

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE – UNICENTRO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA APLICADA - PPGQ

PATRICIA APARECIDA CUCCHI

IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES EM ESPÉCIES DE MYRTACEAE POR  
MEIO DE ESPECTROSCOPIA, ANÁLISE DE IMAGENS E QUIMIOMETRIA

GUARAPUAVA-PR

2020

PATRICIA APARECIDA CUCCHI

IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES EM ESPÉCIES DE MYRTACEAE POR  
MEIO DE ESPECTROSCOPIA, ANÁLISE DE IMAGENS E QUIMIOMETRIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Setor de Ciências Exatas e Tecnologia, Departamento de Química da Universidade Estadual do Centro Oeste, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em química analítica.

Orientador: Prof. Dr Vanderlei Aparecido de Lima

Coorientadora: Prof. Dr<sup>a</sup> Patrícia Carla Giloni de Lima

GUARAPUAVA- PR

2020

Catálogo na Publicação  
Rede de Bibliotecas da Unicentro

C963i Cucchi, Patricia Aparecida  
Identificação de marcadores em espécies de Myrtaceae por meio de espectroscopia, análise de imagens e quimiometria / Patricia Aparecida Cucchi. -- Guarapuava, 2020.  
xiv, 118 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada, 2020.

Orientador: Vanderlei Aparecido de Lima  
Coorientadora: Patrícia Carla Giloni de Lima  
Banca examinadora: Maria Lurdes Felsner, Sandro Xavier de Campos

Bibliografia

1. Aprendizado de máquina. 2. Araçá. 3. Cereja-do-rio-grande. 4. Fluorescência da clorofila. 5. FOM aluvial. 6. Guabiroba. 7. Pitanga. 8. Sete-capotes. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Química.

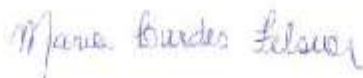
| CDD 542

**PATRICIA APARECIDA CUCCHI**

**IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES EM ESPÉCIES DE MYRTACEAE POR MEIO DE  
ESPECTROSCOPIA, ANÁLISE DE IMAGENS E QUIMIOMETRIA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Química, área de concentração em Química Aplicada, para a obtenção do título de Mestre.

Aprovado em 05 de agosto de 2020.



**Prof. Dr. Maria Lurdes Felsner - Unicentro**



**Prof. Dr. Sandro Xavier de Campos - UTFPR**



**Prof. Dr. Vanderlei Aparecido de Lima**

**Orientador**

**GUARAPUAVA-PR**

**2020**

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Professor Vanderlei, pela orientação, competência, profissionalismo, dedicação, pela confiança depositada e por não medir esforços para concretizar este trabalho.

À minha coorientadora, Professora Patrícia, por toda a ajuda durante este trabalho, pelos ensinamentos, por todas as dúvidas sanadas. Sua contribuição foi essencial para a realização da pesquisa.

À minha família, por serem meu porto seguro, pelo amor incondicional, por toda ajuda e suporte para chegar até o fim dessa etapa e também pela educação que me faz ser quem sou hoje.

Ao meu namorado, por todo o seu amor, carinho, admiração e paciência, por ter caminhado ao meu lado, por toda compreensão e ajuda durante o período da elaboração de minha dissertação.

Aos meus amigos, por sempre me apoiarem, pela atenção e força que prestaram em momentos não tão fáceis, nas trocas de conhecimento, mas acima de tudo, pela amizade.

Ao aluno do curso de Agrimensura da UTFPR de Pato Branco, Vinícius Ceccon, pela confecção dos mapas apresentados nessa dissertação.

À Universidade Estadual do Centro Oeste (UNICENTRO) e ao Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ) pela oportunidade de realização do curso.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Por fim, a todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização desta dissertação, o meu sincero agradecimento.

## RESUMO

Tendo em vista a importância da Quimiometria e a dificuldade de identificação de espécies de Myrtaceae, família com diversas espécies frutíferas, com alto potencial ornamental e econômico, o presente estudo objetivou classificar cinco espécies de Myrtaceae por meio de ferramentas quimiométricas e de aprendizado de máquina. Os teores de pigmentos fotossintéticos das espécies da família Myrtaceae foram estimados por meio de imagens, e posterior modelagem pelos algoritmos: Mínimos Quadrados Parciais (PLS), Floresta Randômica (FR), Rede Neural Artificial (RNA) e Máquina de Vetor de Suporte (SVM). As espécies analisadas foram: *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg, *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg, *Eugenia involucrata* DC., *Eugenia uniflora* L. e *Psidium cattleianum* Sabine, encontradas em um fragmento de Floresta Ombrófila Mista Aluvial (FOM), localizado no Campus CEDETEG da UNICENTRO, Guarapuava, PR. As análises de fluorescência da clorofila *a* por indução da cinética rápida ou transitória (curva OJIP) ocorreu *in situ*. As folhas das cinco espécies de Myrtaceae foram coletadas e seus pigmentos fotossintéticos foram extraídos e analisados por espectrofotometria UV-VIS. As imagens dos extratos de cada amostra foram obtidas com o auxílio de um *smartphone* e os tons de cinza foram analisados no *software* ChemoStat®, por meio do histograma de cor RGB. Os teores de pigmentos fotossintéticos foram modelados utilizando-se o *software* Weka 3.9, por modelos de regressão baseados nos algoritmos PLS e FR. As classificações das espécies também foram realizadas utilizando-se os algoritmos PLS, FR, RNA e SVM. Os teores de clorofila *a* (Chla) oscilaram entre 0,99 - 1,38 µg/mL, de clorofila *b* (Chlb) entre 0,34 - 0,67 µg/mL, clorofila total entre 1,38 - 2,11 µg/mL e os carotenoides entre 0,14 - 0,21 µg/mL, para as espécies analisadas. Os maiores teores de Chla, Chlb e clorofila total, foram observados na espécie *E. involucrata* e os menores teores na espécie *E. uniflora*. Os teores de carotenoides foram maiores na espécie *E. uniflora* e menores na espécie *C. guazumifolia*. A validação dos modelos ocorreu sempre por validação cruzada e por validação externa. Na validação cruzada, os hiperparâmetros de cada modelo foram ajustados e sempre observou-se que o algoritmo FR foi melhor que o algoritmo PLS para a modelagem dos teores de pigmentos das espécies de Myrtaceae e pelos seus histogramas RGB. A classificação por varredura espectrofotométrica foi avaliada pelos algoritmos RNA e SVM, que sempre apresentaram os melhores resultados para este tipo de modelagem. A espécie *E. uniflora* apresentou a maior emissão da fluorescência pela curva OJIP. A análise da impureza por FR selecionou 15 parâmetros de fluorescência que permitiram a classificação das espécies avaliadas. Os métodos empregados para modelagem foram eficientes para estimar as concentrações de pigmentos fotossintéticos, por histogramas de cor RGB e varredura espectroscópica por UV-VIS. As ferramentas quimiométricas, bem como as de aprendizado de máquina: PLS, FR, RNA e SVM foram importantes na classificação das espécies de Myrtaceae avaliadas nesta pesquisa. Os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* e os teores de pigmentos fotossintéticos presentes nas folhas das espécies avaliadas, podem ser utilizados como marcadores para diferenciação taxo-quimiométrica.

**Palavras-chave:** Aprendizado de máquina, araçá, cereja-do-rio-grande, Fluorescência da clorofila, FOM aluvial, guabiroba, pitanga, sete-capotes.

## ABSTRACT

Because of the importance of Chemometrics and the difficulty in identifying species of Myrtaceae, a family with several fructiferous species, with high ornamental and economic potential, the present study aimed to classify five species of Myrtaceae by chemometric tools and machine learning. The photosynthetic pigment contents of species of the Myrtaceae family were estimated by images, and modeling by the algorithms: Partial Least Squares (PLS), Random Forest (RF), Artificial Neural Network (ANN), and Support Vector Machine (SVM). The species analyzed in this study were: *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg, *Campomanesia xanthocarpa* (Mart.) O. Berg, *Eugenia involucrata* DC., *Eugenia uniflora* L. e *Psidium cattleianum* Sabine, belonging to the Alluvial Araucaria Forest (FOM) fragment, located at the UNICENTRO CEDETEG campi, Guarapuava, PR. The fluorescence analyses of chlorophyll *a* by induction of rapid or transient kinetics (OJIP curve) occurred in situ. The leaves of the five species of Myrtaceae were collected and their photosynthetic pigments were extracted and analyzed by UV-VIS spectrophotometry. The images of the extracts of each sample were obtained using a smartphone and the grayscales were analyzed using the ChemoStat® software, and RGB color histogram. The contents of photosynthetic pigments were modeled using the Weka 3.9 software, and regression models based on the PLS and RF algorithms. Species classifications were also performed using the PLS, RF, ANN, and SVM. Chlorophyll *a* (Chl *a*) content ranged between 0.99 - 1.38 µg/mL, chlorophyll *b* (Chl *b*) between 0.34 - 0.67 µg/mL, total chlorophyll between 1.38 - 2.11 µg/mL and carotenoids between 0.14 - 0.21 µg/mL, for the all species analysed. The highest content of Chl *a*, Chl *b* and total chlorophyll were observed in the species *E. involucrata* and the lowest content in the species *E. uniflora*. The contents of carotenoids were higher in *E. uniflora* and lower in *C. guazumifolia*. The validation of the models has always occurred through Cross-Validation and external validation. In Cross Validation, the hyperparameters of each model were adjusted and it was always observed that the RF algorithm was better than the PLS algorithm for modeling the pigment contents of the Myrtaceae species and their RGB histograms. The classification by spectrophotometric scanning was evaluated by the ANN and SVM algorithms, which always presented the best results for this type of modeling. *E. uniflora* showed the highest fluorescence emission by the OJIP curve. The RF impurity analysis selected 15 fluorescence parameters that allowed the classification of the species evaluated. The methods used for modeling were efficient to estimate the concentrations of photosynthetic pigments, by RGB color histograms and spectroscopic scanning by UV-VIS. The chemometric tools, as well as the machine learning tools: PLS, RF, ANN, and SVM were important to classify Myrtaceae species, evaluated in this research. The fluorescence chlorophyll-*a* parameters and the contents of photosynthetic pigments present in leaves of the species evaluated can be used as markers for taxon-chemometric differentiation.

**Keywords:** Machine learning, Cattley guava, Chlorophyll fluorescence, Alluvial FOM, Guabiroba, Brazilian cherry, sete-capotes.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição espacial das espécies de Myrtaceae avaliadas neste estudo no território brasileiro.....	21
Figura 2 – Características da árvore, folhas, flores, frutos, sementes e madeira do araçá ( <i>Psidium cattleianum</i> ).....	22
Figura 3 – Características da árvore, folhas, flores, frutos, sementes e madeira do cereja-do-rio-grande ( <i>Eugenia involucrata</i> ).....	25
Figura 4 – Características da árvore, folhas, flores, frutos, sementes e madeira do guabiroba ( <i>Campomanesia xanthocarpa</i> ).....	27
Figura 5 – Características da árvore, folhas, flores, frutos, sementes e madeira do pitanga ( <i>Eugenia uniflora</i> ).....	30
Figura 6 – Características da árvore, folhas, flores, frutos, sementes e madeira do sete-capotes ( <i>Campomanesia guazumifolia</i> ).....	32
Figura 7 – Efeito Kautsky exibido após a iluminação de uma amostra fotossintética adaptada ao escuro pela luz saturada (luz vermelha de 600 Wm <sup>-2</sup> ) e plotada em uma escala de tempo logarítmica.....	36
Figura 8 – Ilustração da curva de indução OJIP.....	37
Figura 9 – Espectros de absorção dos pigmentos vegetais (clorofila a, clorofila b e carotenoides).....	40
Figura 10 – Cubo de cores RGB. Nas extremidades do cubo estão as cores características.....	41
Figura 11 – Localização geográfica da área de estudo no Campus CEDETEG da UNICENTRO, Guarapuava - PR.....	55
Figura 12 – Corte das folhas das espécies de Myrtaceae para a análise do teor de pigmentos: (a) molde utilizado para o primeiro corte na folha; (b) folha após o corte; (c) amostra utilizada na análise espectroscópica (meia circunferência).....	58
Figura 13 – Imagem do sobrenadante do teor de pigmentos utilizada para o recorte.....	59
Figura 14 – Recortes (500x500 pixels) após a captura das imagens: (a) <i>Psidium cattleianum</i> (araçá); (b) <i>Eugenia uniflora</i> (pitanga); (c) <i>Campomanesia guazumifolia</i> (sete-capotes); (d) <i>Campomanesia xanthocarpa</i> (guabiroba); (e) <i>Eugenia involucrata</i> (cereja-do-rio-grande).....	60
Figura 15 – Curvas de indução de fluorescência variável em espécies de Myrtaceae adaptadas ao escuro (20 min de adaptação ao escuro). (→) <i>Psidium cattleianum</i> (araçá), (→) <i>Eugenia uniflora</i> (pitanga), (→) <i>Campomanesia guazumifolia</i> (sete-capotes), (→) <i>Campomanesia xanthocarpa</i> (guabiroba), (→) <i>Eugenia involucrata</i> (cereja-do-rio-grande).....	62
Figura 16 – Parâmetros (15) da fluorescência da clorofila a das cinco espécies de Myrtaceae selecionados pela função impureza quando determinados pelo algoritmo Floresta Randômica.....	70
Figura 17 - Gráficos dos teores dos pigmentos por meio de análise de modelos lineares generalizados (MLG).....	74
Figura 18 - Gráfico da varredura realizada para as 15 amostras da espécie <i>Psidium cattleianum</i> (araçá).....	76
Figura 19 - Gráfico da varredura realizada para as 15 amostras da espécie <i>Eugenia involucrata</i> (cereja-do-rio-grande).....	77



Figura 20 - Gráfico da varredura realizada para as 15 amostras da espécie <i>Campomanesia xanthocarpa</i> (guabiroba). .....	77
Figura 21 - Gráfico da varredura realizada para as 15 amostras da espécie <i>Eugenia uniflora</i> (pitanga). .....	78
Figura 22 - Gráfico da varredura realizada para as 15 amostras da espécie <i>Campomanesia guazumifolia</i> (sete-capotes). .....	78
Figura 23 – Gráfico do ajuste linear por PLS obtidos pelo histograma RGB. Clorofila a: (a) modelo de calibração e (b) modelo de validação.....	81
Figura 24 – Gráfico do ajuste linear por PLS obtidos pelo histograma RGB. Clorofila b: (a) modelo de calibração e (b) modelo de validação.....	81
Figura 25 – Gráfico do ajuste linear por PLS obtidos pelo histograma RGB. Clorofila total: (a) modelo de calibração e (b) modelo de validação. ....	82
Figura 26 – Gráfico do ajuste linear por PLS obtidos pelo histograma RGB. Carotenoides: (a) modelo de calibração e (b) modelo de validação.....	82
Figura 27 – Gráfico do ajuste linear por FR obtidos pelo histograma RGB. Clorofila a: (A) Modelo de Calibração e (B) Modelo de Validação.....	84
Figura 28 – Gráfico do ajuste linear por FR obtidos pelo histograma RGB. Clorofila b: (A) Modelo de Calibração e (B) Modelo de Validação.....	84
Figura 29 – Gráfico do ajuste linear por FR obtidos pelo histograma RGB. Clorofila total: (A) Modelo de Calibração e (B) Modelo de Validação. ....	85
Figura 30 – Gráfico do ajuste linear por FR obtidos pelo histograma RGB. Carotenoides: (A) Modelo de Calibração e (B) Modelo de Validação. ....	85

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultado do <i>Cross Validation</i> por FR dos parâmetros da fluorescência da clorofila <i>a</i> .	65
Tabela 2 – Matriz de confusão do <i>Cross Validation</i> por FR dos parâmetros da fluorescência da clorofila <i>a</i> .	65
Tabela 3 – Resultado do modelo por FR dos parâmetros da fluorescência da clorofila <i>a</i> .	66
Tabela 4 – Matriz de confusão do modelo por FR dos parâmetros da fluorescência da clorofila <i>a</i> .	66
Tabela 5 – Resultado da validação por FR dos parâmetros da fluorescência da clorofila <i>a</i> .	66
Tabela 6 – Matriz de confusão da validação por FR dos parâmetros da fluorescência da clorofila <i>a</i> .	67
Tabela 7 – Atributos selecionados pelos autores de acordo com o valor da impureza da análise.	69
Tabela 8 – Valores médios, erro padrão e intervalo de confiança para o teor de clorofila <i>a</i> em $\mu\text{g.ml}^{-1}$ das espécies de Myrtaceae.	72
Tabela 9 – Valores médios, erro padrão e intervalo de confiança para o teor de clorofila <i>b</i> $\mu\text{g.ml}^{-1}$ das espécies de Myrtaceae.	73
Tabela 10 – Valores médios, erro padrão e intervalo de confiança para o teor de clorofila total em $\mu\text{g.ml}^{-1}$ das espécies de Myrtaceae.	73
Tabela 11 – Valores médios, erro padrão e intervalo de confiança para os teores de carotenoides em $\mu\text{g.ml}^{-1}$ das espécies de Myrtaceae.	73
Tabela 12 – Valores dos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) para os resultados por <i>Cross Validation</i> , modelo de calibração e validação dos teores de pigmentos das espécies de Myrtaceae determinados por espectroscopia e pelos histogramas RGB de suas imagens.	80
Tabela 13 – Valores do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) do <i>Cross Validation</i> e modelo de calibração dos algoritmos testados.	87
Tabela 14 – Valores das porcentagens das classificações das espécies de Myrtaceae, estatística Kappa e erros para a validação externa por FR.	87
Tabela 15 – Matriz de confusão da validação por FR.	88
Tabela 16 – Valores das porcentagens das classificações das espécies de Myrtaceae, estatística Kappa e erros para a validação externa por RNA.	88
Tabela 17 – Matriz de confusão da validação por RNA.	88
Tabela 18 – Valores das porcentagens das classificações das espécies de Myrtaceae, estatística Kappa e erros para a validação externa por SVM.	89
Tabela 19 – Matriz de confusão da validação por SVM.	89

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABS/RC	Fluxo De Absorção Por Centro De Reação Ativo
ATP	Adenosina Trifosfato
AUC	Área Sob A Curva
CCM	Coeficiente De Correlação De Matthews
CCR	Taxa De Classificação Correta
CTE	Cadeia De Transporte de Elétrons
Curva ROC	Receiver Operating Characteristic
CV	Cross Validation
DI <sub>0</sub> /RC	Fluxo De Energia Dissipada Por Centro De Reação
DP	Desvio Padrão
EP	Erro Padrão
ET <sub>0</sub> /RC	Fluxo De Transporte De Elétrons De QA
ETR	Taxa Relativa De Transporte de Elétrons
F <sub>0</sub>	Fluorescência Inicial
F <sub>2ms</sub>	Fluorescência Da Clorofila a No Ponto J
F <sub>300µs</sub>	Fluorescência Da Clorofila a No Ponto K
F <sub>30ms</sub>	Fluorescência Da Clorofila a No Ponto I
F <sub>50µs</sub>	Fluorescência Inicial (Ponto O)
FA	Floresta De Araucária
F <sub>M</sub>	Fluorescência Máxima
FN	False Negative
FOM	Floresta Ombrófila Mista
FP	False Positive
FR	Regressão Por Floresta Randômica
F <sub>V</sub>	Fluorescência Variável
F <sub>V</sub> /F <sub>0</sub>	Atividade Potencial Do PSII
F <sub>V</sub> /F <sub>M</sub>	Estimação Da Eficiência Quântica Máxima Do PSII
γ	Sensibilidade Analítica
IC	Intervalo De Confiança
K	Estatística Kappa
LD	Limites De Detecção
LQ	Limites De Quantificação
M <sub>0</sub>	Estimativa Da Inclinação Inicial Da Curva De Fluorescência Relativa Variável Normalizada
Mp	Megapixels
MSEC	Erro Médio Quadrático Da Calibração
MSECV	Mean Square Error Of Cross Validation
NAS	Sinal Analítico Líquido
OEC <sub>sp</sub>	Fração Dos Complexos De Evolução Do Oxigênio Das Espécies

PAM	Modulação De Amplitude De Pulso
PCA	Análise De Componentes Principais
PDI	Processamento Digital De Imagens
PLS	Regressão Por Mínimos Quadrados Parciais
PQ	Plastoquinonas
PSI	Fotossistema I
PSII	Fotossistema II
Q <sub>A</sub>	Quinona Primária (Quinona a)
Q <sub>B</sub>	Quinona Secundária (Quinona b)
Q <sub>N</sub>	Dissipação Não-Fotoquímica
Q <sub>P</sub>	Dissipação Fotoquímica
RBF	Função De Base Radial
RGB	Red, Green e Blue
RMSEP	Root Mean Squares Error Of Prediction
RNA	Regressão Por Rede Neural Artificial
RPD	Relação De Predição Do Desvio
SDV	Desvio Padrão Dos Erros De Validação
SEN	Sensibilidade
SVM	Regressão Por Máquina De Vetores De Suporte
Taxa De Especificidade	
Taxa De Seletividade	
TCF	Taxa De Confiabilidade
TES	Taxa De Especificidade
TES	Taxa De Falso Positivo
TFN	Taxa De Falso Negativo
TFP	Taxa De Falso Positivo
TFP	
TN	<i>True Negative</i>
TN	True Negative
TP	<i>True Positive</i>
TP	True Positive
TSL	Taxa De Seletividade
TSL	
V <sub>I</sub>	Fluorescência Relativa Variável No Ponto I
V <sub>J</sub>	Fluorescência Relativa Variável No Ponto J
V <sub>K</sub>	Fluorescência Relativa Variável No Ponto K
YII	Rendimento Fotoquímico Máximo do PSII
φ <sub>Po</sub>	Máximo Rendimento Quântico Fotoquímico Primário

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>17</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	17
<b>3. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>18</b>
3.1 FLORESTA OMBRÓFILA MISTA (FOM) .....	18
3.2 FAMÍLIA MYRTACEAE .....	19
3.2.1 Araçá ( <i>Psidium cattleianum</i> Sabine) .....	21
3.2.2 Cereja-do-rio-grande ( <i>Eugenia involucrata</i> DC.) .....	24
3.2.3 Guabiroba ( <i>Campomanesia xanthocarpa</i> Mart.) O.Berg .....	26
3.2.4 Pitanga ( <i>Eugenia uniflora</i> L.) .....	29
3.2.5 Sete-capotes ( <i>Campomanesia guazumifolia</i> (Cambess.) O.Berg) .....	31
3.3 FOTOSSÍNTESE E PIGMENTOS FOTOSSINTETIZANTES .....	33
3.4 FLUORESCÊNCIA COMO FERRAMENTA NA ANÁLISE DA PERFORMANCE FOTOSSINTÉTICA EM PLANTAS .....	34
3.5 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA E VISÍVEL (UV-VIS) .....	39
3.6 IMAGENS RGB .....	41
3.7 PROCESSAMENTO DIGITAL DE IMAGENS .....	42
3.8 QUIMIOMETRIA .....	43
3.8.1 Métodos de Classificação Multivariada .....	45
3.8.1.1 Regressão Por Mínimos Quadrados Parciais (PLS) .....	45
3.8.1.2 Regressão Por Floresta Randômica (FR) .....	46
3.8.1.3 Redes Neurais Artificiais (RNA) .....	47
3.8.1.4 Regressão por Máquina de Vetores de Suporte (SVM) .....	49
3.8.2 Figuras de Mérito dos Modelos .....	50
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>55</b>
4.1 LOCAL DO EXPERIMENTO .....	55
4.2 AMOSTRAS .....	56
4.3 AVALIAÇÕES FISIOLÓGICAS .....	56
4.3.1 Fluorescência da Clorofila <i>a</i> .....	56
4.3.2 Análise do teor de pigmentos (Clorofilas <i>a</i> , <i>b</i> , total e Carotenoides) .....	57
4.4 IMAGENS RGB .....	59
4.5 QUIMIOMETRIA .....	60
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>62</b>
5.1 AVALIAÇÕES FISIOLÓGICAS .....	62
5.1.1 Fluorescência da Clorofila <i>a</i> .....	62
5.1.2 Análise do teor de pigmentos (clorofilas <i>a</i> , <i>b</i> , total e carotenoides) por espectroscopia UV-VIS .....	72
5.1.3 Análise da varredura por espectroscopia UV-VIS das espécies de Myrtaceae .....	75
5.2 MODELAGEM DOS TEORES DE PIGMENTOS DAS ESPÉCIES DE MYRTACEAE PELOS HISTOGRAMAS RGB .....	79
5.3 MODELAGEM DA VARREDURA UV-VIS DAS CINCO ESPÉCIES DE MYRTACEAE .....	86
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	<b>92</b>
<b>7. REFERÊNCIAS</b> .....	<b>93</b>

APÊNDICES .....	112
-----------------	-----

## 1. INTRODUÇÃO

Há muito tempo a estatística univariada vem sendo aplicada a problemas químicos, mas sua utilização, tornou-se limitada devido à crescente busca por estudos onde se pretendia determinar muitas variáveis respostas. Assim, a análise multivariada foi introduzida no tratamento de dados químicos, ganhando rapidamente popularidade e dando origem a uma nova disciplina, denominada de Quimiometria (SENA et al., 2000).

A Quimiometria é uma área especificamente destinada a análise de dados químicos de natureza multivariada. Tem por definição, sendo um conjunto de métodos matemáticos, estatísticos e computacionais, que são aplicados para investigar, interpretar, classificar e fazer previsão de conjuntos de dados de interesse químico, e na obtenção informações não triviais a partir de um conjunto de dados complexos. A Quimiometria surge como uma ferramenta utilizada para auxiliar na interpretação de dados e propor estratégias pré-experimentais em ensaios químicos (PEREIRA, 2016; BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2006; SOUZA; POPPI, 2012; MARÇO, 2009).

O surgimento da Quimiometria ocorreu em meados da década de 70, e seu desenvolvimento era baseado na computação científica, onde envolvia principalmente, os métodos estatísticos multivariados, que eram aplicados aos dados da química analítica. Foi na década de 80 que a Quimiometria começou a se destacar, organizada como disciplina nos cursos de graduação em química e onde começou a aparecer as primeiras publicações nessa área e cursos dedicados ao tema. Entretanto, somente na década de 90, que a Quimiometria começou a se expandir, com destaque maior na indústria farmacêutica (HELFER et al., 2015; PEREIRA, 2016; BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2006).

Devido ao crescente desenvolvimento na área computacional e na instrumentação científica surgiu diversas novas possibilidades experimentais em um laboratório químico. Estes desenvolvimentos propiciaram o surgimento de uma grande quantidade de dados experimentais na área química e áreas correlatas e com diversos níveis de complexidade e diversidade.

Desde então, devido à capacidade dos instrumentos analíticos em adquirir grandes quantidades de dados de forma rápida, associado a eficácia na capacidade de processamento dos computadores, a Quimiometria se estabeleceu como uma

ferramenta indispensável para a exploração e análise de dados químicos (VALDERRAMA et al., 2016; FERREIRA et al., 1999).

Quimiometria é uma área da Química que está extremamente difundida atualmente, e vem sendo muito utilizada na extração de informações dos mais variados sistemas químicos. Além de ser utilizada na pesquisa básica, também é utilizada e aplicada na indústria química. Neste setor industrial, a Quimiometria é utilizada na análise multivariada de dados, bem como para otimizar processos químicos industriais. Sendo assim, nesse contexto, é de fundamental importância formar profissionais com o conhecimento necessário em Quimiometria para o desenvolvimento do setor químico no país (DA-COL; DANTAS; POPPI, 2017).

O método quimiométrico que irá ser empregado, dependerá do tipo de dados obtidos, da amostra que será analisada e de qual informação se quer extrair desse conjunto de dados. Em vista disso, existem diversas ferramentas quimiométricas para cada problema a ser abordado. Dentre as diversas frentes de pesquisas da Quimiometria, os autores Souza e Poppi (2012) e Valderrama et al. (2016) destacam algumas em especial, como: planejamento e otimização de experimentos, reconhecimento de padrões e desenvolvimento de modelos de classificação e de regressão, tais como a Análise Discriminante Linear, k-ésimo Vizinho mais Próximo, Mínimos Quadrados Parciais com Análise Discriminante e resolução de sinais analíticos.

Além destes, outros métodos como calibração multivariada pelos Mínimos Quadrados Clássicos, Mínimos Quadrados Parciais, Regressão por componentes principais, regressão linear múltipla e processamento de imagens, podem ser empregados na resolução de problemas envolvendo matrizes de dados químicos. Além da área química, outras áreas também se utilizam da Quimiometria para modelar seus conjuntos de dados.

A Quimiometria tem sido empregada nas mais diversas áreas da ciência, devido à sua capacidade de fornecer informações, avaliação mais precisa e mais rápida, quando as análises univariadas não conseguem explicar satisfatoriamente o padrão apresentado pelo conjunto de dados. A Quimiometria é utilizada em trabalhos como, por exemplo, na avaliação da qualidade de farinhas enriquecidas (SOEIRO et al., 2010), no padrão químico da maçã brasileira (VIEIRA et al., 2011), na análise de adoçantes de mesa (TOZETTO; DEMIATE; NAGATA, 2007), na caracterização e



classificação de pequiyeiros (BELO et al., 2013), na avaliação de chás (PEREIRA et al., 2014), na análise da matéria orgânica em solos tropicais (JARQUÍN-SÁNCHEZ et al., 2012), na caracterização de biomassas residuais (RODRIGUES; RAMBO, 2017), além de outras aplicações. Dentre os métodos quimiométricos com fins de regressão linear, destaca-se o método dos mínimos quadrados parciais ou PLS (do inglês, *Partial Least Squares*).

A regressão linear por PLS, é considerado o principal método de regressão para dados multivariados, tem uma vasta aplicação no campo da química analítica, sendo o mais utilizado para análise quantitativa. Esse método não exige um conhecimento preciso de todos os componentes presentes nas amostras, podendo realizar a previsão de parâmetros de interesse mesmo na presença de interferentes, desde que esses estejam presentes na construção do modelo (PEREIRA, 2016; WOLD; SJOSTROM; ERIKSSON, 2001).

