 3,92 para FDN. Apenas as características MS e FDA tiveram ajustes de calibração menores na etapa 2, com valores respectivos de R^2 de 0,57 e 0,67 (etapa 2) e 0,58 e 0,70 (etapa 1). Por outro lado, esses valores entre a etapa 1 e 2 foram muito próximos, sugerindo a escolha de qualquer um dos dois modelos. A mesma tendência de melhor ajuste na etapa 2 foi observada nas estatísticas de validação dos modelos. A inclinação das retas (*Slope*) e o intercepto (*Offset*), tanto para calibração quanto para validação, tiveram os melhores valores também na etapa 2, confirmando a tendência de uma melhor calibração. As correlações (r) entre os resultados das análises de referência e os resultados de predição foram, em grande parte, maiores na etapa 2 (Tabela 3), variando de média a alta, com valores de 0,75 a 0,90 e reforçando a adequação dos modelos para triagem de genótipos em um programa de seleção.

A quantidade de amostras utilizada em um programa de melhoramento de forragem é muito alta, o que geralmente inviabiliza as análises via úmida, principalmente por causa da grande quantidade de recursos materiais e humanos envolvidos. Devido a isso, os modelos de calibração desenvolvidos, mesmo sendo de ajustes moderados, têm condições de serem usados para seleção de genótipos ou grupos de genótipos com qualidades distintas.

Na Tabela 4 são descritas as comparações, para cada atributo de qualidade, dos resultados preditos e de referência no segundo teste dos modelos, feitos com as 231 amostras referentes aos 25% das que ainda não haviam sido utilizadas no processo de calibração. A média e respectivo desvio-padrão foram bastante similares entre a predição e a referência para cada característica de qualidade estudada. A amplitude entre o máximo e o mínimo foi alta e similar, indicando que os modelos foram capazes de captar a variação total contida nessa amostragem. Importante observar que essa amostragem também foi representativa da população de amostras, uma vez que os valores médios, de máxima e de mínima, obtidos de predição e de referência (Tabela 4) foram muito próximos aos valores obtidos de calibração e de validação dos modelos (Tabela 2). Olivo et al. (2010) relataram valores similares para as características preditas em NIRS para PB, FDN e FDA.

As correlações entre os dois métodos variaram de 0,66 a 0,84 (Tabela 4), confirmando os resultados das calibrações da etapa 2, que variaram de moderada a alta. As melhores correlações foram para PB e ADL, acima de 0,80, justamente duas características importantes no processo de seleção de genótipos superiores. Esses resultados sustentam mais uma vez a possibilidade de utilização dos modelos.

Tabela 4. Comparação entre valores médios, erro padrão associado (SD), máximos e mínimos preditos via modelos da segunda etapa e dos resultados de referência de laboratório para o segundo grupo de 25% das amostras selecionadas.

Característica ⁽¹⁾	r	Predição				Valor de referência			
		Média	máx.	mín.	±SD	Média	máx.	mín.	±SD
MS	0,67	91,42	99,47	82,23	2,87	91,00	96,94	84,91	2,24
PB	0,84	21,96	27,80	10,76	2,99	22,05	30,29	15,43	2,56
DIVMS	0,76	68,82	85,81	49,03	5,14	68,54	77,08	54,39	4,14
FDN	0,66	50,73	67,62	36,53	6,23	50,54	60,98	38,97	5,04
FDA	0,76	29,53	40,60	20,05	4,25	29,50	36,87	22,06	3,52
HEM	0,75	20,91	33,58	10,38	4,78	20,94	27,92	10,31	3,88
CEL	0,77	16,86	24,21	10,14	3,34	16,75	21,90	10,34	2,94
ADL	0,80	8,27	17,03	4,14	2,11	8,23	15,40	5,22	1,77

⁽¹⁾MS = % de matéria seca da amostra. PB = % de proteína bruta. DIVMS = % de digestibilidade in vitro da matéria seca. FDN = % de fibra detergente neutro. FDA = % de fibra detergente ácido. HEM = % de hemicelulose. CEL = % de celulose. ADL = % de lignina detergente ácido.