Além do PLS, Floresta Randômica (FR) também está sendo muito utilizada em análises de dados químicos. Breiman (2001), introduziu a técnica de classificação chamada por Floresta Randômica (do inglês, *Random Forest* - FR), a qual utiliza um conjunto de árvores de decisão e vetores aleatórios independentes. O conjunto de amostras de treinamento original é dividido em subconjuntos que geram árvores de decisão descorrelacionadas, a qual permite uma classificação final, cuja saída é determinada pela maioria dos votos vencedores das árvores. FR também possibilita trabalhar com variáveis explicativas fracas e também com dados de entrada de elevadas dimensões, o que tornou o método atraente para a classificação de imagens hiperespectrais (ANJOS et al., 2017; GISLASON; BENEDIKTSSON; SVEINSSON, 2006).

Outras pesquisas publicadas sobre aplicações do algoritmo floresta randômica em dados químicos podem ser consultadas em: na classificação da cobertura do solo (GISLASON; BENEDIKTSSON; SVEINSSON, 2006; KULKARNI; LOWE, 2016); no estudo de caso de lagos e rios (JONES et al., 2017); em método potencial multivariado para análise espectroscópica no infravermelho próximo (NIR) em amostras de misturas complexas de gasolina e nafta (LEE et al., 2013); na regressão da estimativa de capacidade *online* de baterias de íon-lítio (LI et al., 2018); em remoção do azul de bromofenol utilizando-se carvão ativado obtido de *Astragalus bisulcatus* (GHAEDI et al., 2014); assim como em tantos outros estudos.

Visto a importância que a Quimiometria apresenta nas ciências em geral, e de suas aplicações no contexto que estamos inseridos, o presente estudo pretende estimar o teor de pigmentos de cinco espécies de plantas da família Myrtaceae, *Psidium cattleianum*, *Eugenia uniflora*, *Campomanesia guazumifolia*, *Campomanesia xanthocarpa* e *Eugenia involucrata*, por meio de imagens e por *Partial Least Squares* (PLS) e floresta randômica (FR).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar marcadores por espectroscopia, análise de imagem e quimiometria de cinco espécies da família Myrtaceae; *Psidium cattleianum* (araçá), *Eugenia uniflora* (pitanga), *Campomanesia guazumifolia* (sete-capotes), *Campomanesia xanthocarpa* (guabiroba) e *Eugenia involucrata* (cereja-do-rio-grande).

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estimar os teores de clorofila *a*, *b*, total e carotenoides das cinco espécies de Myrtaceae por meio de análise de histogramas de imagens e Quimiometria.

Desenvolver um protocolo de amostragem das folhas das cinco espécies de Myrtaceae para análise de fluorescência da clorofila *a*.

Testar o desempenho de dois algoritmos de regressão, Floresta Randômica e PLS (*Partial Least Squares*), Rede Neural Artificial (RNA) e Máquina de Vetor de Suporte (SVM) para estimar os teores de pigmentos e classificar as espécies de Myrtaceae.

Identificar marcadores pelo conjunto de dados espectroscópicos e de imagens de extratos de pigmentos fotossintéticos das espécies de Myrtaceae.

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 FLORESTA OMBRÓFILA MISTA (FOM)

A Floresta Ombrófila Mista (FOM), chamada também Floresta de Araucária (FA) ou Pinheiral, é uma das principais formações vegetais e típica do sul do Brasil, com maior predomínio no Planalto Meridional (IBGE, 2012). Sua maior área de distribuição geográfica está associada aos locais de elevada altitude e baixas temperaturas médias anuais, ocorrendo, de forma associada aos campos naturais (HIGUCHI et al., 2012).

É um tipo florestal de grande importância ecológico-econômica, pois abriga a conífera mais expressiva da vegetação brasileira – *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze, a qual representa mais de 40% dos indivíduos arbóreos, frequência bem superior às demais espécies constituintes desta formação (SCHÄFFER; PROCHNOW, 2002)

Na FOM predomina os gêneros botânicos *Araucaria*, *Podocarpus* e *Drimys* além de muitas espécies das famílias Lauraceae e Myrtaceae. Esse tipo de vegetação é classificado em quatro formações diferentes, incluindo a Floresta Ombrófila Mista Aluvial, que engloba planícies associadas a redes hidrográficas (IBGE, 2012). Essa floresta destaca-se também, pela sua grande variação florística, sendo as famílias mais representativas em número de espécies as Myrtaceae e Lauraceae, assim como um número significativo de epífitas, lianas, líquens, musgos e agrupamentos de algumas espécies de pteridófitas em suas áreas mais úmidas (BERTOLDO PAISANI; OLIVEIRA, 2014; NARVAES et al., 2005). FOM apresenta vasta diversidade de recursos naturais em sua composição, e é resultante de suas diferentes associações entre espécies, as quais se desenvolvem influenciadas por outras variações ambientais intrínsecas, que ocorrem em diferentes intensidades como disponibilidade hídrica, intensidade luminosa, solo, competição, germinação de sementes e temperatura (GAMA et al., 2003).

A maior parte das florestas de domínio atlântico, incluindo a FOM, foi intensamente perturbada e fragmentada para a instalação de práticas agrícolas e pecuárias, além da intensa exploração da madeira de pinheiro (*Araucaria*

*angustifolia*) e imbuia (*Ocotea porosa*) reduzindo sua área original (NETO et al., 2002; SANTOS et al., 2018). Alterações essas, que vieram a contribuir, provavelmente, em mudanças na estrutura e na composição florística dessas florestas (HIGUCHI et al., 2012).

### 3.2 FAMÍLIA MYRTACEAE

A família Myrtaceae compreende 132 gêneros e 5500 - 6019 espécies com distribuição pantropical, ou seja, regiões tropicais de todos os continentes, com destaque para a América do Sul, Austrália e África (WILSON et al., 2001; GOVAERTS et al., 2018; WILSON et al., 2005).

No Brasil, podem ser encontradas 990 espécies da família Myrtaceae distribuídas em 23 gêneros, sendo os gêneros *Eugenia* L., *Marlierea* Cambess. e *Gomidesia* O. Berg, os que apresentam maior número de espécies. No estado do Paraná são 230 espécies tendo um destaque maior para a tribo Myrtae, mais diversa da família, apresentando centro de origem e diversidade na América do Sul, onde suas espécies dominam os ecossistemas neotropicais. Vários estudos filogenéticos foram realizados dentro da tribo Myrtae, e estes apontam um grupo australiano-asiático, que inclui as espécies de *Eucalyptus* e seis grupos sul-americanos, denominados: *Plinia*, *Myrcia*, *Myrceugenia*, *Myrteola*, *Pimenta* e *Eugenia* (LUCAS et al., 2005; LUCAS et al., 2007; SOBRAL et al., 2015; SOUZA; LORENZI, 2012).

No Brasil, todas as Mirtáceas nativas pertencem à tribo Myrteae, que apresentam como principais características serem árvores ou arbustos com folhas simples e opostas, com pontos translúcidos. Suas flores são brancas, raros são as rosas, vermelhas ou violetas. Suas pétalas em número de 4 a 5 são livres, com muitos estames e seus frutos são carnosos, pelo menos para as Myrtaceae neotropicais. Essas últimas apresentam-se também com muitas sementes. Myrtaceae australianas, por outro lado apresentam folhas alternas e frutos secos, como espécies de *Eucalyptus* ou *Calistemon*. A polinização das Myrtaceae é realizada por insetos, principalmente por abelhas. E seus frutos carnosos, quando maduros, apresentam cores que vão desde o preto ou vermelho (mais comuns), ao laranja, amarelo, cinza e verde, sendo atraídos e dispersados por uma infinidade de espécies frugívoras, principalmente aves e mamíferos. Quanto às sementes, a maioria das espécies

produz de 1 a 3 sementes por fruto, mas algumas particularidades ocorrem em alguns gêneros, como *Campomanesia*, que produz de 4 a 18 sementes por fruto e *Psidium*, com até 250 sementes (LANDRUM; KAWASAKI, 1997; GRESSLER; PIZO; MORELLATO, 2006; PIZO, 2002).

As espécies de Myrtaceae apresentam diferentes usos. Espécies como a cerejeira-do-mato, uvaia, pitanga, jabuticaba, goiabeira serrana, jabuticaba, araçá, goiabeira guabiroba, cagaita, cambuci, jambolão, entre tantas outras, são conhecidas pelo sabor de suas frutas. Dessas, apenas a goiabeira (*Psidium guajava*), jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora*) e a pitangueira (*Eugenia uniflora*) são exploradas comercialmente (GRESSLER; PIZO; MORELLATO, 2006). Além do uso alimentar, também são reconhecidos seus usos medicinais (BONTEMPO et al., 2007; KARAMI; SALEHI; NAGHSHVAR, 2008; REYNERTSON, et al., 2008), madeireiros e paisagísticos (GOMES et al., 2007; SANQUETTA et al., 2010).

A família Myrtaceae apresenta potencial econômico não explorado, já que a maioria das espécies apresenta frutos comestíveis atraentes ao consumo, mas que não são produzidos e comercializados em larga escala. Muitas dessas espécies estão em risco de extinção antes mesmo de serem conhecidas (LANDRUM; KAWASAKI, 1997). Na região sul e sudoeste do Paraná, o desmatamento, as queimadas e a expansão da monocultura vêm tirando espaço das espécies nativas, a falta de conhecimento sobre sua potencialidade de produção e de qualidade alimentar ocasiona baixo aproveitamento e aceleração da erosão genética dessas espécies (CITADIN et al., 2005).

Dentre tantas espécies potenciais, algumas merecem atenção pela baixa quantidade de informação existentes e pelo seu potencial a ser explorado, sendo elas o araçá, cereja-do-rio-grande, guabiroba, pitanga, sete-capotes e a uvaia. As ocorrências confirmadas dessas espécies no Brasil, podem ser observadas na Figura 1.

Figura 1 – Distribuição espacial das espécies de Myrtaceae avaliadas neste estudo no território brasileiro.

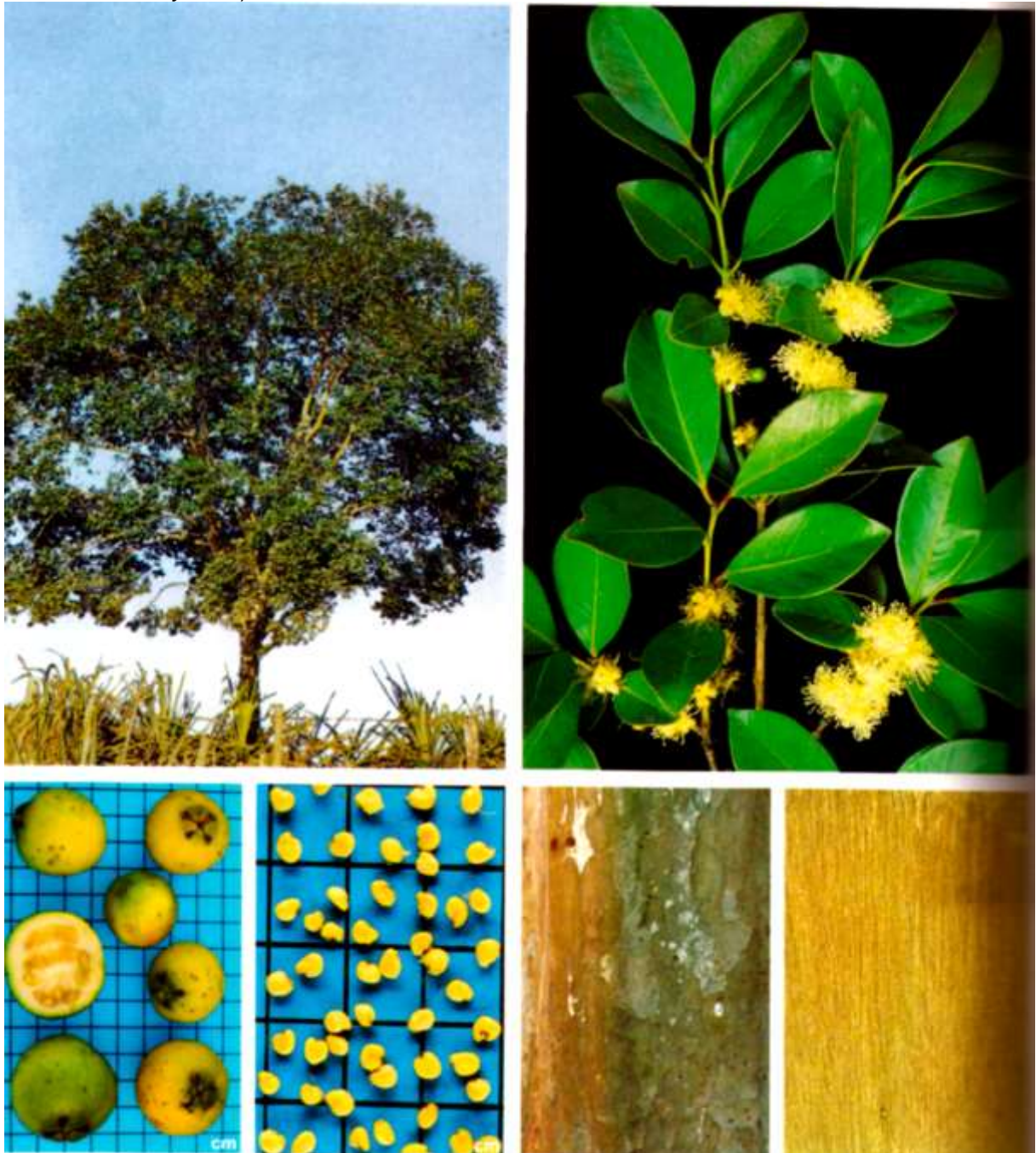


Fonte: Flora do Brasil (2020a, b, c, d, e), adaptado por Ceccon, V. (2020).

### 3.2.1 Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine)

O araçá (*Psidium cattleianum*), também chamado de araçá-amarelo, araçá-vermelho, araçá-de-coroa ou araçazeiro (Figura 2), é uma espécie endêmica do Brasil, ocorre em todos os Estados do Sul e em Estados do Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e do Nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Pernambuco, Sergipe) (Figura 1). Está presente nas Florestas Ombrófilas Densa e Mista, Restingas e Cerrado (*lato sensu*). Seu nome vem do tupi guarani, significando “fruto que tem olhos”, pois as sépalas do fruto assemelham-se a olhos (LORENZI, 2008; VOLPATO; LONGHI; SPERB, 2015; FLORA DO BRASIL, 2020a).

Figura 2 – Características da árvore, folhas, flores, frutos, sementes e madeira do araçá (*Psidium cattleianum*).



Fonte: Lorenzi (2016).

É uma árvore com tronco liso e descamante, normalmente tortuoso, com altura de 3 a 6 metros e 15 a 25 cm de diâmetro. Suas folhas são simples e opostas, coriáceas e glabras. As flores são pentâmeras, solitárias, axilares ou em pequenos racemos, apresentam pétalas livres e alternadas, com cor branca ou creme, e com muitos estames. Floresce de junho a dezembro e frutifica de setembro a março. É uma



planta heliófita, ou seja, precisa de luz para se desenvolver e é perene, não perdendo suas folhas durante o inverno (LORENZI, 2016; SOARES-SILVA; PROENÇA, 2008; LISBÔA; KINUPP; BARROS, 2011).

Seu fruto é redondo e pequeno e apesar da espécie apresentar pequeno porte, sua frutificação pode ser abundante. Seu fruto, com muitas sementes, pode apresentar duas variedades, vermelha, amarela, dependendo do morfotipo (FOCHEZATTO, 2018). A sua polpa é translúcida, suculenta, com sabor doce e agradável, com uma leve acidez e adstringência, sendo utilizada para consumo *in natura* ou em preparo de sucos e sobremesas. Sua comercialização é dificultada devido à perecibilidade do fruto, que após colhido e mantido em temperatura ambiente, dura apenas de 3 a 4 dias (PATEL, 2012; LISBÔA; KINUPP; BARROS, 2011).

O potencial da espécie está em seus frutos comestíveis com potencial comercial, além de usos de sua madeira e característica ornamental (BRANDÃO; LACA-BUENDÍA; MACEDO, 2002; BEZERRA et al., 2006; LORENZI, 2016). O araçá tem sido cultivado devido ao seu aspecto ornamental, em diversos países da América, Europa e Ásia, onde passa a ser conhecido por *Cattley guava*, *Chinese guava*, *purple guava*, *strawberry guava*, *guava*, entre outros (MITRA et al., 2012; PATEL, 2012).

Devido à composição de compostos fenólicos e carotenoides nas folhas e frutos, o araçá vem ganhando espaço nas indústrias alimentícias e farmacêuticas devido ao seu potencial como alimento funcional e fitoterápicos (IM et al., 2012; MEDINA et al., 2011; PATEL, 2012).

O extrato das folhas de araçá é rico em compostos fenólicos, principalmente de quercetina-3-glucuronideo, que apresenta potencial de uso no controle do processo metastático do câncer de pulmão (IM et al., 2012). A espécie é considerada uma fonte promissora de compostos bioativos com propriedades antioxidantes eficientes, como carotenoides e antocianinas e grande perspectiva para produtores comerciais para aplicação na indústria alimentícia e fitofarmacêutica (RIBEIRO; CHISTÉ; FREITAS, 2014; EGEEA; PEREIRA-NETO, 2019).

Em relação aos constituintes químicos funcionais obtidos em extratos aquosos e acetona dos frutos de araçá, foram encontradas altas concentrações de compostos fenólicos, especialmente a epicatequina, bem como carotenos, ácido ascórbico e antocianinas, em menor concentração (MEDINA et al., 2011). Em específico aos

carotenoides do fruto, foram encontrados os pigmentos all-trans- $\beta$ -criptoxantina e luteína em maiores concentrações (PEREIRA et al., 2012). Em outro estudo, utilizando-se espectrometria de massa, nove carotenoides foram identificados nos frutos do araçá, sendo 34% do conteúdo total de carotenoides representado pelo all-trans- $\beta$ -criptoxantina, seguido por all-trans- $\beta$ -caroteno e all-trans-luteína, correspondendo a 26% e 20% do conteúdo total, respectivamente (SILVA; RODRIGUES; MERCADANTE, 2014).

Utilizando-se da técnica espectroscópica UV-VIS, poucos estudos ainda não foram encontrados para avaliações dos padrões de pigmentos fotossintéticos em plantas. O autor Medina et al. (2011), em seu estudo sobre os extratos das frutas de araçá com atividades antioxidantes antimicrobianas e efeito antiproliferativo em células cancerígenas humanas, utilizou-se da técnica UV-VIS, para a determinação dos teores de carotenos. Já os autores Jesus e Marengo (2008) fez o uso da espectroscopia UV-VIS como alternativa para a determinação dos teores de clorofila em espécies frutíferas.

### 3.2.2 Cereja-do-rio-grande (*Eugenia involucrata* DC.)

A cerejeira-da-mata ou cereja-do-rio-grande (*Eugenia involucrata*) (Figura 3) pertencente à família Myrtaceae, é uma espécie nativa do Brasil, ocorrendo nos Estados do Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste (Figura 1), em diversas fitofisionomias da Mata Atlântica e Cerrado. *E. involucrata* é conhecida internacionalmente como *cherry tree* ou *black cherry* (DEGENHARDT; FRANZON; COSTA, 2007; LORENZI, 2016; FLORA DO BRASIL, 2020b). Esta espécie ocorre geralmente em locais com altitude de 30 a 1700 m, prefere áreas pouco acidentadas e locais de solo úmido. Tem ocorrência também na Argentina, Uruguai e Paraguai (CARVALHO, 2009).

Figura 3 – Características da árvore, folhas, flores, frutos, sementes e madeira do cerejeira-do-rio-grande (*Eugenia involucrata*).



Fonte: Lorenzi (2016).

A cerejeira tem hábito arbóreo, podendo atingir de 5 a 15 m de altura e se caracteriza por ser secundária tardia, seletiva higrófila, heliófila e perenifólia, adaptando-se bem a pleno sol (DEGENHARDT; FRANZON; COSTA, 2007). O tronco da espécie é reto, liso e escamante, de coloração parda e formato semi-arredondado,

de 30 a 40 cm de diâmetro. Sua copa tem formato arredondado, bastante ramificada e altamente densifoliada (CARVALHO, 2009).

As folhas são simples, opostas e glabras, com 2-3 cm de largura e 5-10 cm de comprimento coloração verde escura brilhante na parte superior. As flores são hermafroditas, de cor branca e solitárias. O fruto é do tipo drupa, o com tamanho médio de 2,5 x 2 cm, com polpa carnosa comestível de cor brilhante negro-violáceo e muito saborosos e bem aceitos na alimentação humana. Sua floração ocorre nos meses de julho a outubro, para o estado do Paraná e de setembro a novembro para os estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Para o estado do Paraná, a maturação dos frutos ocorre de setembro a novembro (DEGENHARDT; FRANZON; COSTA, 2007; MARIN et al., 2008; MENDONÇA, 2010).

Os frutos da cerejeira-do-rio-grande são muito desejáveis para o consumo *in natura*, bem como na produção de compotas, geleias, sucos e licores. Apesar de seus usos, a espécie é pouco explorada comercialmente, devido à perecibilidade dos frutos. A planta é usada como espécie ornamental e na arborização urbana, devido à beleza de seu caule descamante e das flores, além de apresentar relevante importância ecológica, na alimentação da fauna e recuperação de áreas degradadas (CARVALHO, 2009; LORENZI, 2016; SARDI et al., 2017).

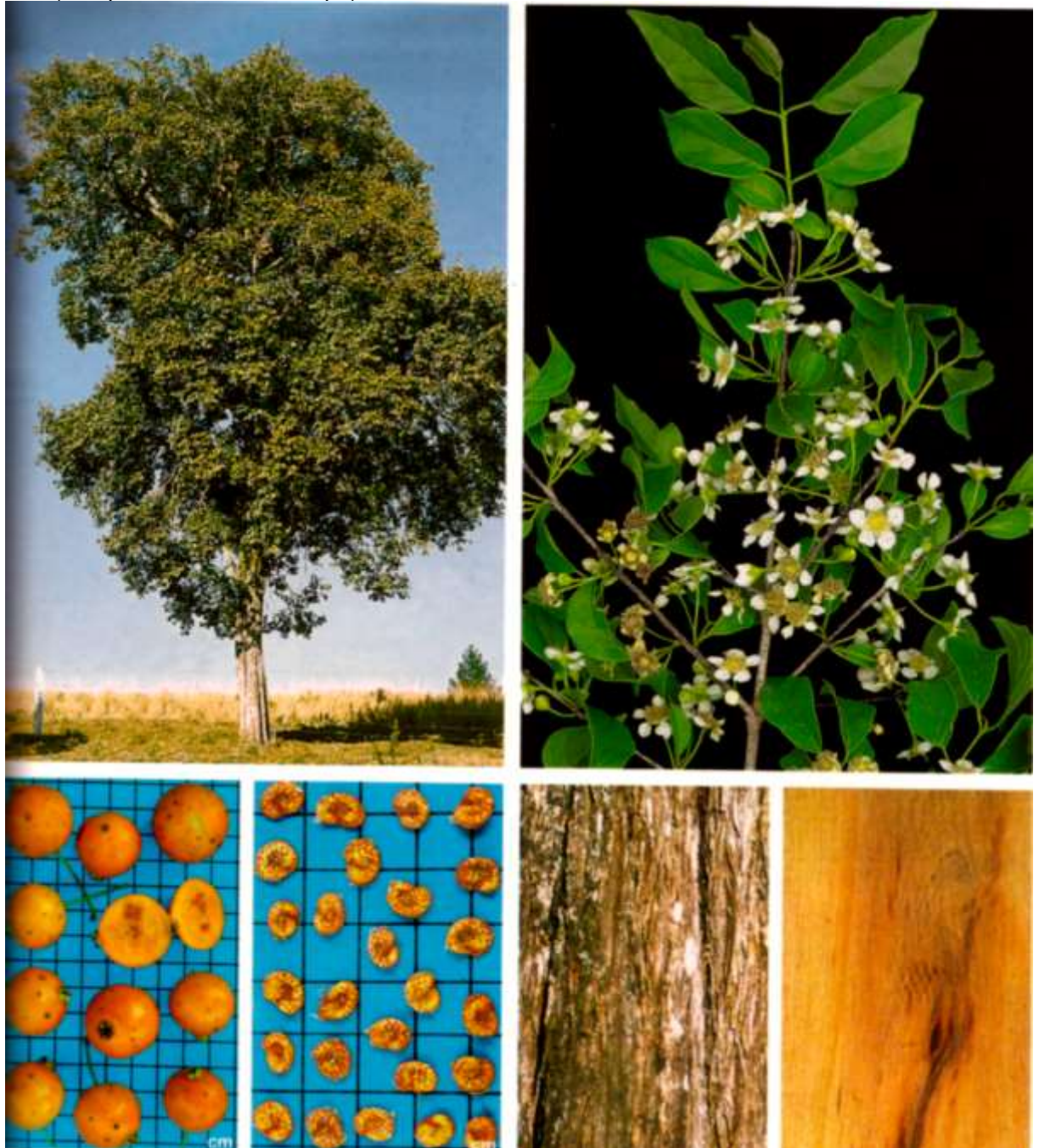
As folhas são usadas na medicina popular pelas suas propriedades antidiarreicas e digestivas (SAUSEN et al., 2009). O óleo essencial da espécie é composto por 28 sesquiterpenos, sendo em maior concentração o elixeno,  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -copaeno e germacreno, que conferem potencial antimicrobiano e antioxidante do óleo essencial (TOLEDO et al., 2020). Em outro estudo, foram encontrados em maior concentração os sesquiterpenos  $\beta$ -elemeno, bicyclogermacreno, cariofileno e germacreno em maiores concentrações (CIARLINI; MARANGONI; BOLZAN, 2017). O  $\beta$ -elemeno é um reconhecido medicamento, derivado de plantas e utilizado no tratamento de cânceres em humanos e (LU et al., 2013; LIU et al., 2015).

### 3.2.3 Guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* Mart.) O.Berg

A guabiroba ou gabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) (Figura 4) é uma espécie da família Myrtaceae, nativa do Brasil. Ocorre naturalmente no país nos

Estados do Sul, Sudeste, na região Centro-Oeste em somente alguns Estados (Goiás, Mato Grosso do Sul e Distrito Federal), na Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Ombrófila Mista e Densa (Figura 1) (FLORA DO BRASIL, 2020c). Também ocorre naturalmente na Argentina, Paraguai e Uruguai (TMBG, 2018).

Figura 4 – Características da árvore, folhas, flores, frutos, sementes e madeira do guabioba (*Campomanesia xanthocarpa*).



Fonte: Lorenzi (2016).

A gabirobeira vive em clima tropical quente com baixo índice pluviométrico, necessitando de uma quantidade moderada de água e devendo estar sempre exposta ao sol (LORENZI, 2016). Os indivíduos da espécie que crescem em ambientes sombreados, apresentam folhas maiores, com maior número de estômatos e uma lâmina foliar bem desenvolvida, pois precisam investir na captura de energia luminosa e com isso garantir maiores taxas fotossintéticas. Já em área a pleno sol, onde não há deficiência de luz, as folhas apresentam tamanho intermediário, bem como a quantidade de estômatos (KRUPEK; LIMA, 2012).

Nas estações da primavera e verão as copas das árvores apresentam-se principalmente formadas com folhas velhas, e algumas brotações. Neste período, o sistema reprodutivo da planta está em atividade. No verão e outono ocorre o desfolhamento e brotação. A espécie concentra todo o período reprodutivo nos meses de agosto a dezembro, nas estações da primavera e verão. Durante o outono e parte do inverno a espécie apresenta repouso reprodutivo (EMBRAPA FLORESTAS, 2011).

As flores da gabiroba são melíferas, de cor branca. Os frutos são de formato redondo e de cor verde quando jovens e amarelos e adocicados quando maduros, tendo polpa abundante e succulenta e sendo apreciado regionalmente (FRISCH; FRISCH, 2005). Herzog et al. (2012) ao estudar morfometria dos frutos e germinação de sementes de *Campomanesia xanthocarpa* observou que estes podem ser descritos como baga globosa, indeiscente e polispérmico. A coloração amarelo-laranja ou amarelo intenso do epicarpo em frutos é indicativo de maturidade fisiológica das sementes.

A espécie floresce durante os meses de setembro e novembro e os frutos amadurecem em novembro-dezembro. O tipo de dispersão é zoocórica atraindo, principalmente, as aves. O fruto é aproveitado na produção de refrescos, sorvetes e licores, além da produção de doces caseiros, o que indica a presença de substâncias pécicas em teores significativos. Sua frutificação é abundante, o que faz a espécie ter alta relevância ecológica, ao servir de alimento para diversas espécies da fauna. Devido a essas características, também é indicada para a restauração de áreas degradadas (CARVALHO, 2006; FRISCH; FRISCH, 2005; LORENZI, 2016).

O fruto de *C. xanthocarpa* é rico em compostos fenólicos, carotenoides e vitamina C (SANTOS et al., 2012). Já no extrato das folhas é encontrado flavonoides, taninos e saponinas, sendo a quercetina, miricitrina e rutina alguns dos flavonoides

presentes (ABE et al., 2014). As folhas, frutos, cascas, madeira e caule têm grande potencial para a exploração comercial e medicinal, sendo usada para tratar várias doenças, reduzindo os níveis de colesterol no sangue em níveis hipercolesterolêmicos (KLAFKE et al., 2010).

### 3.2.4 Pitanga (*Eugenia uniflora* L.)

A pitangueira (*Eugenia uniflora*) (Figura 5) conhecida internacionalmente como *surinam cherry*, *brazilian cherry* ou ainda pitanga surinam, é uma espécie nativa do Brasil, da família Myrtaceae. Ocorre em todos Estados do Sul e Sudeste, e em Estados do Centro-Oeste (Mato Grosso do Sul) e do Nordeste (Bahia) (Figura 1), ocorrendo também no Paraguai, Argentina e Uruguai. Está presente na Floresta Ombrófila Mista e Densa, Floresta Estacional Decidual e Semidecidual, Restinga e Cerrado (*lato sensu*) (DONADIO et al., 2002; FLORA DO BRASIL, 2020d).

Pode atingir de 10 a 12 metros de altura e seu crescimento e formato de copa variam em relação a localização em que se encontra, sendo menor e com copa irregular, quando está dentro das florestas e maior e com copa frondosa quando está em área aberta (FIUZA et al., 2008; LORENZI, 2016). A espécie tem maior crescimento quando está a pleno sol, mas as folhas têm uma grande plasticidade, permitindo que se adaptem ao ambiente de sol ou sombra. Os indivíduos se adaptam a todos os tipos de solos, incluindo aqueles alagáveis por determinado período (MIELKE; SHAFFER, 2010). *Eugenia uniflora* acumula grandes quantidades de antocianinas em folhas senescentes sob condições de estresse ambiental (MIELKE; SCHAFFER; SCHILLING, 2012).

*Eugenia uniflora* apresenta seu tronco descamante característico, tem coloração pardo-clara. As folhas são simples, glabras, com ápice acuminado, margem foliar lisa e provida de pontos translúcidos, de 3 a 7 centímetros de comprimento. Sua floração vai de agosto a outubro, com frutificação de setembro a novembro (AURICCHIO; BACCHI, 2003; FIUZA et al., 2008; LORENZI, 2016).

Figura 5 – Características da árvore, folhas, flores, frutos, sementes e madeira do pitanga (*Eugenia uniflora*).



Fonte: Lorenzi (2016).

Seus frutos que podem ser consumidos *in natura*, em forma de sucos e sorvetes. Os frutos de *E. uniflora* também são utilizados no setor de cosméticos, e outros inúmeros produtos podem ser elaborados a partir de seus frutos (FRANZON et al., 2008). A pitangueira vem chamando a atenção de indústrias farmacêuticas, por apresentar um fruto com alto teor de vitaminas e antioxidantes e esses polifenóis,



antocianinas e carotenoides tem ganhado destaque pelas suas propriedades úteis no tratamento de doenças cardiovasculares e câncer (ANTUNES; RASEIRA, 2006).

Em relação a pigmentação, o autor Martinazzo et al. (2007), destaca o efeito do sombreamento sobre o crescimento da espécie *E. uniflora*. Já o autor Marques et al. (2011) estuda as relações hídricas e produção de pigmentos fotossintéticos em mudas de pitangueira. Os grupos de pesquisadores demonstraram, que são as clorofilas, responsáveis pela absorção da luz nas membranas tilacóides, e que estão ligados à eficiência fotossintética de plantas, ao crescimento e adaptabilidade dessas plantas em diversos ambientes (ANGEL; POGGIANI, 1991).

Os benefícios atribuídos à *E. uniflora* devem-se a presença de metabólitos secundários em sua constituição. Esses metabólitos apresentam potente atividade antibacteriana e antifúngica em suas folhas, incluindo compostos fenólicos como flavonoides, terpenos, taninos, antraquinonas e óleos essenciais (AMORIM et al., 2009).

### 3.2.5 Sete-capotes (*Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O.Berg)

Sete-capotes (*Campomanesia guazumifolia*) (Figura 6), é uma espécie nativa do Brasil, conhecida ainda pelos nomes sete-capas, capoteiro, araçá-do-mato, entre outros (LORENZI, 2016; SOBRAL et al., 2012). É encontrada naturalmente no Estado do Nordeste (Bahia), Centro-Oeste (Mato Grosso do Sul) e nos Estados do Sul e Sudeste do país (Figura 1). No Paraná, pode ser encontrada em diversas fitofisionomias, entre elas a FOM (MATTOS, 2010; LIMA; GOLDENBERG; SOBRAL, 2011; FLORA DO BRASIL, 2020e).

A espécie é decídua e heliófita e pode ter hábito arbustivo ou arbóreo, com altura entre 3 a 10 metros e diâmetro do tronco de 20 a 30 cm, sendo tortuoso e descamante em camadas finas, o que dá o seu nome popular de sete-cascas, ou sete-capotes. Sua copa é piramidal, com folhas simples e opostas, com 7-14 cm de comprimento e 3-6 cm de largura, com contorno elíptico ovado-oblongo e nervuras secundárias e terciárias bem evidentes. Seus ramos menores, pecíolos, face inferior das folhas, inflorescências e frutos são pubescentes. Suas flores são grandes, brancas e solitárias (LORENZI, 2016; LIMA; GOLDENBERG; SOBRAL, 2011; OLIVEIRA et al., 2012).

Figura 6 – Características da árvore, folhas, flores, frutos, sementes e madeira do sete-capotes (*Campomanesia guazumifolia*).



Fonte: Lorenzi (2016).

Os frutos de *C. guazumifolia* são arredondados, do tipo baga subglobosa, com aspecto aveludado ou pubescente, com pericarpo carnoso e coloração verde-amarelada, e aproximadamente 2 cm de diâmetro. Contém de seis a dez sementes, exalbuminosas, reniformes, com base e ápice arredondadas e cobertas por tegumento membranoso marrom. Seu sabor é característico, com alto teor vitamínico (DONADIO; MORO; CUNHA, 2017; SOUZA; SOUZA; PANOBIANCO, 2018).

A floração de *C. guazumifolia* ocorre de outubro a novembro e a frutificação de março a maio. Naturalmente a espécie ocorria de forma isolada nas florestas e em baixa densidade (LORENZI, 2016). A espécie, assim como as demais Mirtáceas, é muito apreciada pela fauna, principalmente aves e morcegos, bem como é utilizada em projetos de restauração florestal (DORIGONI et al., 2001; AQUINO; BARBOSA, 2009).

### 3.3 FOTOSSÍNTESE E PIGMENTOS FOTOSSINTETIZANTES

A fotossíntese é o processo pelo qual a energia solar é convertida em energia química por meio de unidades funcionais chamadas de fotossistemas. A fotossíntese ocorre na membrana interna dos cloroplastos, especificamente nos tilacoides. Os produtos finais da fotossíntese são compostos de alta energia, ATP (Adenosina trifosfato) e NADPH (Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato, forma reduzida), os quais são utilizados para síntese dos açúcares nas reações de fixação de carbono. (CARVALHO; MENDONÇA; LIMA, 2017).

O tecido foliar com maior atividade fotossintética é o mesofilo e em suas células se encontram os cloroplastos, cujo sistema de membranas internas denominado tilacoide (cuja porção interna é denominada lúmen), apresenta as clorofilas, pigmentos verdes especializados na absorção da luz e é nessa região onde acontecem as reações luminosas da fotossíntese. Nessa reação dentro dos cloroplastos, duas unidades funcionais, denominadas fotossistema, são responsáveis pela conversão da energia luminosa em energia química. No fotossistema I (PSI) é absorvido preferencialmente luz na faixa do vermelho-distante com um máximo de absorção a 700 nm e no fotossistema II (PSII), luz na faixa do vermelho com comprimento de onda em aproximadamente 680 nm. Dentro dos cloroplastos, o PSII é predominante ao PSI, na razão de 1,5 e 1,0 estando sujeito as condições de luminosidade (GOLTSEV et al., 2016; MURCHIE; LAWSON, 2013; TAI; ZEIGER, 2013).

As clorofilas *a* (maior quantidade) e clorofila *b* (pigmento acessório), as xantofilas e os carotenoides são pigmentos fotossintéticos, que estão localizados nas membranas dos tilacoides, dentro dos cloroplastos das folhas de plantas, e cada qual apresenta uma faixa de absorção ótima de energia luminosa (LICHTENTHALER, 1987; NOBEL, 1991). A clorofila, devido a sua cor verde, absorve de forma mais eficiente os fótons de luz nos comprimentos de onda nas faixas do azul e do vermelho (clorofila *a* - 428 e 660 nm; clorofila *b* - 452 e 641,8 nm). Já na banda do verde, a luz

é refletida, evidenciando a cor verde da clorofila *a* (LICHTENTHALER, 1987; NOBEL, 1991). As clorofilas são pigmentos necessários a conversão da radiação luminosa em energia, na forma de ATP e NADPH, estando dessa forma, correlacionadas com a eficiência fotossintética das plantas (ALMEIDA et al., 2004).

A energia luminosa absorvida pelas moléculas de clorofila, é canalizada em três vias: a fotoquímica, a produção de calor e a fluorescência; sendo que, a parte da energia convertida em fotoquímica é usada para alimentar o anabolismo da planta. Esses processos não existem isoladamente, mas sim, competem um com o outro plantas (HANELT, 2018). O rendimento da emissão de fluorescência da clorofila, fornece informações valiosas sobre a eficiência quântica fotoquímica e da dissipação de calor em plantas (BAKER, 2008).

Na fase bioquímica da fotossíntese, a fixação do CO<sub>2</sub> é a principal reação acionada através do ATP e pelo redutor produzidos na fase fotoquímica (NADPH). Na fase fotoquímica, os elétrons excitados dos pigmentos fotossintetizantes que não foram utilizados na produção de ATP e NADPH via fotossistemas, regressam aos pigmentos onde reemitem a luz absorvida em formato de fluorescência e calor (CAMPBELL; FARRELL, 2006; TAIZ; ZEIGER, 2013). A fluorescência ocorre quando uma substância, após ser excitada com uma radiação de baixo comprimento de onda, emite uma luz em temperatura fisiológica (20 a 25°C) e exibe um ponto máximo de emissão na faixa de 682 nm e outro ponto menos pronunciado em 740 nm. Essa fluorescência é emitida pelo PSII e pelo Sistema Coletor de Luz do PSII (*Light-Harvesting Complex II - LHCII*) (KRAUSE; WEIS, 1984).

### 3.4 FLUORESCÊNCIA COMO FERRAMENTA NA ANÁLISE DA PERFORMANCE FOTOSSINTÉTICA EM PLANTAS

O desenvolvimento das plantas pode ser afetado tanto por fatores genéticos quanto ambientais e esses efeitos podem ser avaliados por meio de avaliações da eficiência fotoquímica do PSII (LAZÁR, 1999). A eficiência pode ser estimada utilizando-se de fluorômetros, obtendo-se a relação entre a fluorescência variável e a fluorescência máxima da clorofila *a* ( $F_v/F_m$ ), que expressa o rendimento quântico dos processos fotoquímicos desse fotossistema, revelando o nível energético de excitação dos pigmentos que dirigem a fotossíntese (TESTER; BACIC, 2005). Essa análise da

fluorescência da clorofila *a* tem possibilitado a aquisição de importantes informações sobre a relação entre estrutura e função do PSII, do centro de reação (CR) e dos complexos coletores de luz (SMIT et al., 2009).

A obtenção dos parâmetros da fluorescência da clorofila *a* é importante, pois permite ampliar os estudos dos processos fotoquímicos e não fotoquímicos que ocorrem na membrana dos tilacoides. Além disto, possibilita o conhecimento de características relacionadas à capacidade de absorção e transferência da energia luminosa na cadeia de transporte de elétrons (KRAUSE; WEIS, 1991).

A fluorescência da clorofila é uma análise rápida, precisa e não destrutiva que permite tanto diagnosticar a integridade do aparato fotossintético frente às adversidades ambientais, quanto analisar de forma quali-quantitativa, a absorção e aproveitamento da energia luminosa pelo PSII em plantas. Esta análise também permite avaliar as possíveis relações entre os rendimentos fotoquímicos e não-fotoquímicos que ocorrem em plantas, além de ser uma das técnicas mais populares na fisiologia vegetal, devido sua facilidade ao obter informações detalhadas sobre o estado do PSII a um custo relativamente baixo (MOUGET; TREMBLIN, 2002; TORRES NETTO et al., 2005; MURCHIE; LAWSON, 2013).

Como a lâmina foliar é a estrutura que mais se modifica em resposta às alterações ambientais e constitui o principal sítio na produção de fotoassimilados, a anatomia foliar vem sendo objeto de estudo em vários trabalhos nas áreas de fisiologia e anatomia de plantas (ELIAS et al., 2003). A análise da fluorescência da clorofila *a* tem sido amplamente aplicada em estudos fisiológicos e ecofisiológicos, pois pode indicar como as plantas respondem ao estresse ambiental (ADAMS III; DEMMING-ADAMS, 2012). É utilizada para identificar o grau de comprometimento do aparato fotossintético, além de estratégias de adaptação do mesmo frente a fatores de estresse ambiental ou biótico, podendo-se analisar a reação dos pigmentos foliares frente à essas modificações (MAXWELL; JOHNSON, 2000; PEIXOTO; MATTA; MATTA, 2002).

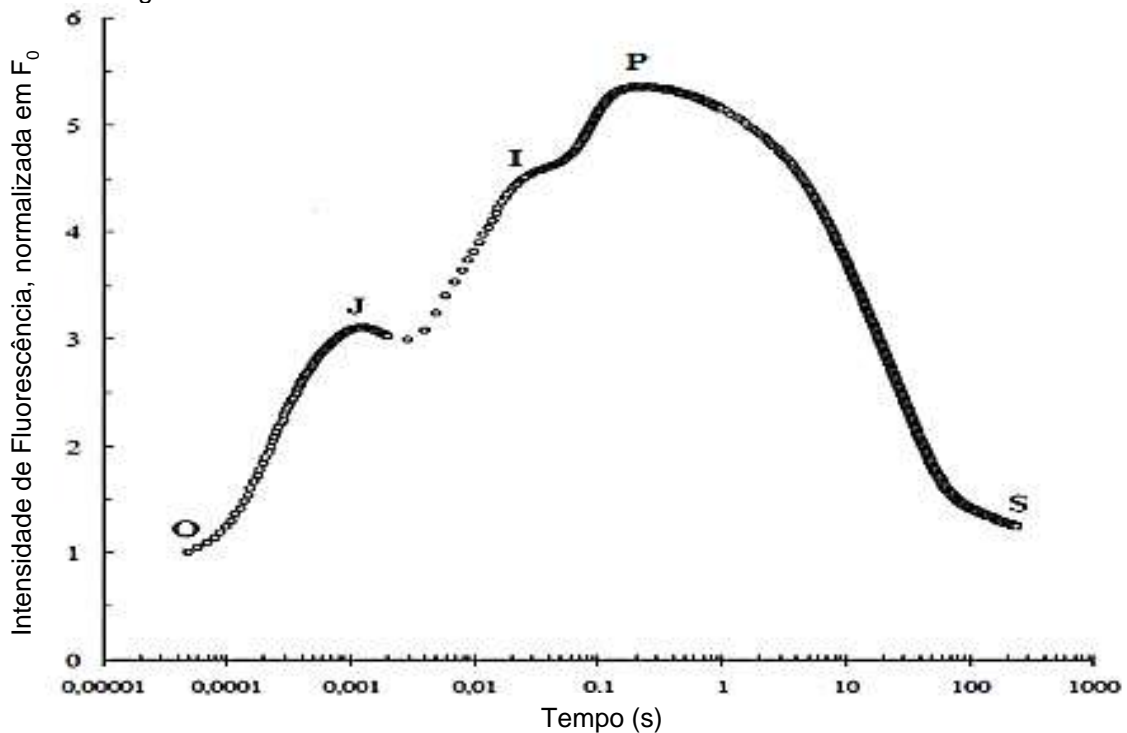
Vários fatores podem afetar o aparato fotossintético em plantas, dentre os quais podemos citar: o estresse salino sofrido pelas plantas (AZEVEDO NETO et al., 2011; WILLADINO et al., 2011), deficiência hídrica (GONÇALVES et al., 2010a), condições de luminosidade (GONÇALVES et al., 2010b), estresse por alumínio (KONRAD et al., 2005), e estado nutricional de plantas (SILVA et al., 2010; VIEIRA et al., 2010). Em Mirtáceas, trabalhos com fluorescência da clorofila, vêm sendo utilizados para a

análise de fatores de estresse, como em *Psidium guineense* (BARBOSA; NOBREGA; SANTIAGO, 2014), fotoinibição na estação seca e chuvosa para *Eugenia dysenterica* e *Campomanesia adamantium* (LEMOS-FILHO, 2000).

Comumente são utilizados dois tipos de medição de clorofila; excitação contínua e excitação pulsada. Na realização de ensaios de avaliação da clorofila *a*, folhas das plantas são acondicionadas no escuro, de forma que fiquem adaptadas à essa condição. Quando a folha adaptada ao escuro é excitada por uma luz constante, a clorofila passa por múltiplos estágios de aumentos iniciais seguidos por diminuições. Isso é comumente chamado de efeito Kautsky (KAUTSKY; HIRSCH, 1931; GUO; TAN, 2015).

A parte inicial crescente do efeito Kautsky é uma curva complexa (Figura 7). O transiente de Kautsky mostra um aumento rápido de emissão de clorofila, concluído em menos de 1s, e um subsequente declínio mais lento dessa emissão, em direção a um estado estacionário. Postula-se que a fase de ascensão reflita as reações primárias da fotossíntese (KRAUSE; WEIS, 1991; STRAUSS et al., 2006).

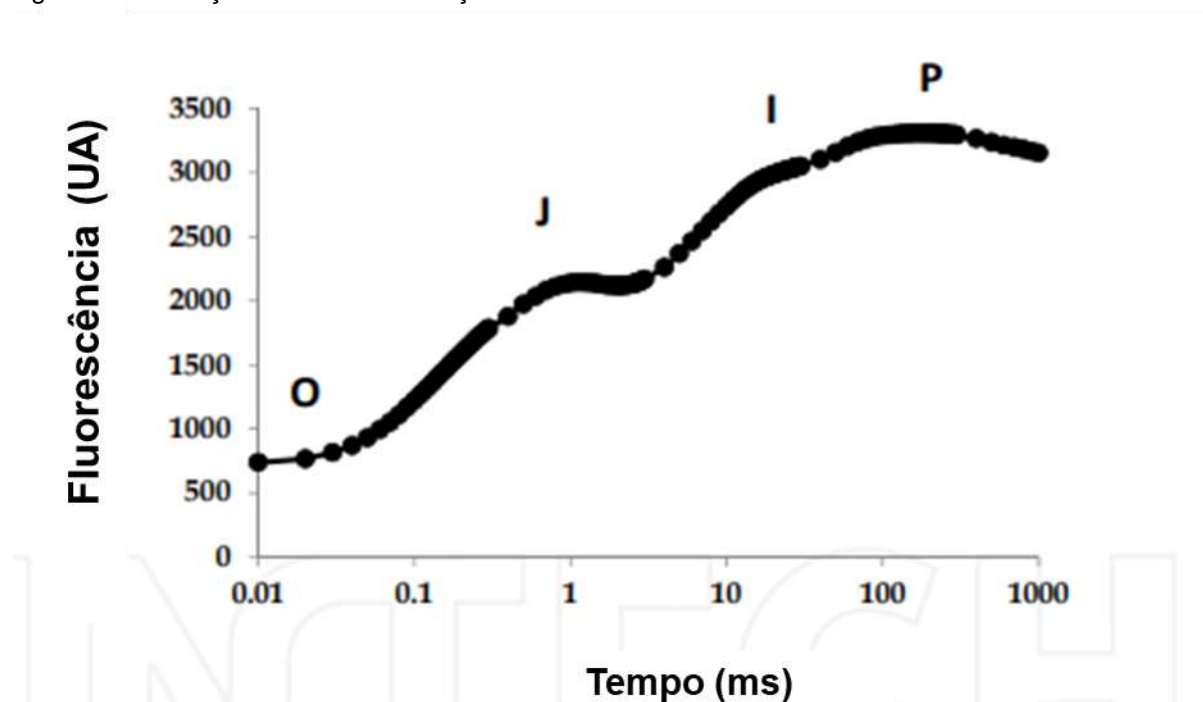
Figura 7 – Efeito Kautsky exibido após a iluminação de uma amostra fotossintética adaptada ao escuro pela luz saturada (luz vermelha de 600 Wm<sup>-2</sup>) e plotada em uma escala de tempo logarítmica.



Fonte: Strasser et al. (2004).

Dentre as duas metodologias utilizadas para a quantificação da emissão da fluorescência da clorofila *a*, a que agrega um maior número de informações é o teste OJIP (Figura 8), que realiza a análise dos transientes da fluorescência da clorofila *a*, traduzindo as informações em expressões fenomenológicas e biofísicas que quantificam o comportamento dos PSII e PSI (STRASSER; SRIVASTAVA; GOVINDJEE, 1995; STRASSER; TSIMILLI-MICHAEL, 2001; STRASSER; TSIMILLI-MICHAEL; SRIVASTAVA, 2004).

Figura 8 – Ilustração da curva de indução OJIP.



Fonte: MISRA; MISRA; SINGH (2012).

Também chamada de fluorescência rápida ou transitória o nome OJIP é decorrente dos nomes adotados para os pontos característicos na curva de indução de fluorescência. Esse transiente é uma ferramenta de análise da mudança na cinética da fluorescência da clorofila *a* e que fornece informações detalhadas sobre a estrutura em função do aparato fotossintético, especialmente do PSII, resultante de excitação de luz, transferência de energia, dissipação de energia e reações fotoquímicas. (GOLTSEV et al., 2016; LAZÁR, 2006).

Após a iluminação, ou seja, uma transição de escuro para o claro, a intensidade de fluorescência da clorofila de uma folha ou outras amostras

fotossintéticas aumenta de um valor mínimo ( $F_0$  ou O), que ocorre em aproximadamente 50  $\mu$ s. Este passo representa a energia de excitação dissipada através de fótons, antes de atingir centros de reação abertos e antes de atingir o nível máximo ( $F_M$  ou P). Esses eventos sucessivos levam à redução progressiva das moléculas de quinonas, localizadas no lado acceptor do PSII. Existem ainda, dois passos intermediários com o aumento da fluorescência ( $F_J$  ou J e  $F_I$  ou I), que ocorrem entre 2 e 30 ms após a iluminação, em 200-300 ms atinge a fluorescência máxima ( $F_m$ ) durante a aplicação de um pulso saturante de luz onde a intensidade foi alta o suficiente para garantir o fechamento de todos os centros de reação do PSII. Neste ponto ( $F_M$ ), em uma planta saudável não estressada, não há *quenching* não-fotoquímico (NPQ), porque a folha da planta foi completamente adaptada ao escuro, portanto, o  $F_M$ , é registrado (LAZÁR, 1999; BOISVERT et al., 2006; KALAJI et al., 2014; GOLTSEV et al., 2016).

A curva OJIP então representa em cada um de seus pontos, uma parte do processo fotossintético. O ponto O-J representa a redução dos aceptores do PSII (quinona A), após a amostra fotossintetizante receber um pulso de luz forte. Sequencialmente, ocorre a redução do pool de plastoquinonas (ponto I) e por fim, quando todos os centros de reação se tornam fechados (QA reduzida), ocorre a passagem de elétrons do fotossistema II para os aceptores do fotossistema (Fase P) (TÓTH; SCHANSKER; STRASSER, 2007).

Outro método de medição da fluorescência da clorofila utiliza a modulação de amplitude de pulso (PAM). O método PAM mede a fluorescência da clorofila a induzido por pulsos de modulação de alta frequência em diferentes estágios da dinâmica do sistema, impulsionados por pulsos de saturação ou luz actínica, luz essa que impulsiona a fase fotoquímica da fotossíntese (GUO; TAN, 2015).

Com as folhas das plantas adaptadas ao escuro por pelo menos 20 minutos e utilizando-se de um registro de cinética lenta, são obtidos cinco parâmetros independentes da fluorescência da clorofila, sendo eles ( $F_m$ ,  $F_0$ ,  $F_m'$ ,  $F$ ,  $F_0'$ ), sendo o apóstrofo empregado para designar os parâmetros de fluorescência obtidos em experimentos com as folhas adaptadas à luz (BAKER; ROSENQVIST, 2004; KALAJI et al., 2014).

A medida de  $F_0$  e seu equivalente adaptado à luz  $F_0'$  é fundamental para a análise de fluorescência da clorofila. Este parâmetro é medido imediatamente após o desligamento da luz actínica, mas é difícil obter uma medição precisa deste parâmetro, devido que muitos instrumentos terem a capacidade de aplicar uma luz vermelha fraca (geralmente alguns segundos). A luz vermelha fraca estimula o PSI,



atraindo elétrons do PSII para assegurar que a quinona ligada permaneça totalmente oxidada durante as medições (MURCHIE; LAWSON, 2013).

A diferença entre  $F_0$  e  $F_M$  é a fluorescência variável,  $F_V$ .  $F_V$  Mostrou-se teoricamente e empiricamente que  $F_V/F_M$  fornece um indicador robusto do rendimento quântico máximo no PSII. Para folhas de plantas não estressadas, o valor de  $F_V/F_M$  é altamente estável, com valores de aproximadamente a 0,83. Este se correlaciona com o rendimento quântico máximo da fotossíntese, já quando há um declínio da razão  $F_V/F_M$ , significa que há existência de algum tipo de estresse, que resulta em danos por inatividade do PSII. Assim, a medição desta razão  $F_V/F_M$  após um período adequado de adaptação da folha de uma espécie de planta, ao escuro, vem sendo utilizada como uma das técnicas mais comuns para se medir o estresse em plantas (STIRBET; GOVINDJEE, 2011; MURCHIE; LAWSON, 2013).

Estudos na área de ecofisiologia vegetal nos dias de hoje, não dispensam mais a técnica de fluorescência da clorofila *a*. As informações sobre o desempenho fotossintético de plantas em campo aparentam ser incompletas sem informações sobre alguns dados de fluorescência (MAXWELL; JOHNSON, 2000). O presente estudo, propõe a análise do padrão de fluorescência da clorofila *a* das cinco espécies de Myrtaceae e tem por objetivo a determinação dos melhores marcadores para suas classificações baseados nesse tipo de espectroscopia.

### 3.5 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA E VISÍVEL (UV-VIS)

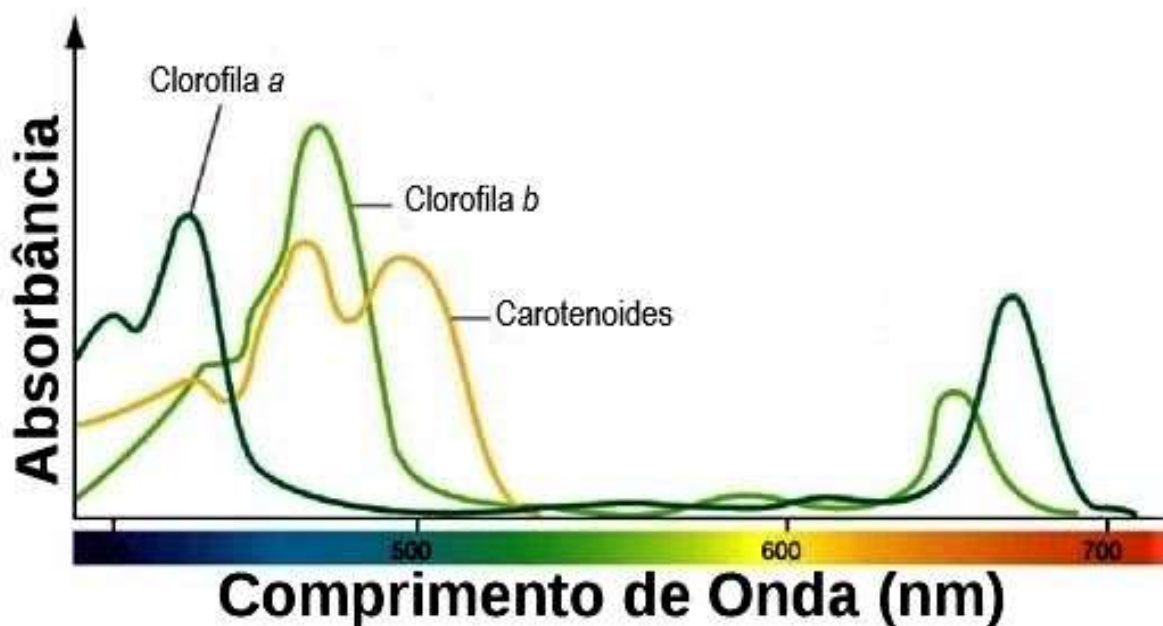
A técnica espectroscopia UV-VIS consiste em obter dados de uma absorção ótica de uma amostra por meio de um feixe de luz incidente, cujo comprimento de onda varia do ultravioleta (inferior a 400 nm) até o visível (400 à 800 nm). A absorção da radiação visível e ultravioleta depende da estrutura eletrônica da molécula, ou seja, do número e do arranjo dos elétrons nas moléculas ou íons absorventes. Em consequência disto, o sinal de absorção é associado com o tipo de ligação que existe na amostra que está sendo analisada. Além de ter um grande número de aplicações a técnica de espectroscopia UV-VIS é rápida, confiável, possui baixo custo operacional, é de fácil utilização e produz resultados de interpretação bastante simples (MURAKAMI, 2017; ROCHA; TEIXEIRA, 2004; ALVES et al., 2010).

A região ultravioleta do espectro é geralmente considerada na faixa de 200 a 400 nm, e a região do visível entre 400 a 800 nm. Neste trabalho a região analisada nos extratos de folhas das espécies de Myrtaceae foi de 350 nm a 650 nm, devido a

ocorrência de absorção dos pigmentos analisados, clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides (Figura 9).

Estudos utilizando-se técnicas espectroscópicas vêm sendo utilizados na determinação de pigmentos fotossintéticos. Borello e Domenici (2019), quantificaram carotenoides e derivados de clorofilas por meio de espectroscopia UV-VIS em azeites de oliva. Outro estudo, foi analisada a estrutura da clorofila utilizando-se UV-VIS e análise computacional com amostras de folhas de espinafre Makarska-Bialokoz e Kaczor (2013). Visto a aplicabilidade da técnica em diferentes tipos de amostras, nesse estudo buscamos quantificar os pigmentos fotossintéticos presentes em espécies de plantas da família Myrtaceae.

Figura 9 – Espectros de absorção dos pigmentos vegetais (clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides).