Conclusões

Os modelos de calibração desenvolvidos para as características de qualidade do amendoim forrageiro podem ser utilizados para triagem de materiais superiores no programa de melhoramento da espécie. Os melhores resultados foram obtidos para os componentes PB e ADL, seguidos de CEL, FDA e DIVMS, quando se utilizou um total de 639 amostras para o processo de calibração. Os modelos de calibração obtidos não foram suficientemente ajustados para predições muito precisas, porém, os custos associados à seleção de um grande número de amostras com base em análises de referência mais do que justifica a utilização dos modelos desenvolvidos em um programa de seleção de materiais com qualidade superior.

Agradecimentos

Os autores agradecem aos assistentes da Embrapa Acre Francisco Álvaro Viana Felisberto, Sebastião Rodrigues de Oliveira e Elson Alves da Silva pelo apoio na realização das análises físico-químicas. Este trabalho contou com o apoio financeiro do Consórcio Embrapa-Unipasto.

Referências

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 15th ed. Arlington, VA, 1990. Vol. 2.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. Arlington, VA. 1996.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **Annual Book of ASTM Standards, Standard Practices for Infrared Multivariate Quantitative Analysis – E1655-05**. West Conshohocken, Pennsylvania, 2012.

AZEVEDO-JÚNIOR, R. L.; OLIVO, C. J.; MARQUES-DE-BEM, C. M.; AGUIRRE, P. F.; QUATRIN, M. P.; ÁVILA, S. C. Nutritional value and chemical composition of pastures of peanut forage or red clover. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 35, n. 1, p. 57-62, jan./mar. 2013.

BARCELLOS, A. O.; RAMOS, A. K. B.; VILELA, L.; MARTHA JÚNIOR, G. B. Sustentabilidade da produção animal baseada em pastagens consorciadas e no emprego de leguminosas exclusivas, na forma de banco de proteína, nos trópicos brasileiros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 51-67, jul. 2008. Suplemento especial.

CREASER, C. S.; DAVIES, A. M. C. **Analytical Applications of Spectroscopy**. London, UK: Royal Society of Chemistry, 1988. 502 p.

ESPÍNDOLA, J. A. A.; GUERRA, J. G. M.; ALMEIDA, D. L. de; TEIXEIRA, M. G.; URQUIAGA, S. Decomposição e liberação de nutrientes acumulados em leguminosas herbáceas perenes consorciadas com bananeira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, n. 2, p. 321-328, mar./abr. 2006.

FERNANDES, F. D.; CARVALHO, M. A.; ANDRADE, R. P.; KARIA, C. T.; RAMOS, A. K. B.; GOMES, A. C.; SOUZA, M. A. **Avaliação agrônômica de acessos de *Arachis spp.* em Planaltina/DF**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2003. 13 p. (Embrapa Cerrados. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 108).

FERREIRA, A. L.; MAURÍCIO, R. M.; PEREIRA, L. G. R.; AZEVÉDO, J. A. G.; OLIVEIRA, L. S.; PEREIRA, J. M. Nutritional divergence in genotypes of forage peanut. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 41, n. 4, p. 856-863, abr. 2012.

FONT, R.; DEL-RIAO, M.; FERNANDEZ, J. M.; HARO, A. Acid detergent fiber analysis in oilseed brassicas by Near-Infrared Spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 10, p. 2917-2922, May 2003.

GOERING, H. K.; VAN SOEST, P. J. **Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures, and some applications)**. Washington, D. C.: USDA. Agricultural Research Service, 1970. 20 p. (USDA. Agriculture Handbook, 379). Disponível em: <https://naldc.nal.usda.gov/download/CAT87209099/PDF>. Acesso em: 15 abr. 2019.

GOBBI, K. F.; GARCIA, R.; GARCEZ NETO, A. F.; PEREIRA, O. G.; ROCHA, G. C. Valor nutritivo do capim braquiária e do amendoim forrageiro submetidos ao sombreamento. **Archivos de Zootecnia**, v. 59, n. 227, p. 379-390, 2010.

HOPKINS, D. W. Revisiting the Norris Derivative Quotient Math in Regression. **NIR News**, v. 27, n. 7, p. 23-28, Oct. 2016.

KOPPELMAN, S. J.; JAYASENA, S.; LUYKX, D.; SCHEPENS, E.; APOSTOLOVIC, D.; JONG, G. A. H.; ISLEIB, T. G.; NORDELEE, J.; BAUMERT, J.; TAYLOR, S. L.; CHENG, H.; MALEKI, S. Allergenicity attributes of different peanut market types. **Food and Chemical Toxicology**, v. 91, p. 82-90, May 2016.