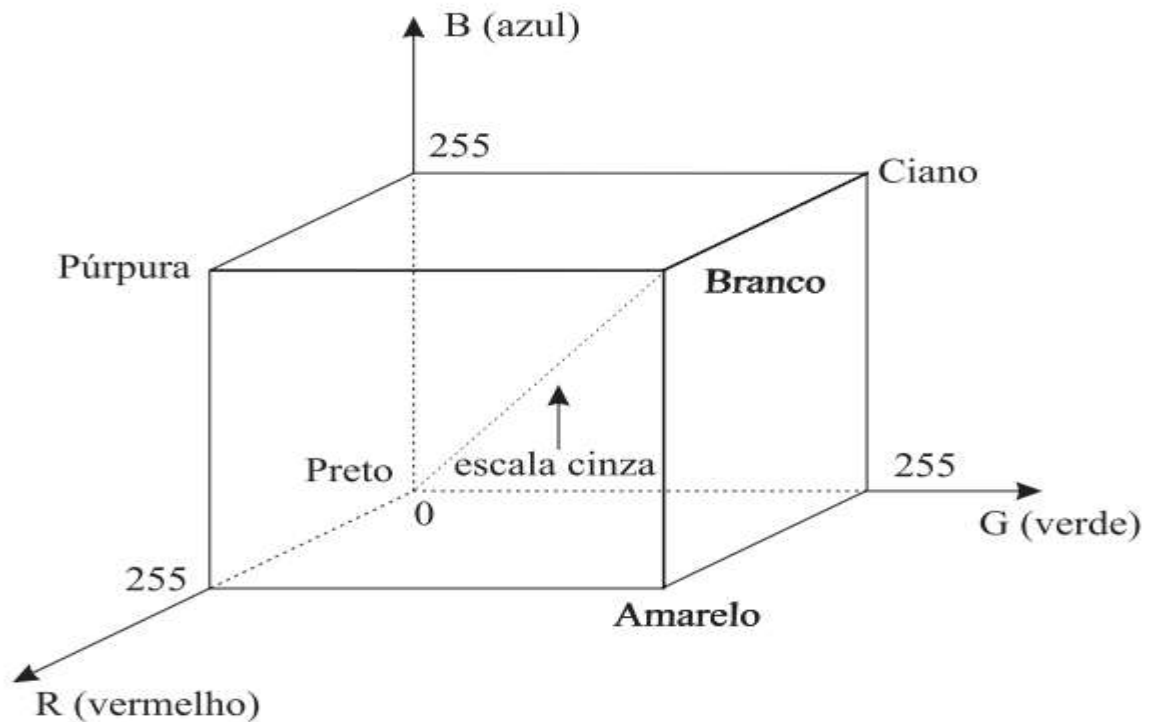
Fonte: Adaptada de Espectrofotometria (2019).

O conjunto de comprimentos de onda que um pigmento não absorve é refletido, e a luz refletida é o que observa-se como cores. A Figura 9 mostra que a absorção das clorofilas está na faixa do violeta/azul (350-400 nm) e na faixa do vermelho (700 nm), por outro lado, os carotenoides (pigmentos de cor característica amarelo ou laranja), absorvem a luz na faixa do violeta e azul-esverdeado (BERNARDI; NICOLINI; NICOLINI, 2017).

### 3.6 IMAGENS RGB

O sistema RGB é a abreviatura das cores aditivas formadas por Vermelho, Verde e Azul, do inglês: *Red*, *Green* e *Blue*, respectivamente, onde essas cores são combinadas de várias maneiras para produzir outras cores (DAMASCENO et al., 2015). As cores variam como índices inteiros entre 0 e 255, permitindo uma combinação de  $256^3$  (= 16.777.216) cores, assim sendo, um tom de cor corresponde a um ponto em um espaço tridimensional formado pelos eixos R, G e B (Figura 10) (GODINHO et al., 2008).

Figura 10 – Cubo de cores RGB. Nas extremidades do cubo estão as cores características.



Fonte: Godinho et al. (2008).

A representação tridimensional, do espaço de cores (Figura 10), pode ser representada como um cubo unitário, no qual os eixos representam essas três cores primárias, vermelho, verde e azul. A origem com valor de (0,0,0) representa o preto e o valor de (1,1,1) representa o branco, e as quantidades de cores primárias são somadas formando outras cores. Na diagonal principal, as quantidades das três cores primárias (vermelho, azul e verde) é a mesma, formando os tons de cinza.

No presente estudo, os tons de cinza das imagens dos extratos de pigmentos fotossintéticos das espécies de Myrtaceae, serão extraídos e posteriormente analisados. Esse padrão RGB de cores serão utilizados para construção de modelos de regressão lineares por aprendizado de máquina, que poderão ser utilizados para se estimar esses tipos de pigmentos nessas espécies de plantas.

### 3.7 PROCESSAMENTO DIGITAL DE IMAGENS

O Processamento Digital de Imagens (PDI) vem se destacando devido a sua crescente disponibilidade de abranger um número cada vez maior de aplicações em diversos âmbitos; tais como, na compreensão de imagens, na análise em multi-resolução e em multi-frequência, na análise estatística, na codificação e na transmissão de imagens (ALBUQUERQUE; ALBUQUERQUE, 2000; MARQUES FILHO; VIEIRA NETO, 1999).

PDI é caracterizado por envolver um conjunto de tarefas interconectadas, onde o início do processo se dá com a obtenção da imagem e após a captura, essa imagem precisa ser representada de forma apropriada para tratamento computacional, podendo ser representada em duas ou mais dimensões (QUEIROZ; GOMES, 2006).

Depois da captura da imagem segue o primeiro passo efetivo do PDI, conhecido como pré-processamento, processo no qual envolve passos como tratar os dados brutos, transformar a radiometria da imagem, corrigir as distorções geométricas, atenuar os efeitos da atmosfera ou remover os ruídos, ou seja, a imagem obtida passa por um processamento digital. O objetivo desses tratamentos é de ajustar a qualidade da imagem que pode ser afetada por ruídos ou pouca definição de detalhes e também é realizado para realçar os detalhes da imagem com algum interesse específico, deixando a imagem preparada para as etapas subsequentes (MELO JÚNIOR et al., 2018; QUEIROZ; GOMES, 2006).

O princípio básico das técnicas de realce é de processar a imagem para que o usuário possa visualizar e avaliar as informações visuais com clareza, facilitando a compreensão. Contudo, a aplicação da técnica de realce na imagem, é subjetiva, sendo que, cada usuário deve ter em mente as características específicas que se deseja extrair da imagem e também é necessário para que não se altere demasiadamente a qualidade da imagem (SOLOMON; BRECKON, 2013).

O PDI nesse estudo possibilita processar as imagens obtidas dos extratos de pigmentos fotossintéticos das espécies estudadas preservando a qualidade das imagens para que possa seguir as etapas subsequentes do projeto e análises futuras.

### 3.8 QUIMIOMETRIA

Há muito tempo a estatística univariada vem sendo aplicada a problemas químicos, mas a sua utilização, tornou-se limitada devido à crescente busca em estudos onde se pretendia determinar o padrão de muitas variáveis respostas em uma matriz de dados. Assim, a análise multivariada foi introduzida no tratamento de dados químicos, ganhando rapidamente popularidade e dando origem a uma nova disciplina, batizada de Quimiometria (SENA et al., 2000).

A Quimiometria é uma área especificamente destinada a análise de dados químicos de natureza multivariada: tem por definição e apresentando um conjunto de métodos matemáticos, estatísticos e computacionais, que são aplicados para investigar, interpretar, classificar e fazer previsão de conjuntos de dados de interesse químico, e também na obtenção informações não triviais a partir de um conjunto de dados complexos. Essa nova área da química surge como uma ferramenta utilizada para auxiliar na interpretação e propor estratégias pré-experimentais em ensaios químicos (PEREIRA, 2016; BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2006; SOUZA; POPPI, 2012; MARÇO, 2009).

Devido ao crescente desenvolvimento na área computacional e na instrumentação científica surgiu diversas novas possibilidades experimentais em um laboratório químico, fazendo que com isso, o surgimento de uma grande quantidade de dados experimentais e em diversos níveis de complexidade. Desde então, devido à capacidade dos instrumentos analíticos em adquirir grandes quantidades de dados de forma rápida, associado a eficácia na capacidade de processamento dos computadores, a Quimiometria se estabeleceu como uma ferramenta indispensável para a exploração, para a modelagem e análise de dados químicos (VALDERRAMA et al., 2016; FERREIRA et al., 1999).

A quimiometria surgiu na década de 70, seu desenvolvimento era baseado na computação científica, onde envolvia principalmente, os métodos estatísticos multivariados, que eram aplicados aos dados da química analítica. Foi na década de

80 que a Quimiometria começou a se destacar, organizada como uma disciplina e onde começou a aparecer as primeiras publicações, associações e cursos dedicados ao tema. Entretanto, somente na década de 90 foi que ela começou a se expandir, com um destaque maior na indústria farmacêutica (HELFER et al., 2015; NETO et al., 2006).

A quimiometria é uma área da Química que está extremamente difundida atualmente, e vem sendo muito utilizada na extração de informações dos mais variados sistemas químicos. Além de ser utilizada na pesquisa básica, na indústria química é utilizada na análise multivariada para otimizar seus processos; sendo assim, nesse contexto, é de fundamental importância formar profissionais com o conhecimento necessário para o desenvolvimento do setor no país (DA-COL; DANTAS; POPPI, 2017).

A Quimiometria, além de suas aplicações na química, também tem sido empregada nas mais diversas áreas da ciência, devido à sua capacidade de fornecer informações, avaliar de forma mais precisa e mais rápida, quando as análises univariadas não conseguem explicar satisfatoriamente o padrão apresentado pelo conjunto de dados. É utilizada em trabalhos como, por exemplo, na avaliação da qualidade de farinhas enriquecidas (SOEIRO et al., 2010), no padrão químico da maçã brasileira (VIEIRA et al., 2011), na análise de adoçantes de mesa (TOZETTO; DEMIATE; NAGATA, 2007), na caracterização e classificação de pequiyeiros (BELO et al., 2013), na avaliação de chás (PEREIRA et al., 2014), na análise da matéria orgânica em solos tropicais (JARQUÍN-SÁNCHEZ et al., 2012), na caracterização de biomassas residuais (RODRIGUES; RAMBO, 2017), além de outras aplicações.

O método quimiométrico que irá ser empregado, dependerá dos dados obtidos através da amostra que será analisada e de qual informação se quer extrair desse conjunto de dados. Em vista disso, existem diversas ferramentas quimiométricas para cada problema a ser abordado. Das diversas frentes de pesquisas da Quimiometria, os autores Souza; Poppi (2012) e Valderrama et al. (2016) destacam algumas em especial, como: planejamento e otimização de experimentos, reconhecimento de padrões e desenvolvimento de modelos de classificação (tais como a Análise Discriminante Linear, k-ésimo Vizinho mais Próximo, Mínimos Quadrados Parciais com Análise Discriminante, resolução de sinais analíticos, calibração multivariada (tais

como os Mínimos Quadrados Clássicos, Mínimos Quadrados Parciais, Regressão pelas componentes principais, regressão linear múltipla e processamento de imagens.

A seguir, uma breve exposição nos itens 3.8.1 até o item 3.8.2, das metodologias empregadas neste trabalho é apresentada.

### 3.8.1 Métodos de Classificação Multivariada

#### 3.8.1.1 Regressão Por Mínimos Quadrados Parciais (PLS)

A regressão por Mínimos Quadrados Parciais (PLS, do inglês Partial Least Squares), é considerado o principal método de regressão para dados multivariados, tem uma vasta aplicação no campo da química analítica, sendo o mais utilizado para análise quantitativa. Esse método não exige um conhecimento preciso de todos os componentes presentes nas amostras, podendo realizar a previsão de parâmetros de interesse mesmo na presença de interferentes, desde que esses estejam presentes na construção do modelo (PEREIRA, 2016; WOLD; SJOSTROM; ERIKSSON, 2001).

Esse método permite generalizar e combinar características da análise de componentes principais e da regressão múltipla. Utiliza-se este método quando precisamos prever um conjunto de variáveis dependentes de um conjunto grande de variáveis independentes (ABDI, 2010).

De modo geral, para dados espectroscópicos e para construção de seus modelos preditivos é construída uma matriz  $X$  com  $m$  colunas, que corresponde ao sinal espectral (absorbância) para cada número de onda, e  $n$  linhas, representando cada amostra (padrão) que corresponde a um espectro. Uma segunda matriz  $Y$ , é definida com  $k$  colunas, com as informações químicas, como por exemplo, concentração e com  $n$  linhas, correspondendo a cada amostra. Utilizando técnicas de análise fatorial a matriz  $X$  é decomposta numa soma de matrizes menores (FERRÃO et al., 2004).

Por meio de PLS é possível resolver problemas de colinearidade com satisfatória habilidade de previsão, por isso, o método é adequadamente aplicado em dados espectrais. As informações das variáveis são reduzidas, fazendo com que os modelos a serem interpretados, se tornem de mais fácil compreensão e entendimento;

e os ruídos espectrais podem ser mantidos fora do modelo, na forma de resíduos (DE MUÑIZ et al., 2012). No modelo PLS, o número ideal de componentes pode ser obtido utilizando-se um procedimento de validação cruzada e a seleção do número ideal de fatores. Esses procedimentos são importantes quando se utilizam o algoritmo PLS, pois desta maneira evitam-se o sobre-ajuste (overfitting) de modelos (MOHAMMADI; KHORRAMI; GHASEMZADEH, 2019).

O método de uso da espectroscopia acoplada a técnicas quimiométricas como regressões PLS, se mostrou adequado, por exemplo, na avaliação de amostras de leite (BASSBASI et al., 2014). Outra aplicação eficiente foi na determinação da viscosidade da solução de polímero na presença de nanopartículas e salinidade de SiO<sub>2</sub> (MOHAMMADI; KHORRAMI; GHASEMZADEH, 2019). Na determinação da autenticidade do óleo de gergelim (YUAN et al., 2020). Ou ainda, pesquisas têm sido realizadas para distinção entre chás verdes orgânicos e tradicionais, proposto por Xu et al. (2019). Esse último, em seu estudo, utilizou-se o método ICP-AES para se determinar o conteúdo de 16 elementos minerais em chás. Os dados foram analisados por estatística multivariada e por algoritmos de classificação como PLS-DA e LS-SVM. Esses algoritmos foram capazes de distinguir os chás verdes orgânicos dos tradicionais.

### 3.8.1.2 Regressão Por Floresta Randômica (FR)

Breiman (2001), introduziu a técnica de classificação chamada por Floresta Randômica (do inglês, Random Forest - FR), essa técnica utiliza um conjunto de árvores de decisão e vetores aleatórios independentes. O conjunto de amostras de treinamento original é dividido em subconjuntos que geram árvores de decisão descorrelacionadas, a qual permite uma classificação final, cuja saída é determinada pela maioria dos votos vencedores das árvores. FR também possibilita trabalhar com variáveis explicativas fracas e com dados de entrada de elevadas dimensões, o que tornou o método atraente para a classificação de imagens hiperespectrais (LIAW; WIENER, 2002; GISLASON; BENEDIKTSSON; SVEINSSON, 2006; ANJOS et al., 2017).



RF é considerada atualmente uma das técnicas de classificação mais bem sucedidas, com base no algoritmo de aprendizado de montagem, que mostrou um desempenho poderoso em problemas multivariados, como em componentes químicos analíticos, para imagens aéreas, espectroscopia no infravermelho próximo, e espectrometria de massa (LIU et al., 2018).

Floresta Randômica (FR) está sendo utilizada em análises de dados químicos, como na classificação da cobertura do solo (GISLASON; BENEDIKTSSON; SVEINSSON, 2006; KULKARNI; LOWE, 2016) e no estudo de caso de lagos e rios (JONES et al., 2017). Este método também é utilizado em análise espectroscópica no infravermelho próximo (NIR), em amostras de misturas complexas de gasolina e nafta (LEE et al., 2013). Outras aplicações também, para estimativa de capacidade online de baterias de íon-lítio (LI et al., 2018), em remoção do azul de bromofenol usando carvão ativado obtido da árvore de *Astragalus bisulcatus* (GHAEDI et al., 2014). Essa técnica também foi utilizada na discriminação geográfica de origem do azeite de oliva (LIU et al., 2018). É uma ferramenta promissora para classificação e controle de qualidade das matérias-primas utilizadas na indústria vinícola (CANIZO et al., 2018), entre outras aplicações.

A fim de se identificar marcadores para diferenciar ou classificar as espécies de Myrtaceae, o presente estudo, propõem a utilização do algoritmo FR para estimar o teor de pigmentos fotossintéticos, bem como sua utilização para a classificação das espécies analisadas nesse trabalho.

### 3.8.1.3 Redes Neurais Artificiais (RNA)

A evolução das Redes Neurais Artificiais (RNAs) iniciou após o estudo de McCulloch e Pitts (1943), onde foi descrito um cálculo lógico das redes neurais, unificando os estudos de neurofisiologia e da lógica matemática. Esse estudo foi aprimorado por Rosenblatt (1958), que trouxe uma nova abordagem para o problema de reconhecimento de padrões, em seu trabalho sobre o *perceptron*, um método inovador de aprendizagem supervisionada.

Uma rede neural artificial é um “processador maciçamente paralelo distribuído, constituído de unidades de processamento simples, que têm propensão natural para

armazenar conhecimentos experimentais e tomá-los disponíveis para o uso” (HAYKIN, 2001). As RNA se assemelham ao cérebro de duas maneiras:

O conhecimento é adquirido pela rede por meio de dados do ambiente, num processo de aprendizagem. Processo de treinamento é chamado de "Algoritmo de Aprendizagem", que tem como finalidade ajustar os pesos sinápticos da rede de uma forma ordenada para alcançar um objetivo desejado. As conexões entre os neurônios, conhecidas como pesos sinápticos, são utilizadas para armazenar o conhecimento adquirido (HAYKIN, 2001).

RNA é formada por um grupo de neurônios artificiais. Constituídos de três camadas (entrada, intermediária e saída) que são conectadas umas com as outras por meio de conexões matemáticas (BAS; BOYACI, 2007). Assim, as RNAs possuem a capacidade de aprendizagem a partir de dados reais e disponibilizam esse conhecimento para posterior utilização (SILVA; SPATTI; FLAUZINO, 2010).

Na camada de entrada as informações (dados) são ponderadas (através dos pesos sinápticos), que são elementos de entrada para o neurônio. O neurônio é composto por função agregadora, limiar de ativação, potencial de ativação, função de ativação e saída (resposta). A função agregadora recebe todos os sinais e realiza a soma dos produtos desses sinais, o limiar de ativação é uma constante que permite ou não a passagem da informação para a função de ativação, o valor de saída da função geradora e o valor de entrada da função de ativação é chamado de potencial de ativação. A função de ativação é responsável por modificar o valor do potencial de ativação para a obtenção da resposta do neurônio, ou seja, valor de saída (ELMOLLA et al., 2010; KHATAEE et al., 2010; SILVA; SPATTI; FLAUZINO, 2010).

As redes neurais podem ser compostas por uma série de algoritmos de aprendizagem, onde cada tipo de algoritmo opera de forma diferente. O algoritmo ajusta os pesos das interconexões de maneira a reduzir o erro entre o valor obtido e o valor desejado. Assim, através do método de tentativa e erro, o programa continua a alterar as conexões internas até alcançar um menor erro possível (RAI; MAJUMDAR, DASGUPTA, 2005).

Recentemente, redes neurais artificiais têm se tornado bastante populares e úteis de forma geral na criação de modelos de classificação, agrupamento, reconhecimento de padrões e previsões em muitos campos da ciência, ganhando

cada vez mais espaço competitivo entre os demais algoritmos em estado da arte (ABIODUN et al., 2018).

#### *3.8.1.4 Regressão por Máquina de Vetores de Suporte (SVM)*

SVM (Support Vector Machine Regression) é um método de regressão ou de classificação, dependendo da variável alvo e é baseado na teoria estatística da aprendizagem (CORTES; VAPNIK, 1995). É muito utilizado em tarefas de classificação de dados, já que apresenta vantagens na solução de problemas práticos, como o pequeno tamanho da amostra, não linearidade de dados e conjuntos de dados de alta dimensão.

SVM é aplicado com o objetivo de mapear os dados de entrada originais para um espaço de característica de alta dimensão, definindo uma margem máxima de separação entre classes e estabelecendo um hiperplano de classificação na área central da margem máxima (PRADHAN, 2013).

SVM é um método de aprendizado supervisionado desenvolvido a partir da teoria estatística do aprendizado para analisar dados e reconhecimento de padrões, que pode ser usado para classificar e também pode ser utilizado para regressão de modelos, a partir dos dados de entrada (VAPNIK, 1995).

A pesquisa neste estudo utiliza SVM como uma técnica de regressão e o princípio básico é mapear os dados para um espaço de característica de alta dimensão usando um mapeamento não linear  $\Phi(x)$  e depois construir a função de estimativa de regressão no espaço de característica de alta dimensão. Em seguida, mapeia-se novamente o espaço original, com essa transformação não linear para alcançar e definir a função de kernel apropriada  $K(x_i, y_i)$  (ABDOLLAHI et al., 2019).

O algoritmo de regressão SVM padrão (SMOLA; SCHOLKOPF, 2004) foi utilizado neste estudo. O modelo de regressão é construído usando uma função de mapeamento não-linear (função do kernel), que mapeia os dados de entrada (os dados espectrais do FTIR coletados) para um espaço de característica hiperdimensional em que a solução se torna linear. A função de base radial (RBF) está sendo usada neste estudo como uma função de mapeamento.

A operação do SVM pode ser resumida da seguinte forma: o SVM transforma o espaço de entrada em um espaço de característica linear de alta dimensão, empregando-se uma função de transformação não linear  $\phi$ . Nesse espaço linear de alta dimensão, é construído um plano de separação linear ideal (BONAH et al., 2020).

O princípio básico deste processo é se utilizar a função kernel para mapear o vetor aleatório  $x$  no espaço vetorial  $n$ -dimensional para o espaço de característica alta-dimensional, de modo que a superfície de classificação ideal com o maior intervalo de classificação possa ser obtida (HOU et al., 2018).

### 3.8.2 Figuras de Mérito dos Modelos

Quando um novo procedimento analítico é estabelecido ou proposto, é necessário que se faça um exame para saber se o método apresenta um perfil apropriado para os fins a que se destina, como sua confiabilidade e rastreabilidade, processo que denominamos validação.

Dados analíticos cuja confiabilidade duvidosa podem levar o analista a cometer erros grosseiros assim como grandes prejuízos financeiros, a fim de evitar essas consequências e garantir que o novo método traga informações verdadeiras, sugere-se a validação.

A validação de um método significa que por meio de uma série de estudos organizados realizados em laboratório, o método atende a sua aplicação, normas e regularizações estabelecidas por agências reguladoras e órgãos de fiscalização nacionais e internacionais. Dentre as agências e órgãos regulamentadores mais conhecidos temos: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO), *United States Pharmacopeia* (USP), *International Conference on Harmonisation's* (ICH), *International Standard Organization* (ISO), e *American Society for Testing and Materials* (ASTM) (VALDERRAMA; BRAGA; POPPI, 2009).

Um processo de validação bem estruturado e documentado, possibilita às agências reguladoras, a garantia de que o método e os sistemas são adequados e confiáveis para o uso esperado (RIBANI et al., 2004). Uma das formas de se obter a garantia da aplicabilidade do método (validação), é através da determinação de parâmetros que são conhecidos como figuras de mérito.

Ribeiro et al. (2008) evidencia que as figuras de mérito são os indicadores quantitativos do intuito e do bom desempenho das técnicas. Na literatura, as figuras de mérito para a calibração univariada se apresentam como: seletividade, linearidade, sensibilidade analítica do método, intervalo de confiança, ajuste do modelo, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), precisão, exatidão, razão sinal ruído, robustez, erro sistemático (“bias”) (BRAGA, 2004).

Já as principais figuras de mérito para a calibração multivariada, são: linearidade – que é avaliada qualitativamente por meio do gráfico dos resíduos de previsão para as amostras de calibração e validação, bem como, exatidão – em quimiometria. A exatidão pode ser avaliada com base nos resultados da raiz quadrada do erro quadrático médio de previsão (RMSEP – do inglês *Root Mean Squares Error of Prediction*), sendo uma aproximação do erro padrão das amostras de predição. O coeficiente de determinação ( $R^2$ ), também é uma figura de mérito e fornece informações sobre a qualidade do ajuste do modelo, onde os valores a serem obtidos variam de 0 a 1,0. A precisão – avalia a proximidade dos resultados obtidos em uma série de replicatas autênticas e pode ser determinada em níveis, como: repetibilidade, precisão intermediária, reprodutibilidade e precisão média; erro quadrático médio de calibração estimado por validação cruzada (MSECV – *Mean Square Error of Cross Validation*); e intervalo de confiança. Relação de Predição do Desvio (do inglês, *Residual Prediction Deviation - RPD*), é definida como a razão entre o desvio padrão (DP) dos valores de referência e RMSECV; Extensão da faixa de trabalho; Sensibilidade (SEN) e sensibilidade analítica ( $\gamma$ ); Robustez; Ajuste; raiz quadrada do erro quadrático médio de previsão (RMSEP); sinal analítico líquido (NAS – *Net Analyte Signal*); desvio padrão dos erros de validação (SDV – do inglês *Standard Deviation of Validation*), erro médio quadrático da calibração (MSEC – *Mean Square Error of Calibration*) (VALDERRAMA, 2009; VALDERRAMA; BRAGA; POPPI, 2009) são algumas das figuras de mérito que podem ser calculadas nas análises multivariadas.

Ainda, figuras de mérito são utilizadas na química analítica para avaliar o desempenho de procedimentos, validar metodologias, métodos e instrumentação, utilizando-se parâmetros numéricos. Alguns parâmetros normalmente utilizados para o reconhecimento de padrões são a exatidão, sensibilidade, especificidade, seletividade, taxa de classificação correta. Taxa de Falsos positivos, índice Kappa, entre outros, sendo todos obtidos através da matriz de confusão. Para obtenção

desses parâmetros, os resultados obtidos pelos métodos de classificação multivariada são organizados na forma de matriz de confusão, (matriz de classificação ou de erro também são denominações encontradas).

Na matriz são apresentados os resultados das classificações da classe verdadeira (linha da tabela) versus a classe atribuída (coluna) (LAVINE, 2009; BALLABIO; CONSONNI, 2013; FERREIRA, 2015). Uma matriz de erro é uma matriz quadrada de números estabelecidos em linhas e colunas que expressam o número de unidades de amostragem (ou seja, pixels, aglomerados de pixels, ou polígonos) atribuído a uma determinada categoria. A matriz de erro é uma maneira muito eficaz para se representar a precisão de cada categoria, juntamente com os erros de inclusão (erros de comissão) e erros de exclusão (erros de omissão) presentes na classificação (CONGALTON, 1991).

Dentre as características principais para se avaliar a performance dos modelos de classificação em função dos parâmetros de desempenho e número de acertos, destacam-se a taxa de classificação correta (CCR), sensibilidade, especificidade, acurácia e seus complementos, taxa de falsos positivos (especificidade) e taxa de falsos negativos (sensibilidade), Coeficiente de Correlação de Matthew's (CCM), índice de Kappa, etc (TAVARES et al., 2012; LÓPEZ, CALLAO & RUISÁNCHEZ, 2015).

A sensibilidade da classificação é também conhecida como precisão e indica o quão bem o modelo é capaz de classificar corretamente as amostras dentro de sua classe verdadeira. E, de maneira semelhante, a seletividade informa a habilidade do modelo em identificar amostras que não são de determinada classe e que foram classificadas realmente como não sendo (FERREIRA, 2015). A precisão é a proporção de classificação correta independente da classe na qual a amostra melhor se enquadra (XU et al., 2012).

Os parâmetros de desempenho são um conjunto de atributos mensuráveis que têm de ser estabelecidos com suas probabilidades e que surgem a partir de quatro possíveis cenários: (i) amostras da classe A atribuídas corretamente à classe A (verdadeiro positivo – TP, do inglês true positive), (ii) amostras da classe B atribuídas corretamente à classe B (verdadeiro negativo – TN, do inglês true negative), (iii) amostras da classe A atribuídas erroneamente à classe B (falso positivo – FP, do inglês false positive) e, por fim, (iv) amostras da classe B atribuídas erroneamente à

classe A (falso negativo – FN, do inglês false negative (LAVINE, 2009; BALLABIO; CONSONNI, 2013; FERREIRA, 2015).

Em uma explanação mais direta, pode-se dizer que, as amostras podem ser definidas como positivo verdadeiro (TP) (o número de amostras positivas que são corretamente identificadas como amostras positivas); falso negativo (FN) (o número de amostras positivas classificadas incorretamente como amostras negativas); falso positivo (FP) (o número de amostras negativas incorretamente identificadas como amostras positivas) e negativo verdadeiro (TN) (número de amostras negativas identificadas corretamente como amostras negativas) (YUAN et al., 2020). Após terem sido determinados o número de amostras falso positivas e falso negativas, podem ser estimadas: Taxa de Falso Negativo (TFN), Taxa de Falso Positivo (TFP), Taxa de Seletividade (TSL), Taxa de Especificidade (TES) e Taxa de Confiabilidade (TCF) (NATA, 2013).

Já o índice Kappa mede o desempenho do classificador através da concordância entre as classes preditas e observadas e visa auxiliar na interpretação dos resultados. O desempenho pode ser então classificado em 5 categorias: Categoria A: 0,81-1,00 = excelente; B: 0,61-0,80= substancial; C: 0,41-0,60 = moderada; D: 0,21-0,40= considerável; E: 0,00-0,20 = ligeira; F: < 0 = péssima (LANDIS; KOCH, 1977).

Dentre as figuras de mérito comumente utilizadas na validação de modelos qualitativos estão a sensibilidade, seletividade (especificidade) e a área abaixo da curva ROC (Receiver Operating Characteristic) (MENDES et al., 2019). A análise das curvas ROC é uma técnica utilizada para avaliar classificadores, sendo uma demonstração bidimensional da eficiência de um classificador, ou seja, é uma curva que plota todos os possíveis valores limites de um classificador (THORNTON, 1975).

A sensibilidade expressa a capacidade do modelo de identificar as amostras de uma determinada classe como pertencendo a mesma, enquanto a seletividade reflete sua capacidade de reconhecer as amostras que não são daquela classe e não as atribuir a mesma. A combinação de ambas resulta em uma terceira figura de mérito, a área abaixo da ROC curve, a qual provém da plotagem da seletividade vs sensibilidade. Esse parâmetro varia de 0 a 1, sendo que quanto mais próximo de 1 é a área, mais confiável é o modelo, pois significará que para cada amostra classificada

corretamente, não houve amostras alocadas na classe errada (CALLAO; RUISÁNCHEZ, 2018; MENDES et al., 2019).

Quando o método depende da seleção de um limite de decisão, as curvas ROC podem ser utilizadas para avaliar o desempenho geral do método. Em uma curva ROC, a verdadeira taxa positiva (sensibilidade) é plotada como uma função, a taxa de falso positivo (especificidade 1) e a Área sob a curva (AUC) podem ser utilizadas como uma métrica para o desempenho do método. Um limite de decisão específico pode ser determinado examinando as curvas de taxa de falso positivo e falso negativo plotadas em relação aos possíveis limites, a fim de se selecionar um limite que ofereça o nível de desempenho desejado para esse método (SALONEN et al., 2019).

O Coeficiente de Correlação de Matthews (CCM) expressa através de seu valor o grau de eficiência do modelo construído. A partir de seu cálculo, o resultado obtido é dado por um único valor numérico entre  $-1$  e  $+1$ , onde um valor de  $+1$  corresponde a uma eficiência de 100%, valor igual a 0 uma classificação errada e igual a  $-1$  uma classificação inversa (ALMEIDA et al., 2013; BALLABIO; CONSONNI, 2013; WORLEY; HALOUSKA; POWERS, 2013).

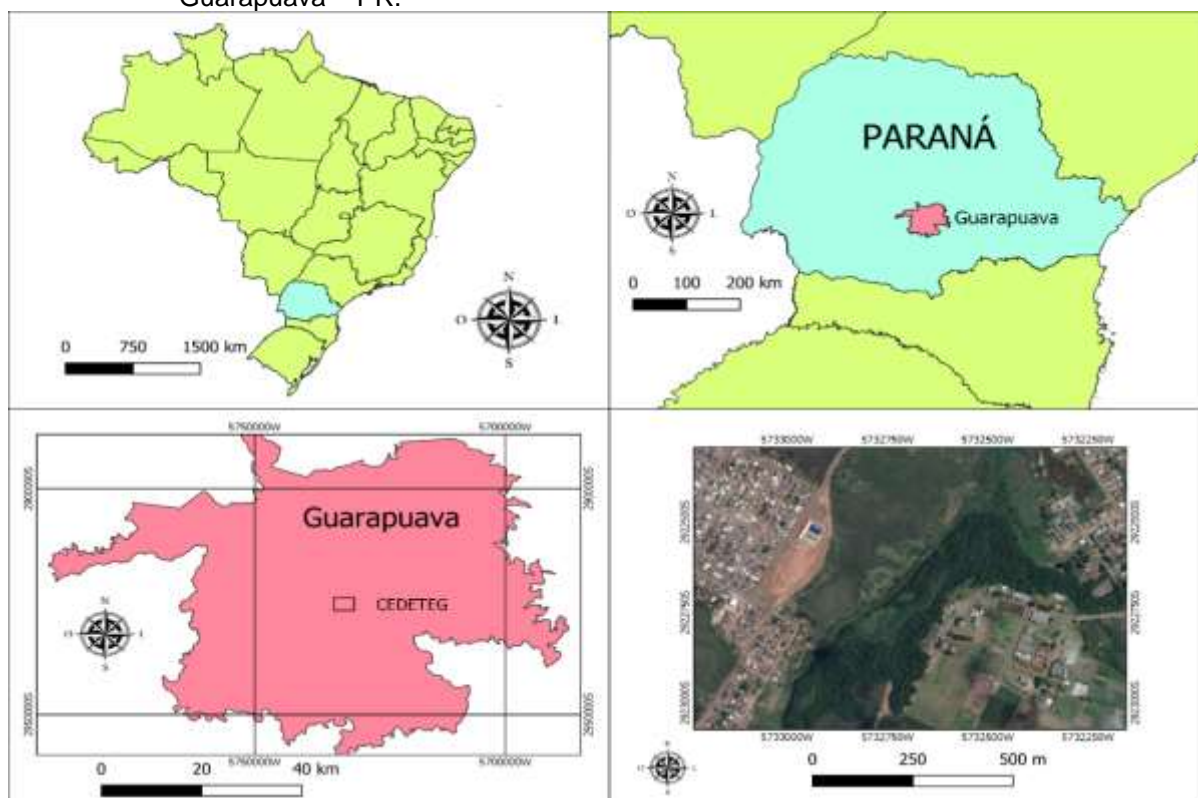


## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 LOCAL DO EXPERIMENTO

A área de estudo é um fragmento de Floresta Ombrófila Mista Aluvial, com aproximadamente 11,5 ha, localizada no Campus CEDETEG da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), em Guarapuava – PR, no terceiro planalto paranaense, a uma altitude média de 1020 m. Está delimitada pelas coordenadas geográficas 25° 23" 00" S – 51° 30" 00" W e 25° 22" 47" S – 51° 29" 43" W (Figura 11).

Figura 11 – Localização geográfica da área de estudo no Campus CEDETEG da UNICENTRO, Guarapuava - PR.



Fonte: Ceccon, V. (2020) (programa QGIS).

O clima da região é do tipo Cfb, com verões amenos, geadas severas e sem estação seca definida. A temperatura média é de 17,1 °C, umidade relativa do ar entre 72 a 81% e precipitação anual de 1915 mm (ALVARES et al., 2013; IAPAR, 2000). Já

o tipo de solo predominante é o Latossolo Bruno Ácrico Húmico – LBw (GHIDIBGEIN et al., 2006).

A área de estudo está inserida em uma região de solo frequentemente alagável e muito úmido, sendo margeado na porção norte pelo Arroio Carro Quebrado e na porção oeste pelo rio Cascavelzinho, pertencentes à bacia do Rio Cascavel.

## 4.2 AMOSTRAS

Foram selecionadas cinco espécies de Myrtaceae no campus CEDETEG, sendo elas: araçá (*Psidium cattleianum*), pitanga (*Eugenia uniflora*), sete-capotes (*Campomanesia guazumifolia*), guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa*) e cereja-do-rio-grande (*Eugenia involucrata*). As espécies foram identificadas com ajuda do taxonomista botânico, Joelmir Augustinho Mazon. As amostragens para essas espécies ocorreram de duas maneiras: (a) indivíduos alocados *in situ* foram utilizados para análises de fluorescência da clorofila *a* e (b) folhas maduras completamente expandidas, com aspectos saudáveis e sem danos visíveis foram selecionadas e arrancadas dos pés dos espécimes para análise de seus teores de seus pigmentos fotossintéticos.

## 4.3 AVALIAÇÕES FISIOLÓGICAS

### 4.3.1 Fluorescência da Clorofila *a*

Na análise da fluorescência da clorofila *a* foram selecionados galhos com folhas maduras, com aspecto saudável e sem danos visíveis, de forma a não comprometer o resultado da análise, das cinco espécies de Myrtaceae que foram analisadas (*Psidium cattleianum*, *Eugenia uniflora*, *Campomanesia guazumifolia*, *Campomanesia xanthocarpa* e *Eugenia involucrata*). As folhas foram adaptadas ao escuro, por um período de 20 minutos, suficientes para a oxidação completa dos transportadores de elétrons dos fotossistemas nas membranas dos tilacoides (GOLTSEV et al., 2016).

Os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* foram realizados por meio da indução de cinética rápida ou transitória (curva OJIP ou curva de Kautsky). Já os

parâmetros: rendimento fotoquímico máximo do PSII (YII); taxa relativa de transporte de elétrons (ETR); fluorescência inicial ( $F_0$ ); fluorescência máxima ( $F_m$ ); fluorescência variável ( $F_v$ ); estimativa da eficiência quântica máxima do PSII ( $F_v/F_m$ ); atividade potencial do PSII ( $F_v/F_0$ ) dissipação fotoquímica ( $q_P$ ); e dissipação não-fotoquímica ( $q_N$ ) (KRAUSE; WEIS, 1991), foram obtidos por meio da indução de curva ou cinética lenta.

As leituras da fluorescência da clorofila *a* ocorreram no período da manhã entre 7h00 às 11:30 h utilizando-se o equipamento portátil PAM-2500 (*Portable Chlorophyll Fluorometer*, Heinz Walz - Alemanha). A intensidade do pulso de luz saturante e actínica foi de  $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e a intensidade de luz modulada de  $1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , obtendo-se as respostas relacionadas aos transientes da fluorescência da clorofila *a*, de acordo com equações do teste OJIP (STRASSER; SRIVASTAVA; GOVINDJEE, 1995).

As análises foram realizadas em 13 dias não consecutivos, durante os meses de fevereiro a abril de 2019 (21/02/2019 a 04/04/2019), totalizando 287 análises de fluorescência da clorofila *a* para cada espécie de plantaw.

#### 4.3.2 Análise do teor de pigmentos (Clorofilas *a*, *b*, total e Carotenoides)

Para a estimativa do teor de pigmentos, foram coletadas 15 folhas de cada espécie de Myrtaceae, (araçá, pitanga, sete-capotes, guabiroba e cereja-do-rio-grande), totalizando 75 amostras. As análises foram realizadas durante a primeira semana de dezembro de 2019.

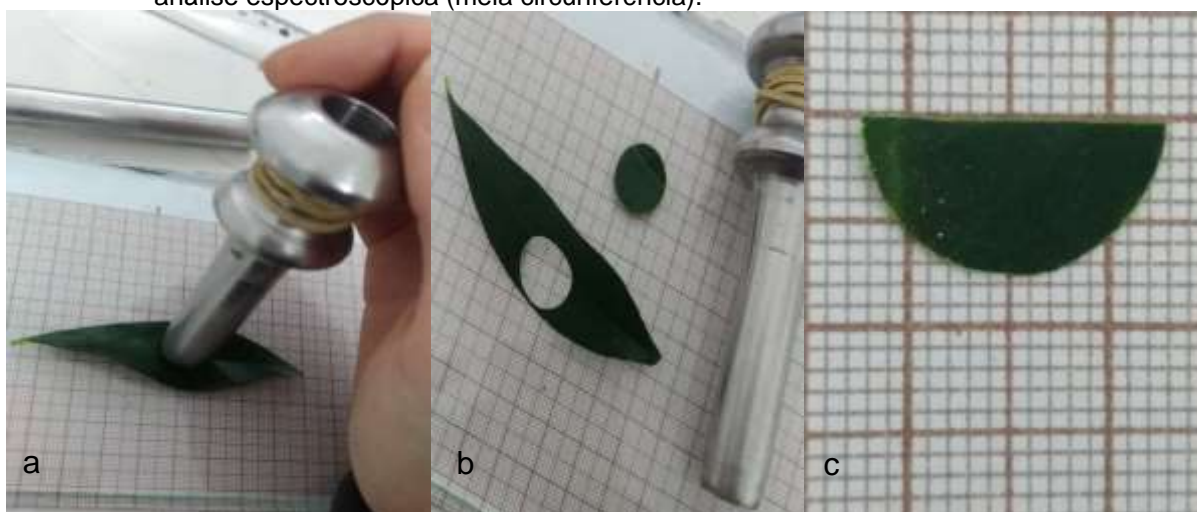
Essas folhas, após coletadas e foram seccionadas conforme ilustrado na Figura 12a, 12b e 12c. As folhas das espécies foram pesadas e posteriormente, foram acondicionadas em envelopes de papel alumínio, para evitar a degradação dos pigmentos pela luz, até o momento da análise. O método de amostragem para a análise do teor de pigmentos, foi proposto pelos autores do trabalho.

Para a determinação do teor de pigmentos foram utilizados os protocolos descritos por Porra, Thomson e Kriedemann (1989) e Wellburn e Lichtenthaler (1983). As análises dos teores de pigmentos das folhas das espécies de Myrtaceae foram realizadas no Laboratório de Ecotoxicologia, do Departamento de Ciências Biológicas

do Campus CEDETEG – Unicentro, em ambiente escuro, de forma que, durante o processo, não houvesse degradação dos pigmentos fotossintéticos.

Na extração dos pigmentos fotossintéticos, macerou-se as amostras (meia circunferência das folhas das espécies) com o auxílio de almofariz e pistilo, adicionando-se 0,05 g de carbonato de cálcio e 8 mL de acetona 80%, os quais foram, posteriormente centrifugados por 20 minutos a 4000 rpm. A massa das amostras que foram maceradas, variou entre 0,013 a 0,033 gramas.

Figura 12 – Corte das folhas das espécies de Myrtaceae para a análise do teor de pigmentos: (a) molde utilizado para o primeiro corte na folha; (b) folha após o corte; (c) amostra utilizada na análise espectroscópica (meia circunferência).



Fonte: A autora (2020).

Os sobrenadantes obtidos após a centrifugação (Figura 13), foram diluídos com acetona 80%, em uma proporção 1:4 (1 mL do extrato sem diluição e 4 mL de acetona 80%), a fim de respeitar a Lei de Lambert-Beer. Posteriormente o sobrenadante diluído foi analisado nas absorvâncias de 470 nm, 663,6 nm e 646,6 nm com o espectrofotômetro UV-VIS (UV-1800, Shimadzu). Uma varredura entre os comprimentos de onda 350 a 750nm também foi realizada para cada amostra.

Figura 13 – Imagem do sobrenadante do teor de pigmentos utilizada para o recorte.



Fonte: A autora (2020).

Para estimar os teores dos pigmentos clorofilianos, foram utilizadas as equações (1 a 4) inicialmente propostas por Wellburn e Lichtenthaler (1983) e adaptadas por Porra et al. (2002).

$$\text{Chl } a \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \right) = 12,21 A_{663,6} - 2,81 A_{646,6} \quad (1)$$

$$\text{Chl } b \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \right) = 20,13 A_{646,6} - 5,03 A_{663,6} \quad (2)$$

$$\text{Chl } a + b \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \right) = 17,76 A_{646,6} + 7,34 A_{663,6} \quad (3)$$

$$\text{Carotenoides} \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \right) = \frac{1000_{470} - 3,27 [\text{Chl } a] - 104 [\text{Chl } b]}{229} \quad (4)$$

Onde: A corresponde a absorvância no comprimento de onda indicado;  $A_{663,6}$ , absorvância em 663,3 nm,  $A_{646,6}$ ; absorvância em 646,6 nm e  $A_{470}$ , absorvância em 470 nm.

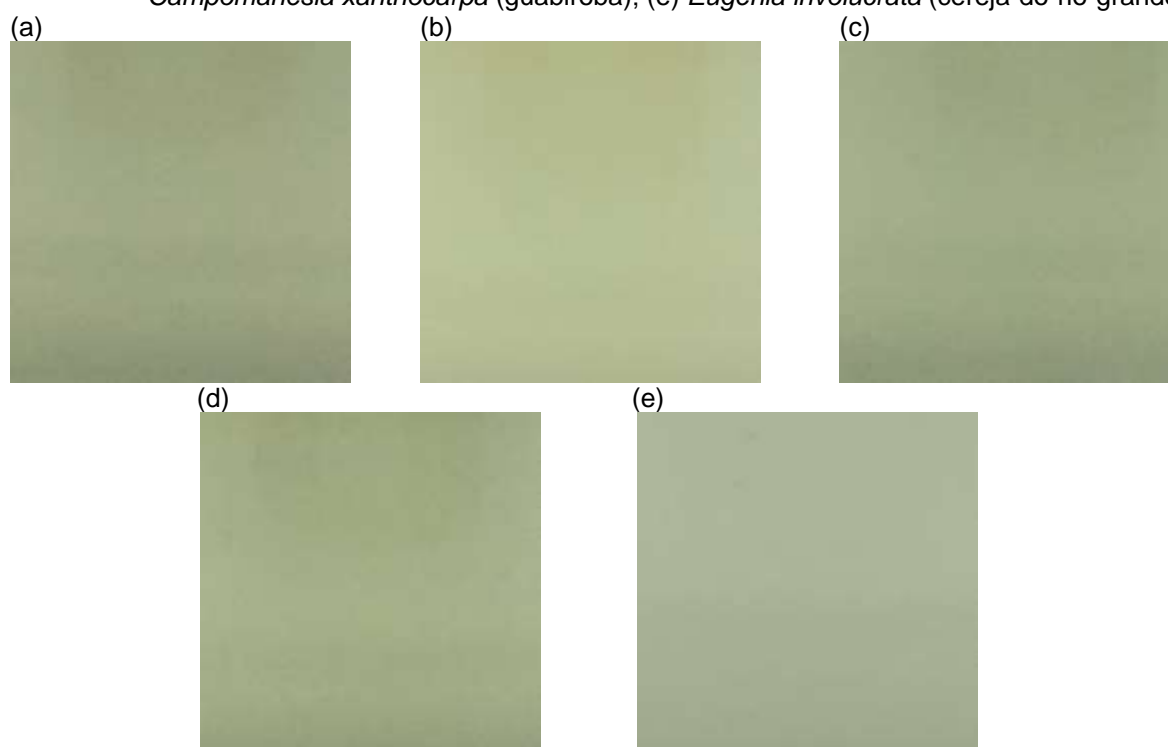
#### 4.4 IMAGENS RGB

Um conjunto de 15 imagens para cada espécie de Myrtaceae foram adquiridas utilizando uma câmera com 16 Megapixels (Mp), resolução de 4608x3456 *pixels*, de um aparelho *smartphone* da marca Asus, modelo Zenfone 3 ZE520KL. Após a

captura, as imagens foram recortadas no *software* GIMP 2.10.12 com resolução de 500X500 pixels (Figura 14) e salvas no formato PNG.

Em seguida, para a decomposição das camadas de cor por *pixels* foi utilizado o *software* ChemoStat® analisando os dados dos histogramas R, G e B das respectivas imagens.

Figura 14 – Recortes (500x500 pixels) após a captura das imagens: (a) *Psidium cattleianum* (araçá); (b) *Eugenia uniflora* (pitanga); (c) *Campomanesia guazumifolia* (sete-capotes); (d) *Campomanesia xanthocarpa* (guabiroba); (e) *Eugenia involucrata* (cereja-do-rio-grande).



Fonte: A autora (2020).

#### 4.5 QUIMIOMETRIA

Nesta dissertação de mestrado sempre foram utilizados dois conjuntos de dados, um para a construção do modelo com aproximadamente 70% das amostras. Neste conjunto de dados, também se realizou a validação interna dos modelos, chamada de *Cross Validation* (CV). Os outros 30% das amostras foram utilizadas para a validação externa, conforme metodologia proposta por Santos e Colnago (2018).

No presente trabalho, os resultados obtidos por meio das análises dos teores de pigmentos das espécies *Psidium cattleianum*, *Eugenia uniflora*, *Campomanesia guazumifolia*, *Campomanesia xanthocarpa* e *Eugenia involucrata*, e no PDI foram

modelados utilizando o *software Weka 3.9 (Waikato Environment for Knowledge Analysis)*, onde foram realizadas as regressões lineares dos dados utilizando os algoritmos PLS e por FR.

Também com os resultados obtidos nas análises dos teores de pigmentos das cinco espécies de Myrtaceae estudadas, foram modelados utilizando o *software Weka 3.9*, realizando a classificação das espécies com os algoritmos PLS, FR, RNA e SVM.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

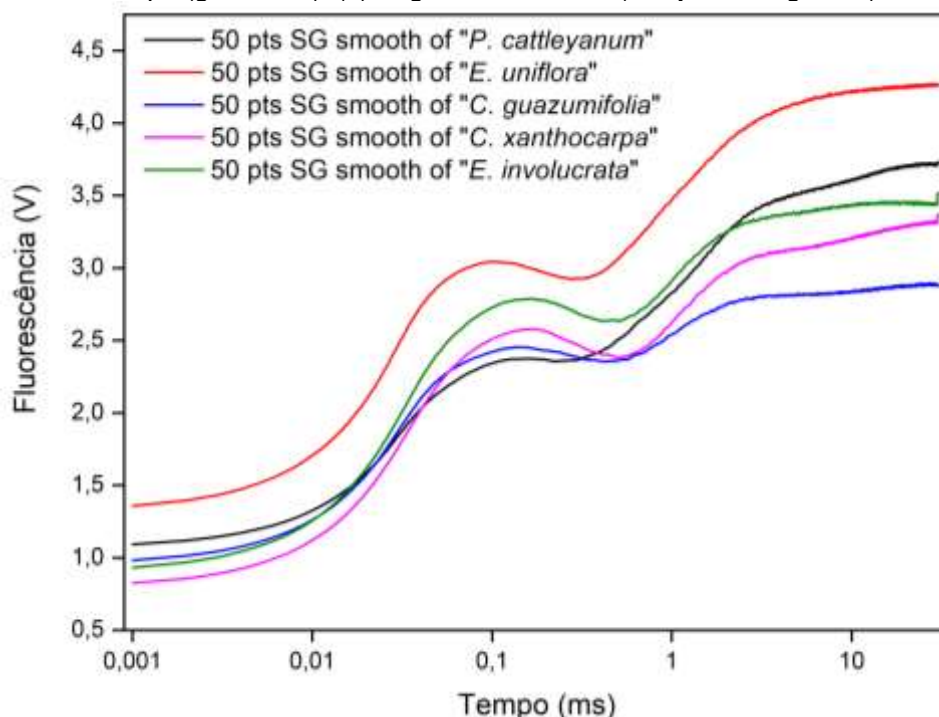
### 5.1 AVALIAÇÕES FISIOLÓGICAS

#### 5.1.1 Fluorescência da Clorofila a

Os dados das análises de Fluorescência foram obtidos conforme descrito na seção 4.3.1 (material e métodos), e posteriormente construído uma planilha no excel com as 287 análises de fluorescência da clorofila a para cada espécie de Myrtaceae.

Com esses dados foi possível construir as curvas de fluorescência média para cada espécie (Figura 15). O *smooth* com a primeira derivada e janela com 50 pontos foi aplicado nas curvas para obter-se sua suavização.

Figura 15 – Curvas de indução de fluorescência variável em espécies de Myrtaceae adaptadas ao escuro (20 min de adaptação ao escuro). (—) *Psidium cattleyanum* (araçá), (—) *Eugenia uniflora* (pitanga), (—) *Campomanesia guazumifolia* (sete-capotes), (—) *Campomanesia xanthocarpa* (guabiroba), (—) *Eugenia involucrata* (cereja-do-rio-grande).



Fonte: A autora (2019).

A figura acima (Figura 15) apresenta as curvas OJIP obtidas na análise de fluorescência da clorofila a das cinco espécies de Myrtaceae. As diferentes fases do aumento da fluorescência (O–J, J–I e I–P) podem ser relacionadas e fornece



informações sobre as diferentes etapas da redução da cadeia de transporte de elétrons (CTE) (GOLTSEV et al., 2016).

Na transição do escuro para o claro, a intensidade da fluorescência de uma folha ou de outras amostras fotossintéticas aumenta de um valor baixo conhecido como  $F_0$  ou ponto O da curva, passa por duas outras etapas intermediárias,  $F_J$  ou ponto J, e  $F_I$  ou ponto I, em 200-300 ms até o ponto máximo  $F_M$  ou ponto P, durante a aplicação de um pulso saturado de luz (KALAJI et al., 2014).

O primeiro ponto da curva de indução é o ponto O, é conhecido como fluorescência inicial representado também por  $F_0$  ou  $F_O$ , ele representa principalmente as perdas de energia nos pigmentos da antena no PSII (KRAUSE; WEIS, 1991). Observando as curvas (Figura 15), nota-se que a espécie da Guabiroba foi a que apresentou a menor perda e a espécie da pitanga a maior perda de energia ao se iniciar a análise.

Do ponto  $F_0$  para o ponto  $F_P$  (ponto O ao ponto P), ocorre um aumento do rendimento da fluorescência da clorofila, passando por vários estágios. Essa passagem depende também do funcionamento adequado dos lados acceptor e doador do PSII, do transporte de elétrons no PSII, assim como, da eficiência das interações entre as unidades fotossintéticas, a qual determina a possibilidade de transferência de energia de excitação entre os centros de reação vizinhos (GOLTSEV et al., 2016).

O ponto J é considerado como a fluorescência no tempo de 2ms ( $F_J = F_{2ms}$ ), esse ponto ocorre após 2–5 ms de iluminação, é onde ocorre o equilíbrio entre as taxas de redução da quinona primária ( $Q_A$ ) e reoxidação da  $Q_A$ , pelo *pool* de plastoquinonas (PQ), ou seja, se tornam iguais, fazendo com que a fluorescência atinja o nível J (GOLTSEV et al., 2016; KALAJI et al., 2014). No presente trabalho, observamos que no ponto J, a pitanga continua com os maiores valores de fluorescência e o araçá passa a ter os menores valores.

Após atingir o ponto J, o ponto I da curva de indução de fluorescência, também conhecido como fluorescência no tempo de 30 ms ( $F_{30ms}$ ) é atingido através do equilíbrio entre a redução do *pool* de PQ e sua reoxidação pelo PSI (KALAJI et al., 2014). Valor que se mantém elevado para a pitanga.

Quando a fluorescência atinge o ponto P ou  $F_M$  (aproximadamente 300 ms) da curva transiente (OJIP), pode-se dizer que o lado acceptor do PSII está fechado (quinonas completamente reduzidas), devido à redução de toda a cadeia

transportadora de elétrons, redução completa dos aceptores do PSI disponíveis, resultado do acúmulo de elétrons no lado acceptor do PSI, que corresponde à redução máxima de aceptores de PSII e ao menor rendimento de reações fotoquímicas (STIRBET; GOVINDJEE, 2011).

O resultado da máxima fluorescência foi observado para a pitanga, espécie que sempre apresentou os maiores valores (Figura 15) da curva OJIP e sete-capotes que apresentou os menores valores.

Os parâmetros de fluorescência obtidos conforme descritos na seção 4.3.1 (material e métodos) foram utilizados para fazer a modelagem para a classificação das espécies pelos atributos da fluorescência da clorofila *a*.

Para a modelagem, utilizou-se também o software *Weka*, aplicou-se um método de separação das amostras, separando-as aproximadamente em 2/3 (765 amostras) para modelagem e 1/3 (329 amostras) para a validação externa. O próximo passo então, foi fazer a modelagem aplicando-se os algoritmos de classificação por FR, escolhido pelos autores por apresentar resultados mais eficazes.

A planilha original dos dados continha inicialmente 38 atributos e 765 amostras para a calibração dos modelos. E para a validação externa, os mesmos 38 atributos foram mantidos para suas 329 amostras. Não foi aplicado nenhum filtro para seleção de atributos neste conjunto de dados. O algoritmo de classificação por FR, foi processado com as seguintes especificações: *BatchSize* igual a 10, *ComputeAttributeImportance* igual a *true*, *debug* igual a *true*, *numDecimalPlaces* igual a dois, *MaxDepth* igual a 20, *numiterations* igual a 200, *outputOutOfBagComplexityStatistics* igual a *true*. Os resultados das modelagens, bem como da matriz de confusão são mostrados a seguir (Tabelas 1 a 6).

Tabela 1 – Resultado do *Cross Validation* por FR dos parâmetros da fluorescência da clorofila a.

	<b>Instâncias classifica das corretame nte</b>	<b>Instâncias classificadas incorretamente</b>	<b>Estatísti ca Kappa</b>	<b>Erro absoluto médio</b>	<b>Raiz quadrada do erro médio</b>
	615 (80,39%)	150 (19,61%)	0,7549	0,1345	0,2403
<b>Espécies</b>					
	<i>Psidium cattleyanu m</i>	<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	<i>Eugenia involucra ta</i>	<i>Eugenia uniflora</i>	<i>Campomanesi a guazumifolia</i>
Taxa TP	0,771	0,769	0,689	0,972	0,84
Taxa FP	0,063	0,051	0,067	0,011	0,055
Precisão	0,761	0,795	0,739	0,952	0,781
Revocação	0,771	0,769	0,689	0,972	0,84
Medida F	0,766	0,782	0,713	0,962	0,809
MCC	0,705	0,727	0,639	0,953	0,764
Curva ROC	0,951	0,95	0,932	0,999	0,967
Curva PRC	0,863	0,865	0,824	0,997	0,883

Fonte: A autora (2020).

Tabela 2 – Matriz de confusão do *Cross Validation* por FR dos parâmetros da fluorescência da clorofila a.

	<i>Psidium cattleyanum</i>	<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	<i>Eugenia involucrata</i>	<i>Eugenia uniflora</i>	<i>Campomanesia guazumifolia</i>
<i>P. cattleyanum</i>	121	9	12	4	11
<i>C. xanthocarpa</i>	12	120	18	0	6
<i>E. involucrata</i>	16	18	113	1	16
<i>E. uniflora</i>	3	0	0	140	1
<i>C. guazumifolia</i>	7	4	10	2	121

Destaque cinza para classificações corretas das espécies, na diagonal principal da matriz de confusão.  
Fonte: A autora (2020).

Tabela 3 – Resultado do modelo por FR dos parâmetros da fluorescência da clorofila a.

	<b>Instâncias classificadas corretamente</b>	<b>Instâncias classificadas incorretamente</b>	<b>Estatística Kappa</b>	<b>Erro absoluto médio</b>	<b>Raiz quadrada do erro médio</b>
	765 (100%)	0 (0%)	1,0	0,0485	0,0882
	<b>Espécies</b>				
	<i>Psidium cattleianum</i>	<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	<i>Eugenia involucrata</i>	<i>Eugenia uniflora</i>	<i>Campomanesia guazumifolia</i>
Taxa TP	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Taxa FP	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Precisão	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Revocação	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Medida F	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
MCC	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Curva ROC	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Curva PRC	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Fonte: A autora (2020).

Tabela 4 – Matriz de confusão do modelo por FR dos parâmetros da fluorescência da clorofila a.