- LADEIRA, M. M.; RODRIGUEZ, N. M.; BORGES, I.; GOLÇALVES, L. C.; SALIBA, E. O. S.; BRITO, S. C.; SÁ, L. A. P. de. Avaliação do feno de *Arachis pinto* utilizando o ensaio de digestibilidade in vivo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 6, p. 2350-2356, 2002.
- LIMA, J. A.; PINTO, J. C.; EVANGELISTA, A. R.; SANTANA, R. A. V. **Amendoim forrageiro (*Arachis pinto* Krapov. & Greg)**. Lavras: UFLA: CNPq, 2003. 18 p.
- MARTEN, G. C.; SHENK, J. S.; BARTON, F. E. **Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS): analysis of forage quality**. Washington, D.C.: USDA. Agricultural Research Service, 1985. 112 p. (USDA. Agriculture Handbook, 643).
- MERTENS, D. R. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study. **Journal of Association of Chemistry International**, v. 85, n. 6, p. 1217-1240, Nov./Dec. 2002.
- OLIVO, C. J.; STEINWANDTER, E.; AGNOLIN, C. A.; MEINERZ, G. R.; SANTOS, J. C.; MARQUES-DE-BEM, C.; AGUIRRE, P. F.; MACHADO, P. R.; ARAÚJO, T. L. R. Contribuição dos componentes e composição química de pastagens em sistemas forrageiros constituídos por diferentes leguminosas. **Ciência Rural**, v. 40, n. 12, p. 2534-2540, dez. 2010.
- PAULINO, V. T.; BUENO, M. S.; ABDALLA, A. L. Composição química e compostos fenólicos em *Arachis pinto* 'Belmonte'. **Archivos de Zootecnia**, v. 61, n. 236, p. 611-614, dic. 2012.
- PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MCMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Sciences Discussions**, v. 4, n. 2, p. 439-473, 2007.
- PIAZZANI, R.; SCHAEFER, P. E.; LOVATO, T.; LUDWIG, R. L.; GOULART, R. Z. Acúmulo de massa de forragem e parâmetros nutricionais do amendoim forrageiro e Tifton 85 em cultivo singular ou consórcio submetido ou não a adubação mineral. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 14, p. 23-32, 2012.
- RODRIGUES, L. O.; VIEIRA, L.; CARDOSO, J. P.; MENEZES, J. C. The use of NIR as a multi-parametric in situ monitoring technique in filamentous fermentation systems. **Talanta**, v. 75, n. 5, p. 1356-1361, June 2008.
- RORABACHER, D. B. Statistical treatment for rejection of deviant values: critical values of Dixon's "Q" parameter and related subrange ratios at the 95% confidence level. **Analytical Chemistry**, v. 63, n. 2, 139-146, Jan. 1991.

SANTOS, E. C. **Características agrônômicas e bromatológicas de amendoim forrageiro em diferentes intervalos de corte**. 2012. 96 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal do Acre, Rio Branco.

SILVA, V. P.; ALMEIDA, F. Q.; ALMEIDA, F. Q.; MORGADO, E. S.; FRANÇA, A. B.; VENTURA, H. T.; RODRIGUES, L. M. Digestibilidade dos nutrientes de alimentos volumosos determinada pela técnica dos sacos móveis em equinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 1, p. 82-89, 2009.

TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. **Grass and Forage Science**, v. 18, n. 2, p. 104-111, June 1963.

VALENTIM, J. F.; ANDRADE, C. M. S. de; FEITOZA, J. E.; SALES, M. G.; VAZ, F. A. **Métodos de introdução do amendoim forrageiro em pastagens já estabelecidas no Acre**. Rio Branco, AC: Embrapa Acre, 2002. 6 p. (Embrapa Acre. Comunicado Técnico, 152).

VAN SOEST, P. J.; WINE, R. H. Determination of lignina and cellulose in acid-detergent fiber with permangante. **Journal of Association of Official Analytical Chemists**, v. 51, n. 4, p. 780-785, July 1968.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

Embrapa

Acre

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



PÁTRIA AMADA
BRASIL
GOVERNO FEDERAL