	<i>Psidium cattleianum</i>	<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	<i>Eugenia involucrata</i>	<i>Eugenia uniflora</i>	<i>Campomanesia guazumifolia</i>
<b><i>P. cattleianum</i></b>	157	0	0	0	0
<b><i>C. xanthocarpa</i></b>	0	156	0	0	0
<b><i>E. involucrata</i></b>	0	0	164	0	0
<b><i>E. uniflora</i></b>	0	0	0	144	0
<b><i>C. guazumifolia</i></b>	0	0	0	0	144

Destaque cinza para classificações corretas das espécies, na diagonal principal da matriz de confusão.  
Fonte: A autora (2020).

Tabela 5 – Resultado da validação por FR dos parâmetros da fluorescência da clorofila a.

	<b>Instâncias classificadas corretamente</b>	<b>Instâncias classificadas incorretamente</b>	<b>Kappa statistic</b>	<b>Erro absoluto médio</b>	<b>Raiz quadrada do erro médio</b>
	268 (81,46%)	61 (18,54%)	0,7681	0,1328	0,2406
	<b>Espécies</b>				
	<i>Psidium cattleianum</i>	<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	<i>Eugenia involucrata</i>	<i>Eugenia uniflora</i>	<i>Campomanesia guazumifolia</i>
Taxa TP	0,651	0,743	0,852	1,000	0,836
Taxa FP	0,041	0,055	0,071	0,011	0,053
Precisão	0,788	0,797	0,732	0,955	0,8
Revocação	0,651	0,743	0,852	1,000	0,836
Medida F	0,713	0,769	0,788	0,977	0,818
MCC	0,657	0,706	0,738	0,972	0,77
Curva ROC	0,933	0,943	0,955	1,000	0,974
Curva PRC	0,815	0,827	0,868	0,999	0,902

Fonte: A autora (2020).

Tabela 6 – Matriz de confusão da validação por FR dos parâmetros da fluorescência da clorofila *a*.

	<i>Psidium cattleyanum</i>	<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	<i>Eugenia involucrata</i>	<i>Eugenia uniflora</i>	<i>Campomanesia guazumifolia</i>
<i>P. cattleyanum</i>	41	10	4	2	6
<i>C. xanthocarpa</i>	7	55	8	0	4
<i>E. involucrata</i>	2	3	52	0	4
<i>E. uniflora</i>	0	0	0	64	0
<i>C. guazumifolia</i>	2	1	7	1	56

Destaque cinza para classificações corretas das espécies, na diagonal principal da matriz de confusão. Fonte: A autora (2020).

Analisando os resultados da modelagem para as classificações das cinco espécies de Myrtaceae pelos seus parâmetros de fluorescência da clorofila *a*, observou-se que, a porcentagem de instâncias classificadas corretamente, atingiram valores superiores a 80%. O menor valor dos acertos para as instâncias classificadas corretamente, foi para validação cruzada por *Cross Validation*, com 80,39% (615 instâncias), a calibração atingiu 100% da classificação correta das espécies (765 instancias), e por fim, a validação externa, com 81,46% (268 instâncias).

O valor do erro absoluto médio e do erro médio quadrático da raiz gerado pelos modelos, foi significativamente baixo, com o valor de 0,1345 e 0,2403 para o *Cross Validation*, 0,0485 e 0,0882 para o modelo de calibração; 0,1328 e 0,2406 para a validação externa, mostrando que os parâmetros de fluorescência da clorofila *a*, podem ser utilizados como marcadores para classificar espécies de Myrtaceae. Além do mais, os valores da Estatística Kappa (K), foram altos, mostrando mais uma vez, a eficiente classificação das espécies. Os valores da estatística Kappa foram acima de 0,7 para o *Cross Validation* e validação externa e 1,0 para o modelo de calibração, indicando alta taxa de acerto das espécies, pelos marcadores de fluorescência da clorofila *a*.

As matrizes de confusão mostradas, apresentaram também altas taxas de acerto das espécies. Na matriz de confusão por *Cross Validation*, as classificações ocorreram da seguinte maneira: a espécie *P. cattleyanum* com 121 corretas classificações, *C. xanthocarpa* 120, *E. involucrata* 113, *E. uniflora* 140 e a espécie *C. guazumifolia* apresentando 121 acertos em suas classificações.

Para o modelo de calibração, houve 100% de corretas classificações das espécies de Myrtaceae; para *P. cattleyanum* 157 acertos, *C. xanthocarpa* 156, *E. involucrata* 164, *E. uniflora* 144 e para a espécie *C. guazumifolia* apresentou 144

corretas classificações. E pôr fim a classificação final para a validação externa dos modelos, o número de acertos foram: 41 para a espécie *P. cattleyanum*, 55 para *C. xanthocarpa*, 52 para *E. involucrata*, 64 para a espécie *E. uniflora* e 56 acertos para a espécie *C. guazumifolia*. Resultados esses, que corroboram para afirmar que o método utilizado por aprendizado de máquina pelos algoritmos FR e RNA são eficientes para classificar as cinco espécies de Myrtaceae, por meio de seus parâmetros de fluorescência da clorofila *a*. Estes parâmetros podem ser utilizados como marcadores para diferenciação taxo-quimiométrica de espécies arbóreas.

Outros valores de figura de mérito que também foram altos, foram: as taxas de verdadeiro positivo (TP Rate), taxa de falsos positivos (FP Rate), Precisão (Precision), revocação (Recall), Medida F (F-Measure), Manutenção Centrada na Confiabilidade ou coeficiente de correlação de Matthews (MCC), área abaixo da curva (curva ROC) (PRC Area) para os modelos de validação cruzada (*Cross Validation*), modelo de calibração e validação externa, onde os valores se mantiveram acima de 0,7 e apresentaram uma taxa de falso positivo menor que 0,07.

Para a calibração dos modelos, pode-se observar que os valores da taxa de falsos positivos se manteve em zero, e os demais valores de figuras de mérito (TP Rate, Recall, Medida F, MCC, curva ROC e PRC Area) apresentaram-se em 1, ou seja, 100%. Indicando mais uma vez, a confiabilidade e precisão da análise realizada nesse estudo. Vale ressaltar também, que a modelagem por floresta randômica dos parâmetros de fluorescência da clorofila *a*, não é encontrado em outros trabalhos na literatura científica atual.

Outra qualidade do algoritmo de floresta randômica é sua facilidade para se medir a importância relativa de cada característica para a predição. A importância de cada característica é medida pela função impureza Gini ou ganho de informação. A importância de cada atributo é analisada medindo-se quando nodos das árvores existem na floresta randômica construída. Este parâmetro calcula automaticamente a importância para cada característica e após o treinamento, este valor é normalizado, para que a soma de todas as importâncias seja igual a 1.

Neste trabalho, o filtro genético no conjunto de dados inicial não fora aplicado para que, por meio do valor da impureza na FR fosse utilizado para seleção dos melhores atributos de fluorescência da clorofila *a* das amostras das cinco espécies de Myrtaceae. Logo o valor da impureza escolhido para a seleção dos atributos de

fluorescência foi de até 0,5. Os atributos que apresentaram os valores de impureza até 0,5 foram mantidos e discutidos nas seções subseqüentes dessa dissertação de mestrado. Os atributos de fluorescência com seus respectivos valores de impureza são mostrados a seguir na Tabela 7.

A Tabela 7 apresenta os atributos de maior importância quando utilizado o algoritmo FR, para a diferenciação das cinco espécies de Myrtaceae.

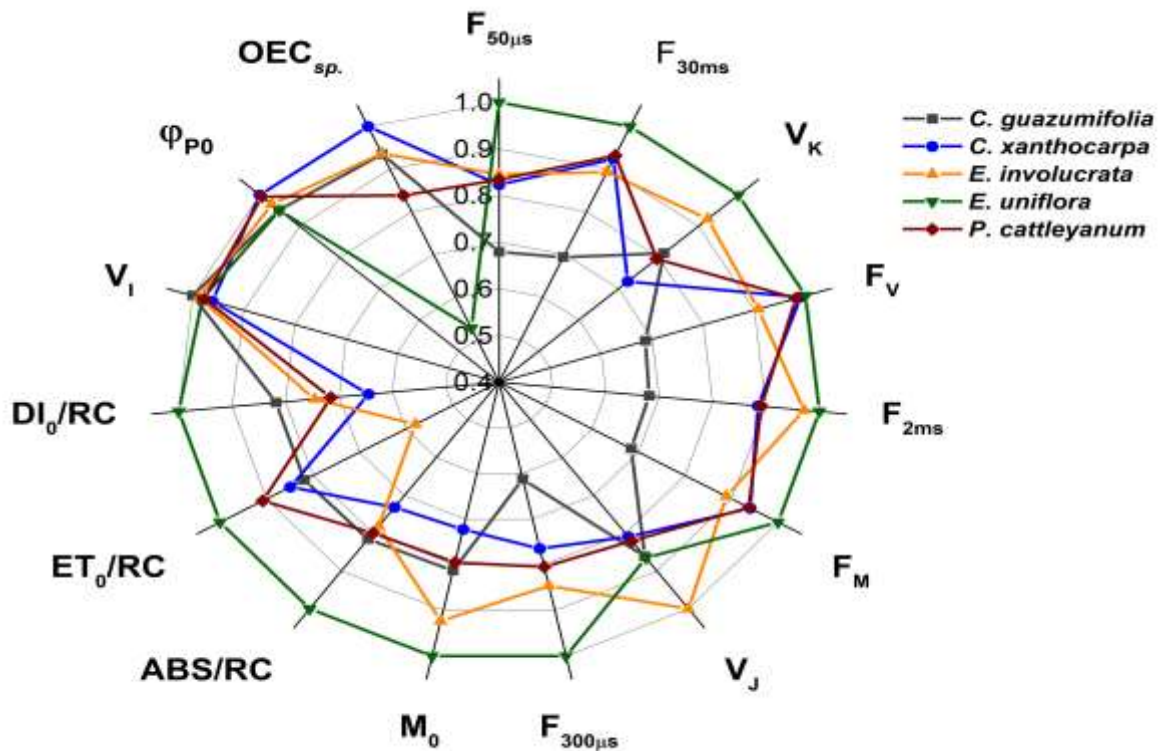
Tabela 7 – Atributos selecionados pelos autores de acordo com o valor da impureza da análise.

<b>Impureza</b>	<b>Atributos da Fluorescência</b>
0,65	F <sub>30ms</sub>
0,65	F <sub>50µs</sub>
0,63	F <sub>V</sub>
0,62	V <sub>K</sub>
0,59	F <sub>2ms</sub>
0,58	F <sub>M</sub>
0,57	V <sub>J</sub>
0,56	F <sub>300µs</sub>
0,56	M <sub>O</sub>
0,53	DI <sub>0</sub> /RC
0,53	ABS/RC
0,52	V <sub>I</sub>
0,51	Φ <sub>Po</sub>
0,50	ET <sub>0</sub> /RC
0,50	OEC <sub>sp.</sub>

Fonte: A autora (2020)

A Figura 16 expressa os dados normalizados para esses parâmetros, e cada um deles, traz consigo um significado, que são discutidos a seguir.

Figura 16 – Parâmetros (15) da fluorescência da clorofila *a* das cinco espécies de Myrtaceae selecionados pela função impureza quando determinados pelo algoritmo Floresta Randômica.



Fonte: A autora (2020).

Os parâmetros obtidos diretamente da curva OJIP estão dentre os atributos selecionados por suas impurezas (Tabela 7, Figura 16) e representam a fluorescência inicial ( $F_0$ ), a qual é emitida quando todos os fotossistemas estão abertos, o oposto  $F_M$  emitida quando todos os fotossistemas estão fechados e  $F_V$ , a diferença entre ambas (STIRBET; GOVINDJEE, 2011). Estes parâmetros estão diretamente relacionados à estrutura e funcionamentos dos fotossistemas e possibilitam várias expressões biofísicas utilizadas nos cálculos dos fluxos de energia fenomenológicos e de rendimentos quânticos (STRASSER; SRIVASTAVA; TSIMILLI-MICHAEL, 2000).

O espectro de emissão da fluorescência em pontos específicos da curva, representam picos de intensidade que caracterizam sua forma (STRASSER; TSIMILLI-MICHAEL; SRIVASTAVA, 2004). Os resultados da análise de FR confirmaram a importância desses pontos: no ponto K ( $F_{300\mu s}$ ), a fluorescência no ponto J ( $F_{2ms}$ ), e a fluorescência no ponto I ( $F_{30ms}$ ). Da mesma maneira, a fluorescência relativa variável nestes pontos da curva ( $V_K$  e  $V_J$ ) também foram selecionados. Esses



parâmetros são importantes para avaliar a atividade da cadeia de transporte de elétrons (STRASSER; SRIVASTAVA; TSIMILLI-MICHAEL, 2000).

$M_0$  representa a estimativa da inclinação inicial da curva de fluorescência relativa variável normalizada (STIRBET; GOVINDJEE, 2011), em termos práticos representa os CR que se encontram fechados, ou seja, o número de CR fechados é proporcional ao decréscimo do transporte de elétrons (GOLTSEV et al., 2016).

$Dl_0/RC$  indica o fluxo de energia dissipada por centro de reação (CR) na forma de calor, de fluorescência e transferência de energia para o PSI no  $t = 0$  e  $ET_0/RC$  representa o fluxo de transporte de elétrons de  $Q_A$  (quinona a) para  $Q_B$  (quinona b) por CR (STIRBET; GOVINDJEE, 2011; GOLTSEV ET AL., 2016). Esses fluxos específicos de energia indicam a energia não fotoquímica ( $Dl_0/RC$ ) e a energia de excitação que ao ser conduzida pela CTE pode ser direcionada para a síntese de carboidratos, ou seja, a energia fotoquímica.

O máximo rendimento quântico fotoquímico primário ( $\phi_{P_0}$ ), é calculado por meio da relação  $F_v/F_m$  e é indicador do estado fisiológico das plantas (GOLTSEV et al., 2016), ou seja, também revela um importante parâmetro na avaliação da *performance* fotossintética. Estudos com um número expressivo de espécies sob boas condições fisiológicas revelou o valor médio de 0,83-0,84 para plantas com metabolismo  $C_3$  e sob condições de estresse esse valor tende a ser mais baixo (BJÖRKMAN; DEMMIG, 1987).

O fluxo de absorção de energia por CR ativo, estima as dimensões dos complexos antena, que constituem o conjunto de pigmentos (clorofila e carotenoides) que envolvem os CR e captam os fótons de luz (STRASSER, TSIMILLI-MICHAEL; SRIVASTAVA, 2004). Pode-se dizer que é proporcional à quantidade de moléculas de clorofila capazes de absorver fótons de luz e direcioná-las para os CR (GOLTSEV et al., 2016).

Por fim, a fração dos complexos de evolução do oxigênio das espécies ( $OEC_{sp.}$ ), representam o potencial de oxidação gerado no PSII, o qual é capaz de oxidar a molécula de água (STIRBET; GOVINDJEE, 2011, APPENROTH et al., 2001). Este parâmetro contribui para a geração do potencial eletroquímico de prótons no lúmen do tilacoide, cuja dissipação conduz a formação do ATP.

Assim, a classificação das cinco espécies de Myrtaceae, por meio dos parâmetros da Fluorescência da clorofila a, pôde ser realizada com êxito. Na Figura

16, pode-se observar e fica evidente que, cada espécie da família Myrtaceae se diferencia uma da outra de acordo com os parâmetros que são evidenciados na curva OJIP (Figura 15). Dentre as cinco espécies analisadas, destaca-se, a espécie *Eugenia uniflora* (pitanga), apresentando na maioria das vezes, os maiores valores para os parâmetros da fluorescência da clorofila *a* selecionados pela FR.

### 5.1.2 Análise do teor de pigmentos (clorofilas *a*, *b*, total e carotenoides) por espectroscopia UV-VIS

Os teores dos pigmentos extraídos das espécies de Myrtaceae foram determinados por espectroscopia UV-VIS, por meio das equações 1, 2, 3 e 4 apresentadas na seção 4.3.2 (material e métodos).

Os resultados dos teores de pigmentos: clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenoides, determinados por espectroscopia UV-VIS, são apresentados nas tabelas 8, 9, 10 e 11. Os valores médios, o erro padrão (EP) e o intervalo de confiança (IC) de 95%, desses teores de pigmentos, para as cinco espécies de Myrtaceae, também estão descritos nessas tabelas. As comparações par a par entre os teores dos pigmentos, realizados pelo teste de Bonferroni, bem como o valor da probabilidade para cada caso analisado estão explicitados nos apêndices A, B, C, D e E desta dissertação.

Tabela 8 – Valores médios, erro padrão e intervalo de confiança para o teor de clorofila *a* em  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  das espécies de Myrtaceae.

Espécies	Média	Erro padrão	Intervalo de confiança de 95%	
			Inferior	Superior
<i>Psidium cattleianum</i>	1,1858	0,0277	1,1315	1,2400
<i>Eugenia uniflora</i>	0,9934	0,0254	0,9435	1,0432
<i>Campomanesia guazumifolia</i>	1,1453	0,0352	1,0763	1,2144
<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	1,3843	0,0338	1,3181	1,4505
<i>Eugenia involucrata</i>	1,0047	0,0350	0,9360	1,0733

Fonte: A autora (2020).

Tabela 9 – Valores médios, erro padrão e intervalo de confiança para o teor de clorofila *b*  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  das espécies de Myrtaceae.

<b>Espécies</b>	<b>Média</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>Intervalo de confiança de 95%</b>	
			<b>Inferior</b>	<b>Superior</b>
<i>Psidium cattleianum</i>	0,6726	0,0180	0,6374	0,7079
<i>Eugenia uniflora</i>	0,6001	0,0206	0,5597	0,6405
<i>Campomanesia guazumifolia</i>	0,6766	0,0248	0,6280	0,7253
<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	0,6794	0,0112	0,6575	0,7012
<i>Eugenia involucrata</i>	0,3488	0,0113	0,3266	0,3710

Fonte: A autora (2020).

Tabela 10 – Valores médios, erro padrão e intervalo de confiança para o teor de clorofila total em  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  das espécies de Myrtaceae.

<b>Espécies</b>	<b>Média</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>Intervalo de confiança de 95%</b>	
			<b>Inferior</b>	<b>Superior</b>
<i>Psidium cattleianum</i>	1,9031	0,0385	1,8277	1,9786
<i>Eugenia uniflora</i>	1,6319	0,0454	1,5429	1,7208
<i>Campomanesia guazumifolia</i>	1,8658	0,0567	1,7546	1,9770
<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	2,1132	0,0443	2,0264	2,2001
<i>Eugenia involucrata</i>	1,3858	0,0467	1,2943	1,4773

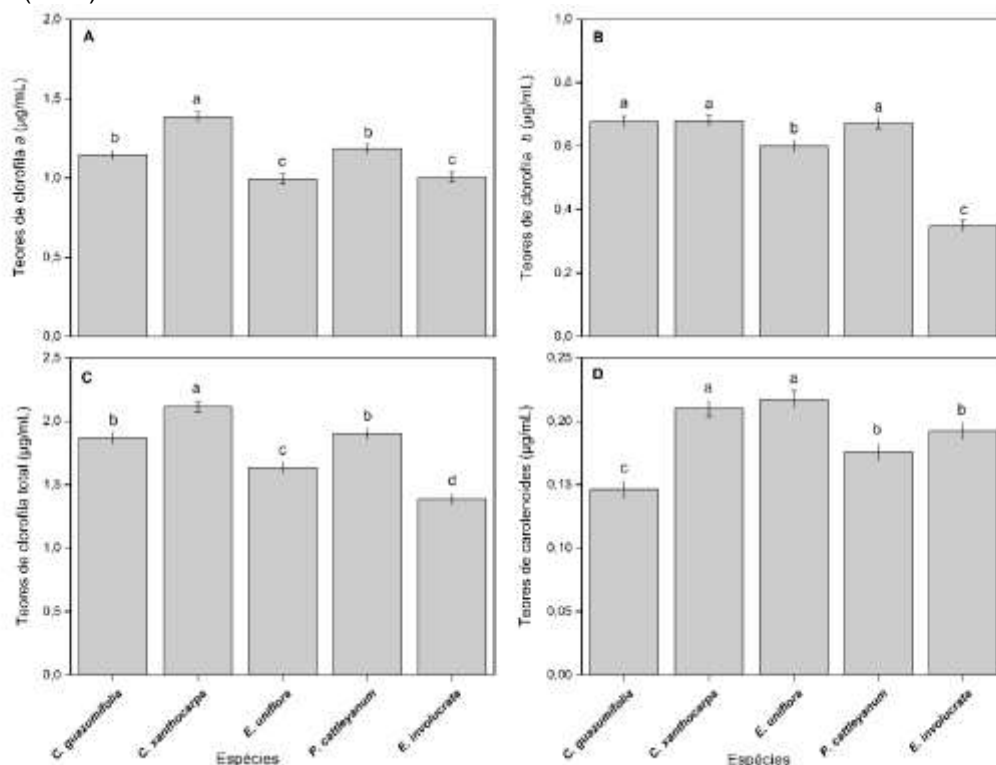
Fonte: A autora (2020).

Tabela 11 – Valores médios, erro padrão e intervalo de confiança para os teores de carotenoides em  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  das espécies de Myrtaceae.

<b>Espécies</b>	<b>Média</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>Intervalo de confiança de 95%</b>	
			<b>Inferior</b>	<b>Superior</b>
<i>Psidium cattleianum</i>	0,1757	0,0076	0,1609	0,1905
<i>Eugenia uniflora</i>	0,2172	0,0065	0,2044	0,2300
<i>Campomanesia guazumifolia</i>	0,1465	0,0084	0,1301	0,1629
<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	0,2100	0,0066	0,1971	0,2229
<i>Eugenia involucrata</i>	0,1923	0,0056	0,1814	0,2032

Fonte: A autora (2020).

Figura 17 - Gráficos dos teores dos pigmentos por meio de análise de modelos lineares generalizados (MLG).



Fonte: A autora (2020)

Nas médias estimadas, observa-se que os teores de clorofila *a* oscilaram entre 0,99 µg/mL à 1,38 µg/mL, os teores de clorofila *b* entre 0,34 µg/mL à 0,67 µg/mL. Já o teor de clorofila total oscilou entre 1,38 µg/mL à 2,11 µg/mL, e os valores de carotenoides apresentaram-se entre 0,14 µg/mL à 0,21 µg/mL para as cinco espécies de Myrtaceae.

Os maiores teores de pigmentos fotossintéticos (Chla, Chlb, e clorofila total) foram observados na guabiroba (*C. xanthocarpa*), e o maior teor de pigmento acessório (carotenoides) para a pitanga (*E. uniflora*) (Tabelas 8-11 e Figura 17). Por outro lado, os menores teores de clorofila *a* foram observados para a pitanga (*E. uniflora*). A cereja-do-rio-grande (*E. involucrata*) apresentou os menores valores para clorofila *b* e clorofila total. E o menor teor carotenoides foi observado para a espécie sete-capotes (*C. gazumifolia*).

Pode se observar ainda que, algumas espécies apresentam teores de pigmentos fotossintéticos semelhantes entre si. As espécies que se assemelham entre si, para o teor de clorofila *a* (Figura 17 A) foram sete-capotes e o araçá, bem como as

duas espécies do gênero *Eugenia*, pitanga e a cereja-do-rio-grande. Para clorofila *b* (Figura 17 B) sete-capotes, guabiroba e o araçá apresentaram semelhanças entre si. Para o teor de clorofila total (Figura 17 C), a semelhança ocorreu entre o sete-capotes e o araçá. E por fim, comparando-se o teor de carotenoides entre as espécies (Figura 17 D), observou-se que as espécies guabiroba e a pitanga, e araçá com a espécie cereja-do-rio-grande possuem teores semelhantes desse pigmento fotossintético.

Os pigmentos clorofilianos (clorofilas *a* e *b*) constituem os centros de reação dos fotossistemas, são essenciais à captação de energia luminosa, e constituem a estrutura dos complexos coletores de luz nas plantas fotossintetizantes (KHYASUDEEM et al., 2019).

Com relação a análise de pigmentos, os valores obtidos para todas as espécies de Myrtaceae, mostram-se em maior proporção do teor de clorofila *a* em relação ao teor de clorofila *b*. A maior proporção de teores de clorofila *b* é um indicativo de adaptação à sombra (CHAZDON, 1992). Ou seja, as espécies trabalhadas nesse estudo, não apresentaram indicativos que se desenvolveram em áreas sombreadas.

As plantas respondem diariamente às variações das condições ambientais (luz, disponibilidade de água, nutrientes) por meio de contínuas adaptações (GONÇALVES et al., 2010; KRÜGER; TSIMILLI-MICHAEL; STRASSER, 1997). Dentre as adaptações, a aclimatação dos cloroplastos às mudanças quantitativas e qualitativas da luz ambiente são de extrema importância à otimização do processo fotossintético (DINÇ et al., 2012).

Os carotenoides são constituintes dos complexos antena, no aparato fotossintético e possuem importante papel fotoprotetivo (CAZZONELLI, 2011). Desta forma, a concentração de carotenoides nas plantas é regulada pela luz e característica de cada espécie (FREDE; SCHREINER; BALDERMANN, 2019).

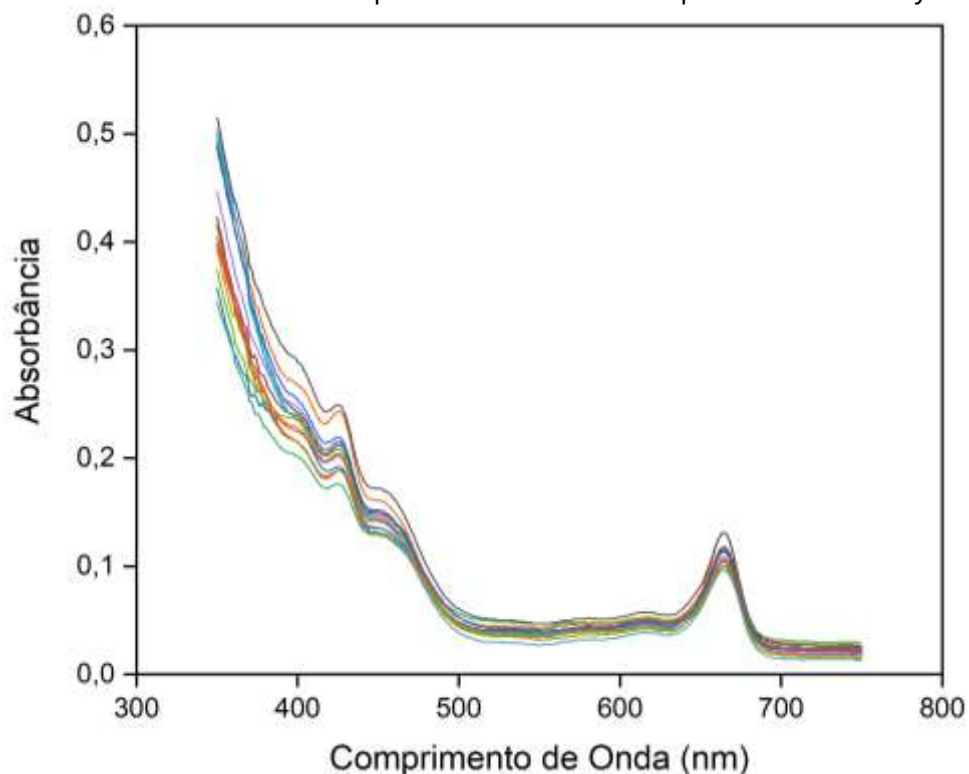
### 5.1.3 Análise da varredura por espectroscopia UV-VIS das espécies de Myrtaceae

Como apresentado na seção 4.3.2 (material e métodos), foi realizado uma varredura entre os comprimentos de onda de 350 nm a 750 nm para cada amostra (15 amostras) dos extratos diluídos, de cada espécie de Myrtaceae, onde os resultados, são apresentados nas Figuras 18 a 22.

Os carotenoides, que também são conhecidos por pigmentos fotoprotetores possuem absorção principalmente na região entre 350 e 550 nm, do espectro eletrônico (BERNARDI; NICOLINI; NICOLINI, 2017). Nos espectros das espécies analisadas, foram observadas bandas evidentes em torno de 400 nm, característico dos pigmentos acessórios, os carotenoides.

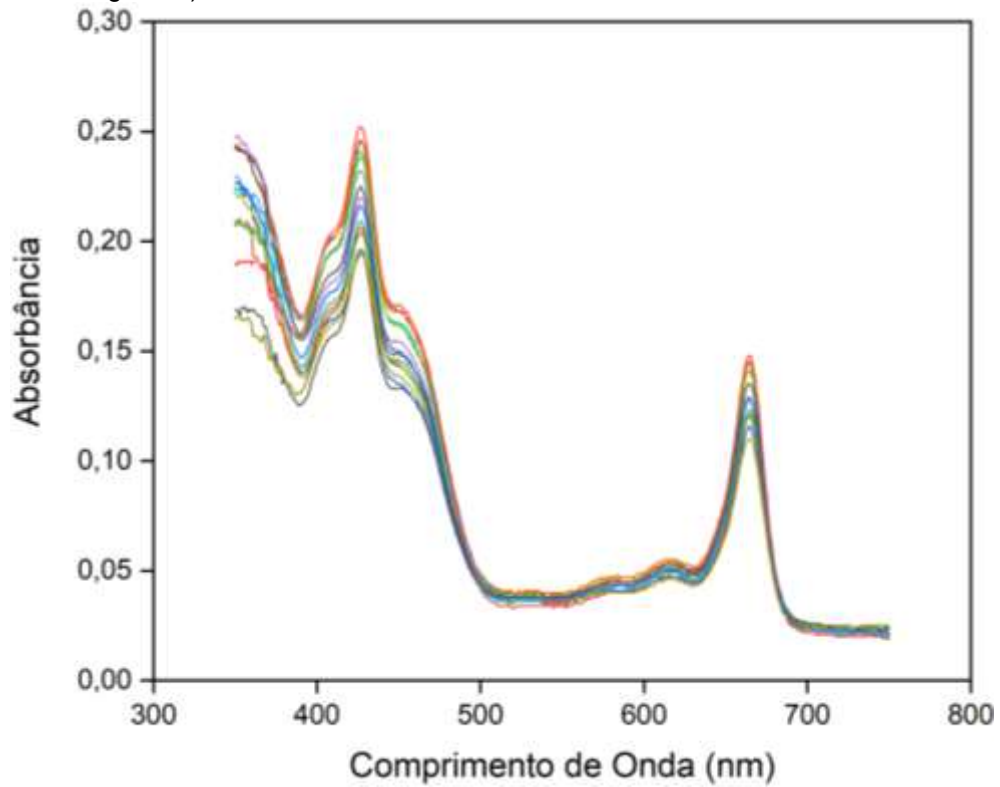
Outro pigmento observado, é as clorofilas, as quais possuem bandas próximas a 420 nm, tendo como característica uma banda intensa e sobreposta com uma banda dos carotenoides, e outra banda no comprimento de onda de 670 nm (ALVES, 2015). Foi observado nas Figuras 18 a 22 as bandas nesses comprimentos de onda indicados, em torno de 400 nm e 650-700 nm, inferindo que esses pigmentos (clorofila *a* e clorofila *b*) são encontrados nas amostras das cinco espécies de Myrtaceae.

Figura 18 - Gráfico da varredura realizada para as 15 amostras da espécie *Psidium cattleianum* (araçá).



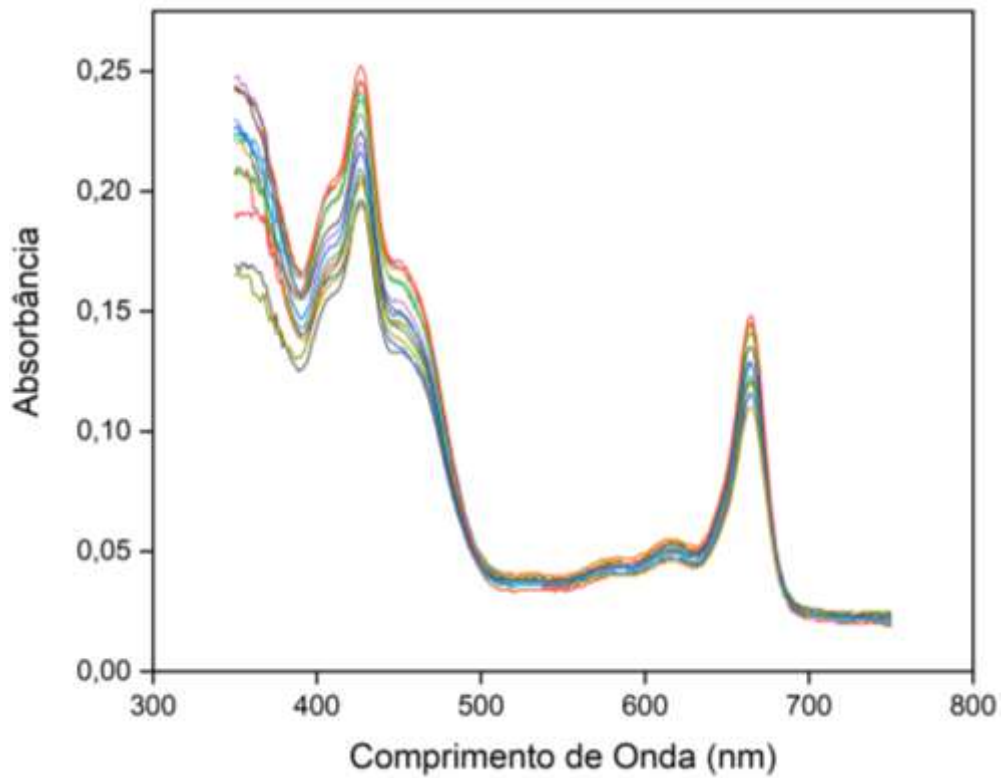
Fonte: A autora (2020)

Figura 19 - Gráfico da varredura realizada para as 15 amostras da espécie *Eugenia involucrata* (cereja-do-rio-grande).



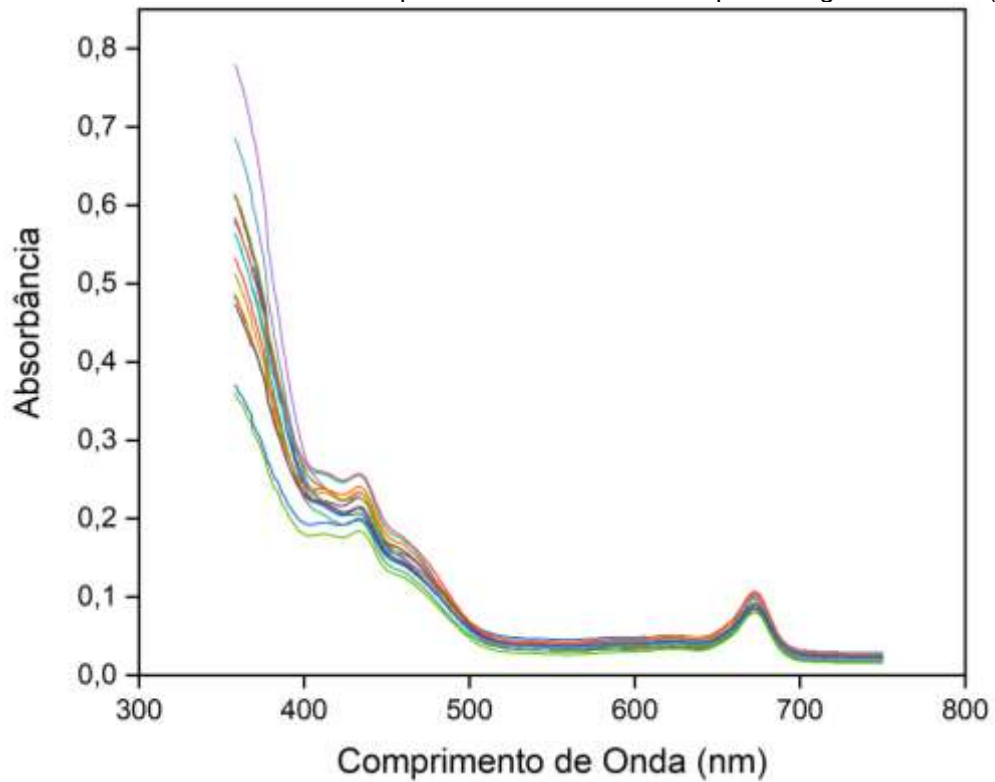
Fonte: A autora (2020)

Figura 20 - Gráfico da varredura realizada para as 15 amostras da espécie *Campomanesia xanthocarpa* (guabioba).



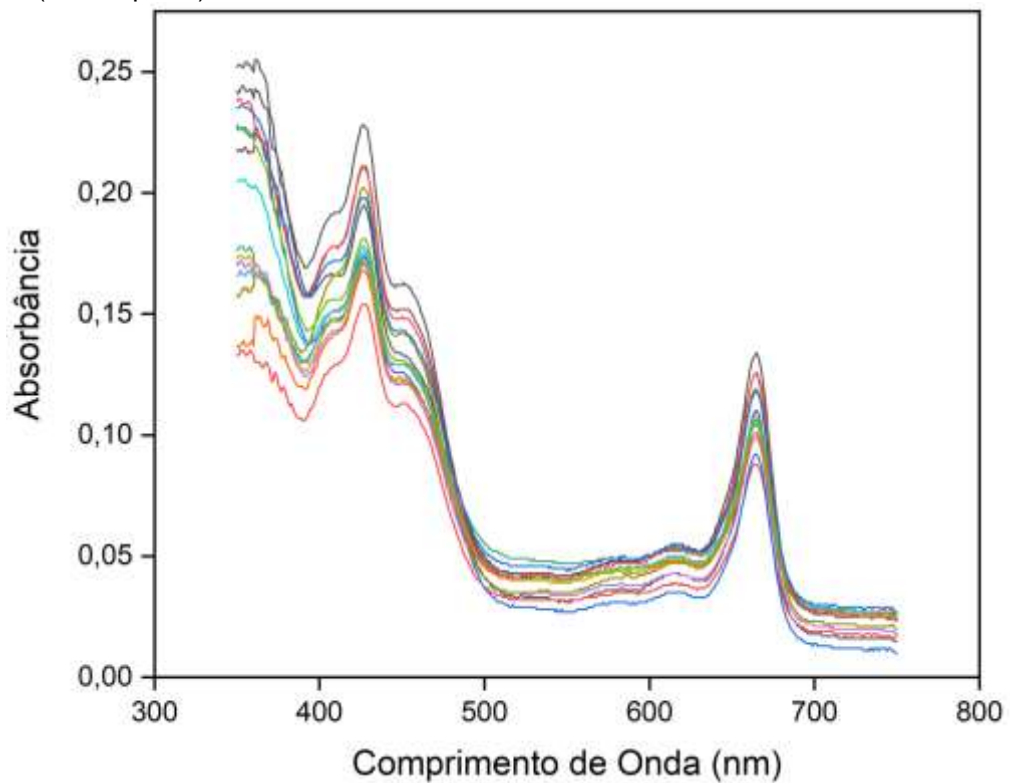
Fonte: A autora (2020)

Figura 21 - Gráfico da varredura realizada para as 15 amostras da espécie *Eugenia uniflora* (pitanga).



Fonte: A autora (2020)

Figura 22 - Gráfico da varredura realizada para as 15 amostras da espécie *Campomanesia guazumifolia* (sete-capotes).



Fonte: A autora (2020)



## 5.2 MODELAGEM DOS TEORES DE PIGMENTOS DAS ESPÉCIES DE MYRTACEAE PELOS HISTOGRAMAS RGB

Primeiramente, a modelagem foi testada perfazendo-se 75 amostras (imagens adquiridas por fotos), sendo 15 de cada espécie de Myrtaceae, *Psidium cattleianum* (araçá), *Eugenia uniflora* (pitanga), *Campomanesia guazumifolia* (sete-capotes), *Campomanesia xanthocarpa* (guabiroba), *Eugenia involucrata* (cereja-do-rio-grande). Os canais RGB das imagens foram utilizados para se obter uma correlação linear entre os níveis de cinza das imagens com os teores de pigmentos extraídos das folhas das espécies de Myrtaceae, determinados experimentalmente por espectroscopia UV-VIS.

Com as 75 imagens coloridas das folhas das espécies de Myrtaceae foram obtidas e recortadas (500X500 *pixels*) no software GIMP 2.10. Cada imagem colorida era composta de seus canais RGB, os quais, seus tons de cinza foram extraídos pelo software ChemoStativ2. Com a matriz de dados dos 768 tons de cinza, sua média foi calculada e as médias que apresentaram média inferior que um (média < 1,0), seus tons de cinza foram excluídos do conjunto de dados original, para melhor performance dos modelos. Com a exclusão de 522 tons de cinza, cujas médias eram menores que 1, montou-se uma nova planilha com a nova matriz de dados, para ser utilizada na modelagem, através do software *Weka*, conforme citado na seção material e métodos. Essa nova matriz de dados foi composta por 246 atributos (tons de cinza).

O próximo passo então, foi modelar os dados, aplicando-se dois algoritmos de regressão, PLS e floresta randômica (FR) para cada resposta analisada (teores de pigmentos). Para a modelagem por PLS, foi utilizado o pré-processamento, centrar os dados na média e utilizado um total de 8 variáveis latentes. E para o FR, foi utilizado o número de interações igual a 100.

A seguir, é apresentado uma tabela com os valores dos coeficientes de determinação ( $R^2$ ), para os resultados das análises utilizando-se os dois tipos de modelagem PLS e FR (Tabela 12). Utilizou-se o *Cross Validation* para validação interna dos modelos, bem como uma validação externa com 1/3 dos dados também foi realizada. As curvas de regressão dos modelos de calibração interna e validação externa por PLS e FR são apresentados nas Figuras 23 a 30. Nessas figuras são plotados os valores observados e preditos para cada modelo, utilizando-se valores de

referência dos pigmentos determinados por espectroscopia UV-VIS contra os tons de cinza das imagens.

Tabela 12 – Valores dos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) para os resultados por *Cross Validation*, modelo de calibração e validação dos teores de pigmentos das espécies de Myrtaceae determinados por espectroscopia e pelos histogramas RGB de suas imagens.

<b>Pigmentos</b>	<b>PLS</b>	<b>FR</b>	<b>Modelo</b>
clorofila <i>a</i>	0,6636	0,6294	<i>Cross Validation</i>
clorofila <i>b</i>	0,3112	0,6216	
clorofila total	0,5529	0,6453	
carotenoides	0,5956	0,4879	
clorofila <i>a</i>	0,9085	0,9748	Modelo de Calibração
clorofila <i>b</i>	0,8377	0,9722	
clorofila total	0,8689	0,9720	
carotenoides	0,9025	0,9842	
clorofila <i>a</i>	0,8558	0,7301	Modelo de Validação
clorofila <i>b</i>	0,7924	0,7995	
clorofila total	0,8014	0,7340	
carotenoides	0,8119	0,8745	

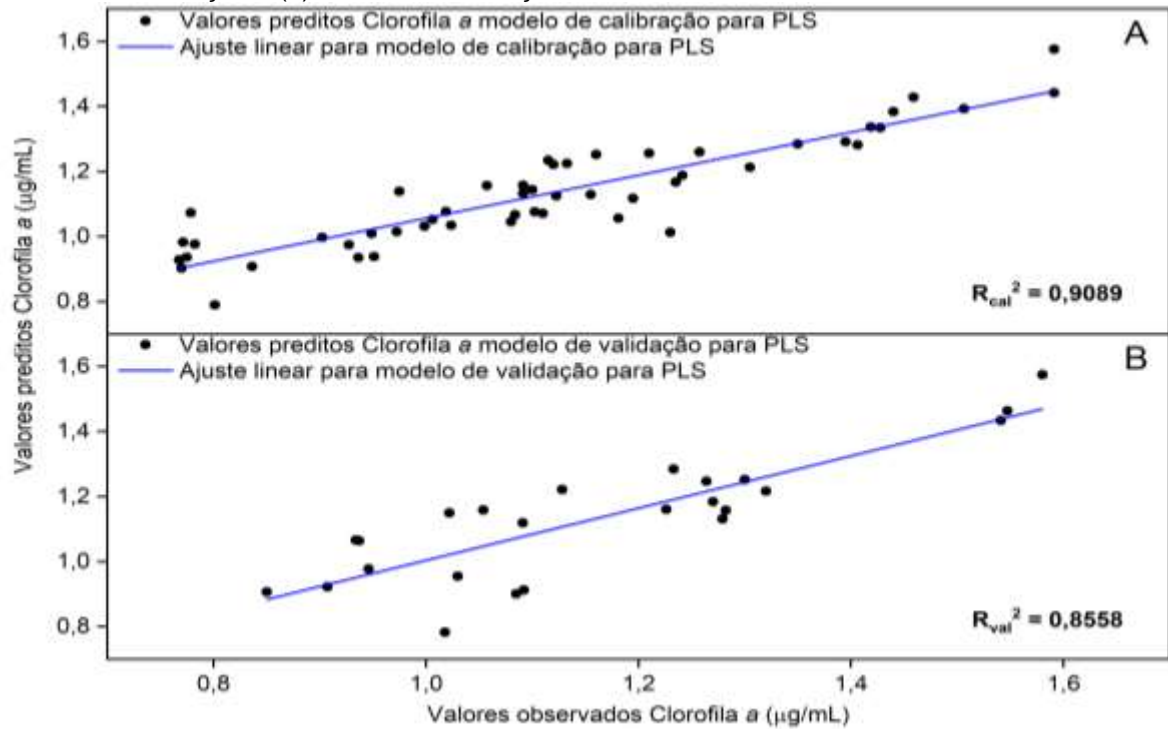
Fonte: A autora (2020).

Na Tabela 12, observa-se os valores dos coeficientes de determinação,  $R^2$  para os modelos dos teores de pigmentos gerados pelos algoritmos testados PLS e FR.

A validação por *Cross Validation* é muito importante para a construção dos modelos finais, pois nesta fase da modelagem, os hiperparâmetros de cada modelo são testados e otimizados. Esses hiperparâmetros são utilizados para a geração do modelo final construído com aproximadamente 2/3 de todas as amostras reservadas 68% (51 amostras).

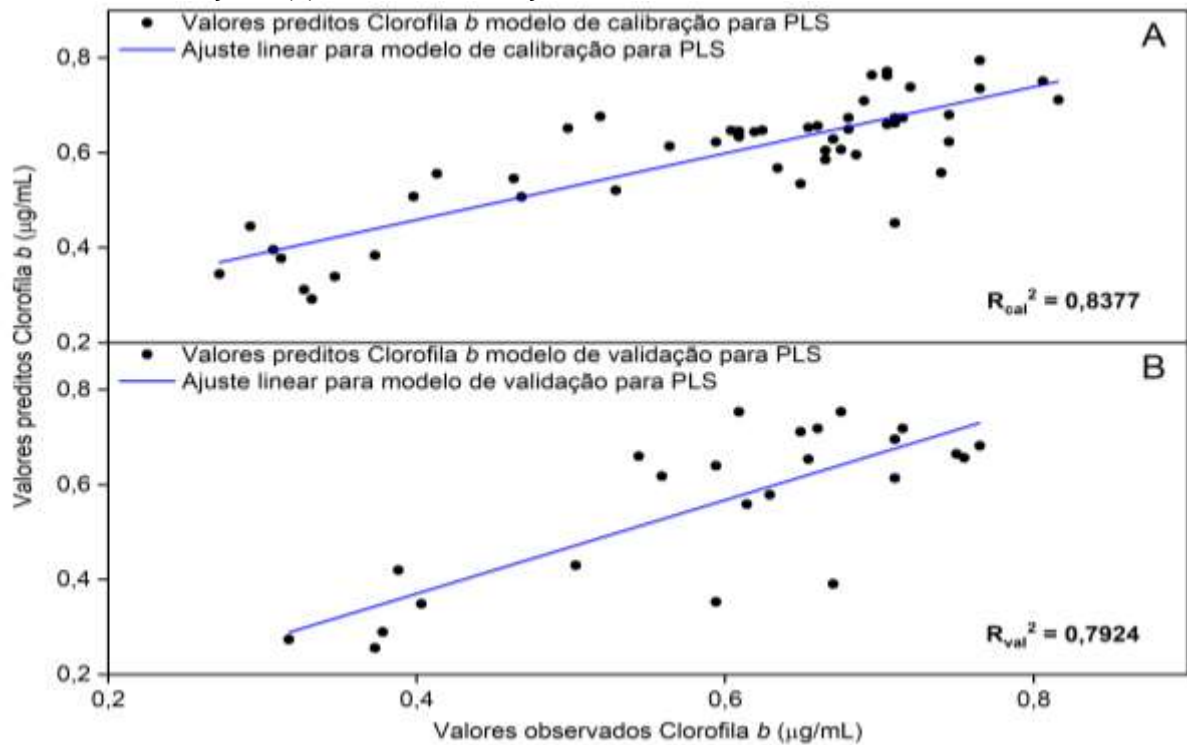
Para o algoritmo PLS a validação por *Cross Validation* apresentou coeficientes de determinação entre 31% e 66% e para FR, esses coeficientes variaram entre, 48% e 64%. Logo, nota-se que os hiperparâmetros ajustados para o algoritmo FR são melhores que os testados pelo algoritmo PLS. O restante das amostras 32% (24 amostras) foram utilizados para a validação externa do modelo.

Figura 23 – Gráfico do ajuste linear por PLS obtidos pelo histograma RGB. Clorofila *a*: (a) modelo de calibração e (b) modelo de validação.



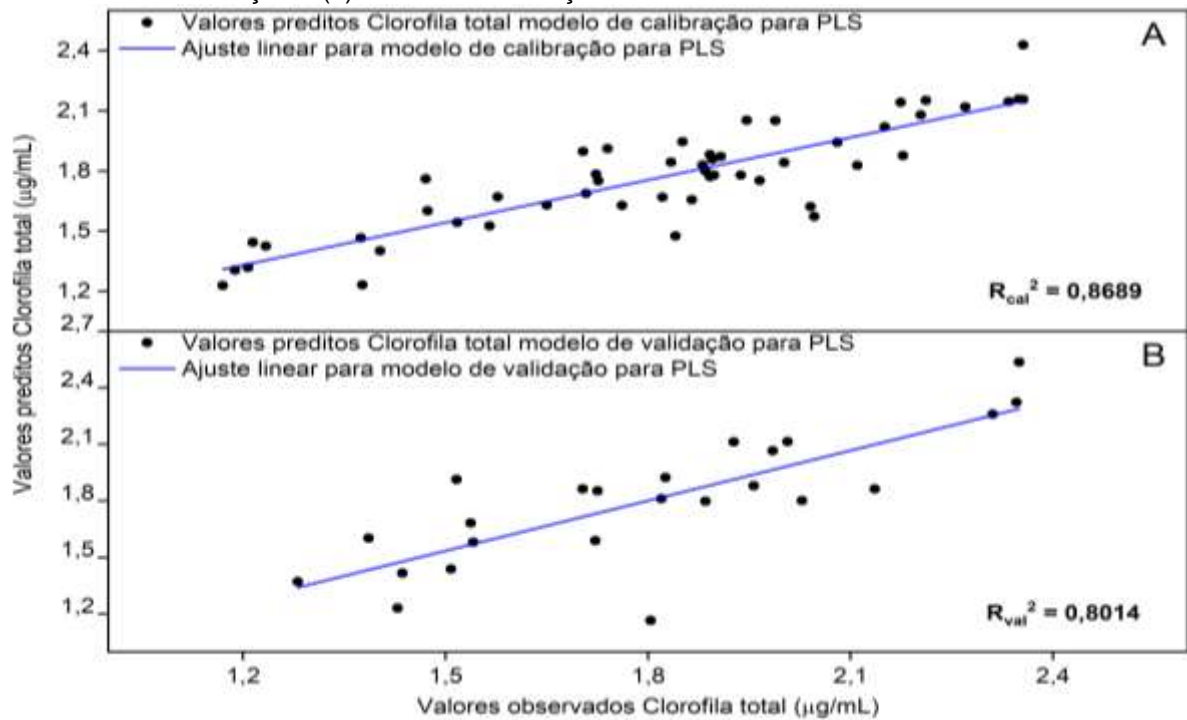
Fonte: A autora (2020).

Figura 24 – Gráfico do ajuste linear por PLS obtidos pelo histograma RGB. Clorofila *b*: (a) modelo de calibração e (b) modelo de validação.



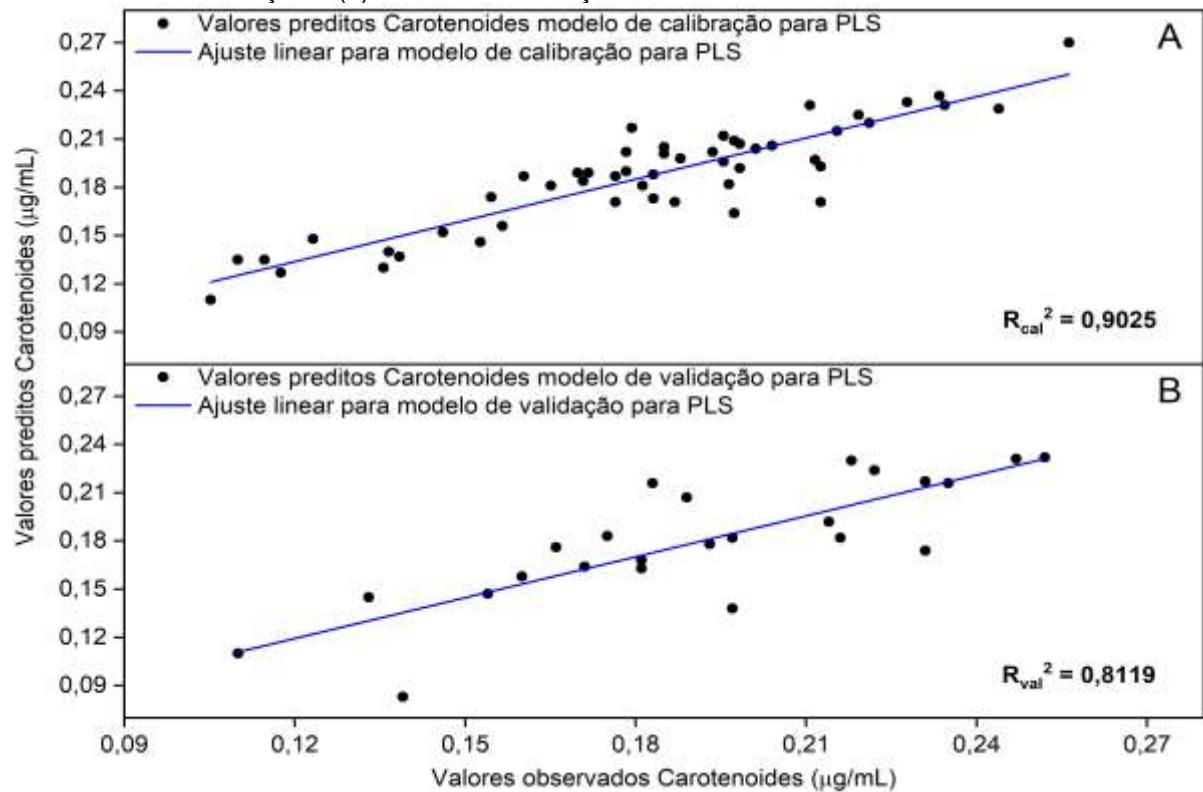
Fonte: A autora (2020).

Figura 25 – Gráfico do ajuste linear por PLS obtidos pelo histograma RGB. Clorofila total: (a) modelo de calibração e (b) modelo de validação.



Fonte: A autora (2020).

Figura 26 – Gráfico do ajuste linear por PLS obtidos pelo histograma RGB. Carotenoides: (a) modelo de calibração e (b) modelo de validação.



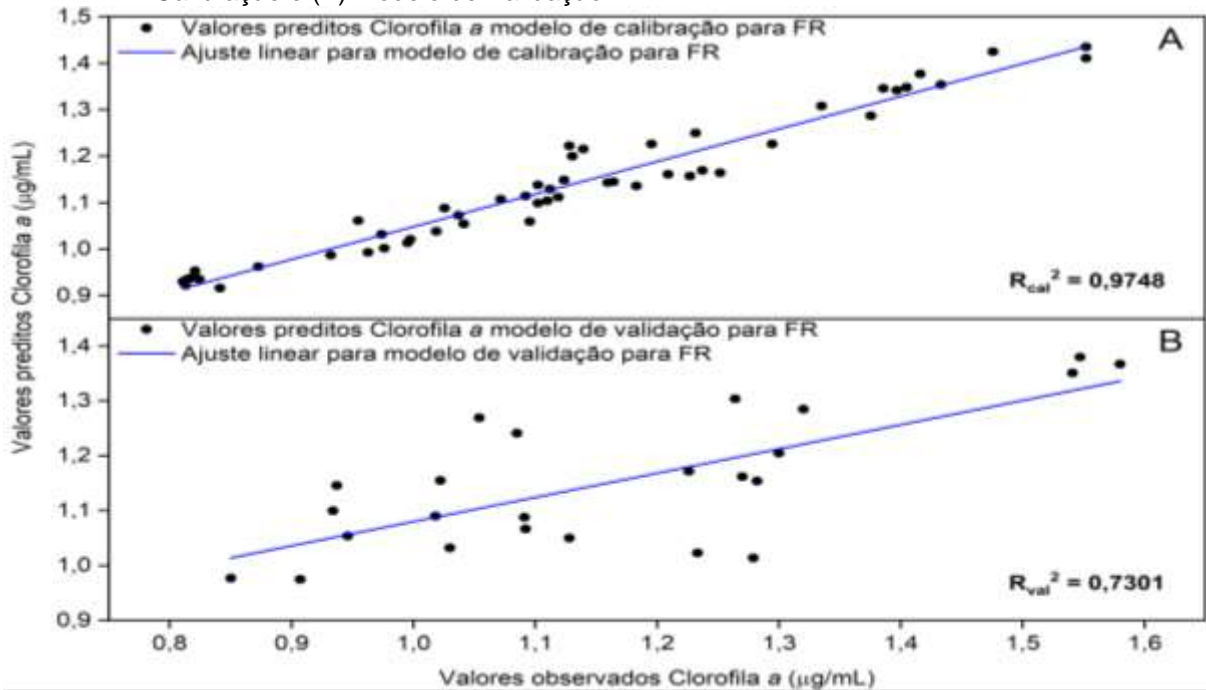
Fonte: A autora (2020).

As Figuras 23 a 26 apresentam os gráficos dos valores preditos versus valores de referência para os modelos construídos de PLS. De acordo com o coeficiente de determinação das regressões dos modelos e observando a distribuição dos pontos, que estão bem dispersos em torno da linha bissetriz, principalmente na análise de validação, pode-se dizer que há interferência/presença de erros sistemáticos nas análises por meio do padrão RGB das imagens dos extratos dos pigmentos das espécies de Myrtaceae.

Analisando os gráficos juntamente com a Tabela 12, percebe-se que os coeficientes dos modelos de calibrações apresentam-se entre 83% e 90%. Já para as curvas dos modelos de validação os coeficientes apresentam-se entre 79% e 85%, e para os modelos de *Cross Validation*, apresentaram-se baixos; entre 31% e 66%, contudo, observando os resultados do modelo de calibração e validação, o PLS se mostrou um algoritmo eficiente na modelagem dos teores de pigmentos das espécies de Myrtaceae pelos histogramas RGB. Ou seja, denotando-se que as variáveis independentes (tons de cinza das imagens) são capazes de explicar a variável dependente (teores de pigmentos), apresentando modelos precisos quando se utilizou o algoritmo PLS.

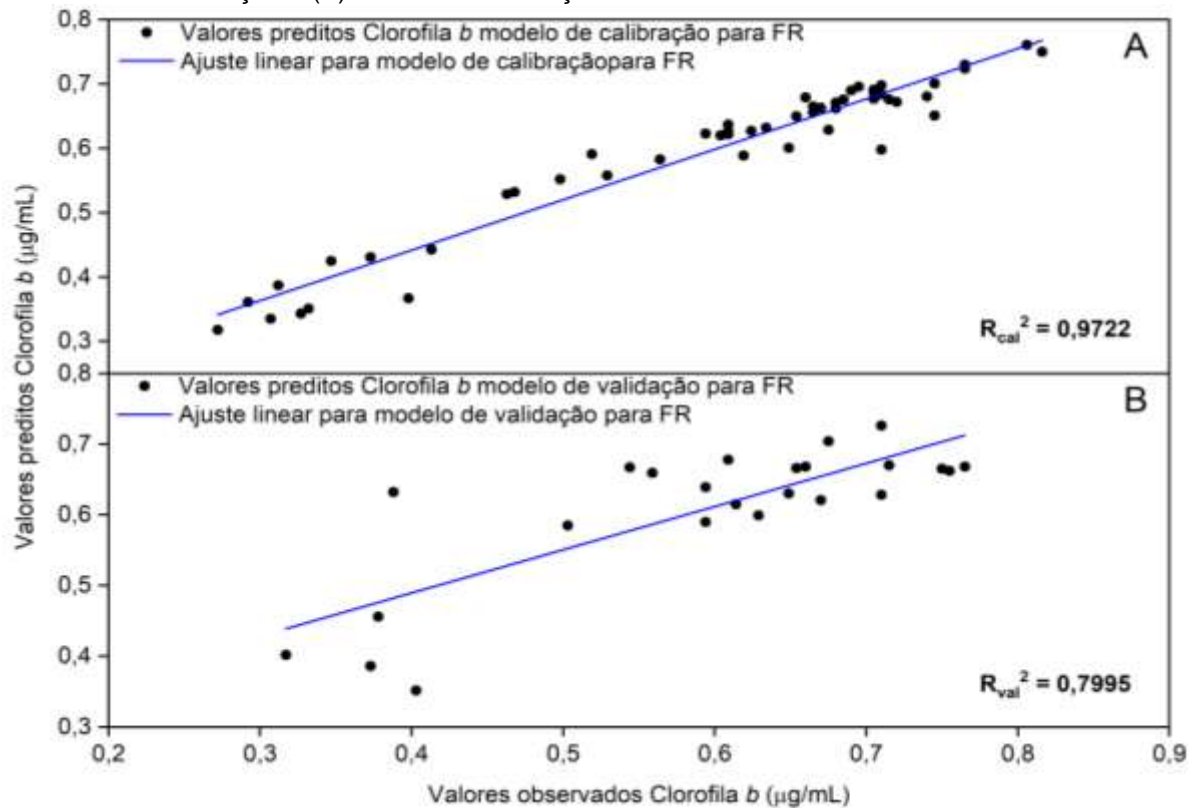
Além de PLS, as modelagens por FR também foram realizadas sobre o conjunto de dados dos histogramas RGB das imagens dos extratos dos pigmentos das folhas das espécies de *P. cattleyanum*, *E. uniflora*, *C. guazumifolia*, *C. xanthocarpa* e *E. involucrata* (Figuras 27 a 30).

Figura 27 – Gráfico do ajuste linear por FR obtidos pelo histograma RGB. Clorofila a: (A) Modelo de Calibração e (B) Modelo de Validação.



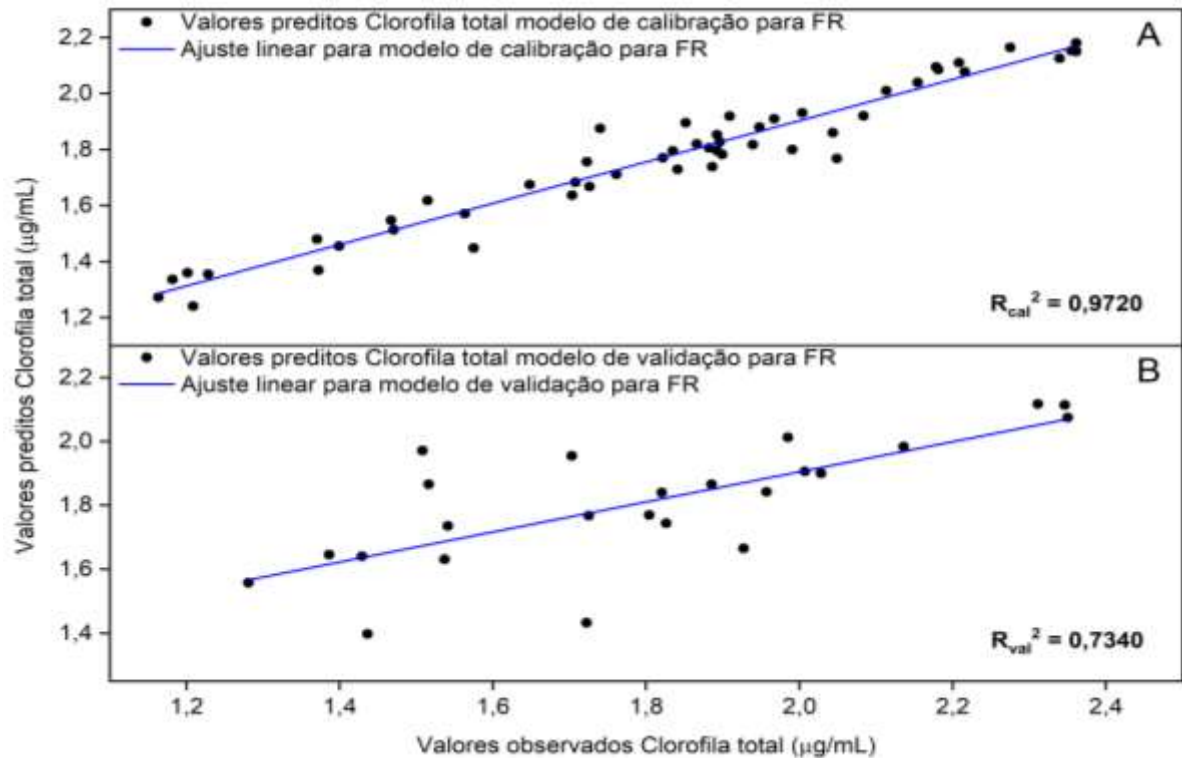
Fonte: A autora (2020).

Figura 28 – Gráfico do ajuste linear por FR obtidos pelo histograma RGB. Clorofila b: (A) Modelo de Calibração e (B) Modelo de Validação.



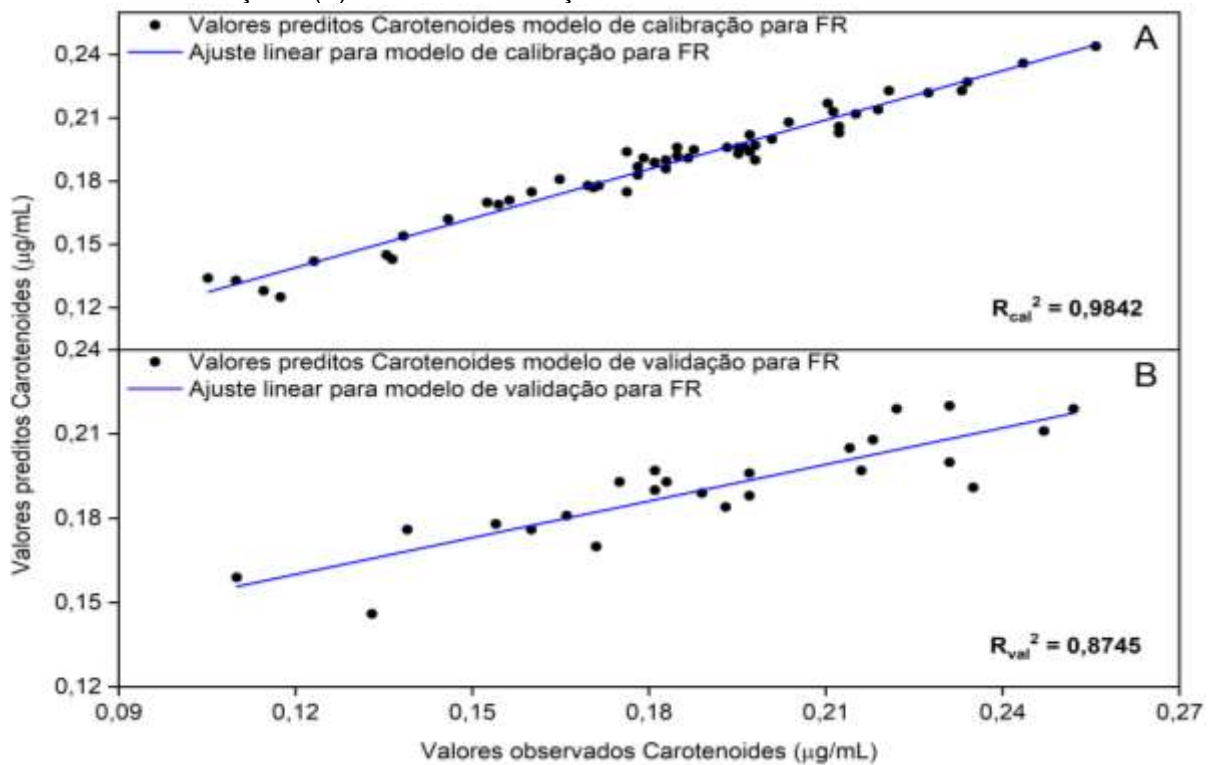
Fonte: A autora (2020).

Figura 29 – Gráfico do ajuste linear por FR obtidos pelo histograma RGB. Clorofila total: (A) Modelo de Calibração e (B) Modelo de Validação.



Fonte: A autora (2020).

Figura 30 – Gráfico do ajuste linear por FR obtidos pelo histograma RGB. Carotenoides: (A) Modelo de Calibração e (B) Modelo de Validação.



Fonte: A autora (2020).

As Figuras 27 a 30 apresentam os gráficos dos valores preditos versus valores de referência obtidos por espectroscopia UV-VIS para os modelos de FR. De acordo com os coeficientes de determinação,  $R^2$  da regressão dos modelos e observando os pontos que não estão tão próximos da linha bissetriz, pode-se inferir que houve alguns erros sistemáticos nos modelos pelos histogramas RGB dos extratos de pigmentos das espécies de Myrtaceae, principalmente nos modelos de validação.

Os coeficientes de determinação para as curvas desses modelos de calibração apresentaram-se acima de 97%. Já para os modelos de validação, os coeficientes apresentaram-se acima de 73%, analisando também a Tabela 12, observou-se que os valores para  $R^2$  para o *Cross Validation* ficaram entre 48,79% e 64,53%.

Os coeficientes de determinação para as curvas desses modelos de calibração apresentaram-se acima de 97%. Já para os modelos de validação, os coeficientes apresentaram-se acima de 73%, analisando também a Tabela 12, observa-se que os valores para o *Cross Validation* ficaram acima de 48% e 64%.

Embora a literatura tenha ainda escassos relatos sobre modelagens utilizando floresta randômica (FR), um recente estudo proposto por Pham et al. (2020) mostrou a eficácia do algoritmo no estudo para a previsão de deslizamento de terra. Assim como, no presente estudo que mostra que, modelos gerados por FR, são sempre mais eficazes para predições de características de matrizes do que por modelos PLS.

### 5.3 MODELAGEM DA VARREDURA UV-VIS DAS CINCO ESPÉCIES DE MYRTACEAE.

A modelagem da varredura foi realizada utilizando o conjunto de dados obtidos através da análise pelo espectrofotômetro UV-VIS. A varredura foi feita no comprimento de onda compreendido entre 350nm e 750nm, de extratos diluídos de amostras de folhas, que foram extraídos das cinco espécies de *Myrtaceae*, apresentado na seção 4.3.2 (material e métodos).

No software *Weka*, conjunto de dados original apresentava 402 atributos (intervalo de 350nm a 750nm = 401 + Classe = 402 atributos) para as 75 amostras, e após aplicar o filtro genético (*GeneticSearch*), o conjunto de dados passou a ter 98 atributos para as mesmas 75 amostras. Após a aplicação do filtro genético, aplicou-se um método de separação das amostras (*Resample*), separando-as em 68% (51



amostras) para modelagem e 32% (24 amostras) para validação externa. O próximo passo então, foi realizar a modelagem aplicando os algoritmos FR, rede neural artificial (RNA) e máquina de vetores de suporte (SVM), para a classificação das espécies de Myrtaceae.

A fim de apresentar de uma melhor maneira os resultados das análises, a seguir é exibido somente os valores do  $R^2$  dos modelos *Cross Validation* e modelo de calibração (Tabela 13). E em seguida, nas Tabelas 14, 15, 16, 17, 18 e 19, são apresentados os resultados para os modelos de validação juntamente com as matrizes de confusão.

Tabela 13 – Valores do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) do *Cross Validation* e modelo de calibração dos algoritmos testados.

ALGORITMO	CROSS VALIDATION	MODELO DE CALIBRAÇÃO
FR	0,8039	1,000
RNA	0,9020	1,000
SVM	0,9020	0,9412

Fonte: A autora (2020).

Tabela 14 – Valores das porcentagens das classificações das espécies de Myrtaceae, estatística Kappa e erros para a validação externa por FR.

	Instâncias classificadas corretamente	Instâncias classificadas incorretamente	Estatística Kappa	Erro absoluto médio	Raiz quadrada do erro médio
	21 (87,5%)	3 (12,5%)	0,8393	0,1028	0,2173
Espécies					
	<i>Campomanesia guazumifolia</i>	<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	<i>Eugenia involucrata</i>	<i>Eugenia uniflora</i>	<i>Psidium cattleyanum</i>
Taxa TP	0,500	1,000	0,800	1,000	1,000
Taxa FP	0,000	0,118	0,053	0,000	0,000
Precisão	1,000	0,778	0,800	1,000	1,000
Revocação	0,500	1,000	0,800	1,000	1,000
Medida F	0,667	0,875	0,800	1,000	1,000
MCC	0,674	0,828	0,747	1,000	1,000
Curva ROC	0,850	0,992	0,989	1,000	1,000
Curva PRC	0,683	0,982	0,967	1,000	1,000

Fonte: A autora (2020).

Tabela 15 – Matriz de confusão da validação por FR.

	<i>Campomanesia guazumifolia</i>	<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	<i>Eugenia involucrata</i>	<i>Eugenia uniflora</i>	<i>Psidium cattleianum</i>
<i>C. guazumifolia</i>	2	1	1	0	0
<i>C. xanthocarpa</i>	0	7	0	0	0
<i>E. involucrata</i>	0	1	4	0	0
<i>E. uniflora</i>	0	0	0	4	0
<i>P. cattleianum</i>	0	0	0	0	4

Destaque cinza para classificações corretas das espécies, na diagonal principal da matriz de confusão.  
Fonte: A autora (2020).

Tabela 16 – Valores das porcentagens das classificações das espécies de Myrtaceae, estatística Kappa e erros para a validação externa por RNA.

	Instâncias classificadas corretamente	Instâncias classificadas incorretamente	Estatística Kappa	Erro absoluto médio	Raiz quadrada do erro médio
	23 (95,83%)	1 (4,17%)	0,9468	0,0438	0,1324
Espécies					
	<i>Campomanesia guazumifolia</i>	<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	<i>Eugenia involucrata</i>	<i>Eugenia uniflora</i>	<i>Psidium cattleianum</i>
Taxa TP	0,750	1,000	1,000	1,000	1,000
Taxa FP	0,000	0,059	0,000	0,000	0,000
Precisão	1,000	0,875	1,000	1,000	1,000
Revocação	0,750	1,000	1,000	1,000	1,000
Medida F	0,857	0,933	1,000	1,000	1,000
MCC	0,845	0,907	1,000	1,000	1,000
Curva ROC	0,900	0,966	1,000	1,000	1,000
Curva PRC	0,833	0,909	1,000	1,000	1,000

Fonte: A autora (2020).

Tabela 17 – Matriz de confusão da validação por RNA.

	<i>Campomanesia guazumifolia</i>	<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	<i>Eugenia involucrata</i>	<i>Eugenia uniflora</i>	<i>Psidium cattleianum</i>
<i>C. guazumifolia</i>	3	1	0	0	0
<i>C. xanthocarpa</i>	0	7	0	0	0
<i>E. involucrata</i>	0	0	5	0	0
<i>E. uniflora</i>	0	0	0	4	0
<i>P. cattleianum</i>	0	0	0	0	4

Destaque cinza para classificações corretas das espécies, na diagonal principal da matriz de confusão.  
Fonte: A autora (2020).

Tabela 18 – Valores das porcentagens das classificações das espécies de Myrtaceae, estatística Kappa e erros para a validação externa por SVM.

	<b>Instâncias classificadas corretamente</b>	<b>Instâncias classificadas incorretamente</b>	<b>Estatística Kappa</b>	<b>Erro absoluto médio</b>	<b>Raiz quadrada do erro médio</b>
	22 (91,67%)	2 (8,33%)	0,8943	0,0333	0,1826
<b>Espécies</b>					
	<i>Campomanesia guazumifolia</i>	<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	<i>Eugenia involucrata</i>	<i>Eugenia uniflora</i>	<i>Psidium cattleyanum</i>
Taxa TP	0,750	0,857	1,000	1,000	1,000
Taxa FP	0,050	0,059	0,000	0,000	0,000
Precisão	0,750	0,857	1,000	1,000	1,000
Revocação	0,750	0,857	1,000	1,000	1,000
Medida F	0,750	0,857	1,000	1,000	1,000
MCC	0,700	0,798	1,000	1,000	1,000
Curva ROC	0,850	0,899	1,000	1,000	1,000
Curva PRC	0,604	0,776	1,000	1,000	1,000

Fonte: A autora (2020).

Tabela 19 – Matriz de confusão da validação por SVM.

	<i>Campomanesia guazumifolia</i>	<i>Campomanesia xanthocarpa</i>	<i>Eugenia involucrata</i>	<i>Eugenia uniflora</i>	<i>Psidium cattleyanum</i>
<b><i>C. guazumifolia</i></b>	3	1	0	0	0
<b><i>C. xanthocarpa</i></b>	1	6	0	0	0
<b><i>E. involucrata</i></b>	0	0	5	0	0
<b><i>E. uniflora</i></b>	0	0	0	4	0
<b><i>P. cattleyanum</i></b>	0	0	0	0	4

Destaque cinza para classificações corretas das espécies, na diagonal principal da matriz de confusão.  
Fonte: A autora (2020).

Os valores dos coeficientes de correlação apresentados na Tabela 13, tanto por *Cross Validation* quanto pelo modelo de calibração, são valores elevados (> 0,8) para todos os algoritmos testados, FR, RNA e SVM.

Para os valores da validação externa do algoritmo FR (Tabela 14), foi observado que das 24 instâncias, 21 foram classificadas corretamente, para o RNA (Tabela 16) foram 23 e em SVM (Tabela 18), 22 obtiveram a classificação correta. Desta maneira, a taxa das instâncias classificadas corretamente foi acima de 87%. Isto denota que, por outro lado, a taxa de instâncias classificadas incorretamente se mantivesse relativamente baixas, quando testadas pelos três algoritmos, assim como, o erro absoluto médio, que se manteve entre 0,03 á 0,1 e um valor do índice Kappa acima de 0,8 para todos os algoritmos testados. Essas figuras de mérito apresentadas nas tabelas 13, 14, 16, e 18, por exemplo, demonstram a eficiência e confiabilidade

da escolha dos três algoritmos para a modelagem da varredura UV-VIS de extratos de folhas das cinco espécies de Myrtaceae avaliadas neste estudo.

Outros valores que garantem a confiabilidade da metodologia utilizada, são os valores da taxa de verdadeiro positivo (taxa TP), taxa de falso positivo (taxa FP), Precisão, Revocação, Medida F, Manutenção Centrada na Confiabilidade ou coeficiente de correlação de Matthews (MCC), área abaixo da curva (curva ROC) (curva PRC).

Para o algoritmo FR a taxa TP, taxa FP, Precisão, Revocação, Medida F, MCC, Curva ROC e Curva PRC, os valores se mantiveram acima de 0,5, o algoritmo RNA se manteve com valores acima de 0,7 e para o algoritmo SVM valores acima de 0,6, as taxas de falso positivo para os modelos de validação externa para o algoritmo FR, foi menor que 0,1 e para os algoritmos RNA e SVM foram menores que 0,05.

As matrizes de confusão para os modelos de validação de cada algoritmo testado (FR, RNA e SVM) são apresentadas nas Tabelas 15, 17 e 19, sendo possível observar suas altas taxas de acertos para as cinco espécies de Myrtaceae.

Na matriz de confusão por FR, as classificações ocorreram da seguinte maneira: a espécie *Campomanesia guazumifolia* com duas classificações corretas, *Campomanesia xanthocarpa* sete classificações corretas, e as demais espécies, *Eugenia involucrata*, *Eugenia uniflora* e *Psidium cattleianum* com 4 corretas classificações.

Para o algoritmo RNA, a classificação ocorreu da seguinte maneira: *Campomanesia guazumifolia* com três classificações corretas, *Campomanesia xanthocarpa* sete classificações corretas, *Eugenia involucrata* cinco classificações e *Eugenia uniflora* e *Psidium cattleianum* com 4 corretas classificações.

E pôr fim, o algoritmo SVM com um número de acertos da espécie *Campomanesia guazumifolia* com três classificações corretas, *Campomanesia xanthocarpa* seis classificações corretas, *Eugenia involucrata* cinco corretas classificações e as demais espécies *Eugenia uniflora* e *Psidium cattleianum* com 4 corretas classificações.

Analisando os resultados obtidos juntamente com os resultados das matrizes de confusão, conclui-se que os melhores resultados foram para os algoritmos RNA e SVM. Esses resultados contribuem para afirmar que o método utilizado por aprendizado de máquina pelos algoritmos testados, FR, RNA e SVM são eficientes

para classificar as cinco espécies de Myrtaceae, por meio da varredura UV-VIS. Esses resultados condizem com o estudo de Kho et al. (2017), onde o mesmo utilizou RNA e SVM para identificar três espécies do gênero *Ficus* através de imagens, tendo um desempenho de 83,3% para reconhecimento, sendo um estudo capaz de classificar as espécies selecionadas com precisão aceitável. Sendo assim, esses algoritmos podem ser considerados muito adequados e podem ser indicados e utilizados nesses tipos de tarefas de classificação e/ou previsão de quaisquer tipos de matrizes.

## 6. CONCLUSÃO

Nesse estudo, foi avaliado o desempenho de dois algoritmos PLS e FR para estimar os teores de pigmentos fotossintéticos em folhas de cinco espécies de Myrtaceae. Para a modelagem do teor de clorofila e teor de carotenoides, das espécies de Myrtaceae pelos histogramas RGB, os dois algoritmos de regressão foram precisos e confiáveis, gerando modelos que apresentaram elevados coeficientes de determinação para as cinco espécies de Myrtaceae, *Psidium cattleianum* (araçá), *Eugenia uniflora* (pitanga), *Campomanesia guazumifolia* (sete-capotes), *Campomanesia xanthocarpa* (guabiroba) e *Eugenia involucrata* (cereja-do-rio-grande) avaliadas nessa pesquisa.

Já, para a modelagem da varredura UV-VIS de extratos das folhas das cinco espécies de Myrtaceae, os melhores resultados para suas classificações ocorreram quando se utilizou os algoritmos RNA e SVM. Os resultados apresentados nessa pesquisa mostraram que o método utilizado por aprendizado de máquina e pelos seus algoritmos testados, FR, RNA e SVM são eficientes para classificar as cinco espécies de Myrtaceae, por análise espectroscópica.

A análise da fluorescência da clorofila *a* pela indução da curva OJIP, mostrou que as cinco espécies de Myrtaceae apresentaram distintos padrões de emissão de fluorescência. Esse padrão foi utilizado para a classificação das espécies em função desses atributos de fluorescência. A mais alta taxa de acerto para a classificação das espécies, ocorreu quando o algoritmo FR, foi utilizado.

Considerando os resultados apresentados neste trabalho, fica atestado a potencialidade dos métodos empregados para estimar os teores de pigmentos fotossintéticos presentes nas membranas dos tilacoides de folhas de Myrtaceae. O emprego dos 15 parâmetros de fluorescência da clorofila *a*, descrito nesse estudo, podem ser utilizados como marcadores para diferenciação taxo-quimiométrica de espécies arbóreas. A utilização desses parâmetros contribuiu para a identificação taxonômica dessas espécies, assim como abrem perspectiva para a identificação de outras espécies frutíferas pertencentes à família Myrtaceae com potencial de uso econômico, ainda não explorado

## 7. REFERÊNCIAS

- ABDI, H. Partial least squares regression and projection on latent structure regression (PLS Regression). **WIREs Computational Statistics**, v. 2, n. 1, p. 97–106, 2010.
- ABDOLLAHI, S. et al. Prioritization of effective factors in the occurrence of land subsidence and its susceptibility mapping using an SVM model and their different kernel functions. **Bulletin of Engineering Geology and the Environment**, v. 78, p. 4017-4034, 2019.
- ABE, S. Y. et al. Prospecção fitoquímica, teor de flavonoides totais e capacidade antioxidante de *Campomanesia xanthocarpa* Mart. Ex O. Berg (MYRTACEAE). **Revista Eletrônica de farmácia**, v.11, n. 2, p. 1-14, 2014.
- ABIODUN, O. I. et al. State-of-the-art in artificial neural network applications: A survey. **Heliyon**, v. 4, n. 11, e00938, 2018.
- ADAMS III, W. W.; DEMMING-ADAMS, B. Chlorophyll fluorescence as a tool to monitor plant response to the environment. In: PAPAGEORGIOU, G. C., GOVINDJEE (Eds.), **Chlorophyll a Fluorescence**. A Signature of Photosynthesis. Dordrecht: Springer, 2012. p. 583–604.
- ALBUQUERQUE, M. P. DE; ALBUQUERQUE, M. P. DE. **Processamento de Imagens: Métodos e Análises**. Rio de Janeiro, Brasil: Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas - CBPF/MCT, 2000.
- ALMEIDA, L. P. et al. Crescimento inicial de plantas de *Cryptocaria aschersoniana* Mez. submetidas a níveis de radiação solar. **Ciência Rural**, v. 34, p. 83-88, 2004.
- ALMEIDA, M. R. et al. Classification of Amazonian rosewood essential oil by Raman spectroscopy and PLS-DA with reliability estimation. **Talanta**, v. 117, p. 305-311, 2013.
- ALVES, F. C. G. B. S. **Autenticação de óleos comestíveis empregando espectroscopia UV-Vis e quimiometria**. 2015. 64f. Dissertação (mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Campo Mourão, PR. 2015.
- ALVES, L. D. S. et al. Desenvolvimento de método analítico para quantificação do efavirenz por espectrofotometria no UV-VIS. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1967–1972, 2010.
- AMORIM, A. C. L. et al. Antinociceptive and hypothermic evaluation of the leaf essential oil and isolated terpenoids from *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga). **Phytomedicine**, v. 16, n. 10, p. 923-928, 2009.
- ANJOS, C. S. DOS et al. Análise do nível de legenda de classificação de áreas urbanas empregando imagens multiespectrais e hiperespectrais com os métodos árvore de decisão C4.5 e floresta randômica. **Boletim de Ciências Geodésicas**, v. 23, n. 2, p. 371-388, 2017.

- ANTUNES, L. E.C .; RASEIRA, M. C. B. **Cultivo do mirtilo (*Vaccinium spp*)**. (Documentos EMBRAPA). Pelotas, 2006. 99 p.
- APPENROTH, K. J. et al. Multiple effects of chromate on the photosynthetic apparatus of *Spirodela polyrhiza* as probed by OJIP chlorophyll *a* fluorescence measurements. **Environmental Pollution**, v. 115,n. 1, p. 49-64, 2001.
- AQUINO, C.; BARBOSA, L.M. Classes sucessionais e síndromes de dispersão de espécies arbóreas e arbustivas existentes em vegetação ciliar remanescente (Conchal, SP), como subsídio para avaliar o potencial do fragmento como fonte de propágulos para enriquecimento de áreas revegetadas no rio Mogi-Guaçu, SP. **Revista Árvore**, v. 33, n. 2, p. 349-358, 2009.
- AURICCHIO, M. T.; BACCHI, E. M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): Propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, p. 55- 61, 2003.
- AZEVEDO NETO, A. D. de. et al. Fluorescência da clorofila como uma ferramenta possível para seleção de tolerância à salinidade em girassol. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 42, n. 4, p. 893-897, 2011.
- BAKER, N. R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 89-113, 2008.
- BAKER, N. R.; ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal Experimental Botany**, v. 55, p. 1607-1621, 2004.
- BALLABIO, D.; CONSONNI, V. Classification tools in chemistry. Part 1: linear models PLS-DA. **Analitycal Methods**, v. 5, p. 3790-3798, 2013.
- BARBOSA, V. DE M; NOBREGA, M. A. DOS S.; SANTIAGO, E. F. Respostas Germinativas de *Psidium Guineense* Swarts (Myrtaceae) e Plantas Jovens a Múltiplos Fatores de Estresse. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 18, n. 4, p. 173-178, 2014.
- BARROS NETO, B. de.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. 25 anos de quimiometria no Brasil. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1401–1406, 2006.
- BAS, D.; BOYACI, I. H. Modeling and optimization II: Comparison of estimation capabilities of response surface methodology with artificial neural networks in a biochemical reaction. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n.3, p. 846-854. 2007.
- BASSBASI, M. et al. FTIR-ATR determination of solid non fat (SNF) in raw milk using PLS and SVM chemometric methods. **Food Chemistry**, v. 146, p. 250-254, 2014.
- BELO, R. F. C. et al. Characterization and classification of pequi trees (*Caryocar*



*brasiliense* Camb.) based on the profile of volatile constituents using headspace solid-phase microextraction - gas chromatography - mass spectrometry and multivariate analysis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, n. 1, p. 116–124, 2013.

BERNARDI, F.; NICOLINI, K. P.; NICOLINI, J. Estudo fitoquímico de *Hydrangea* sp. por meio de métodos clássicos de análise por espectroscopia no ultravioleta visível (UV-Vis) e cromatografia em coluna e em papel. **Infarma**, v. 29, n. 1, p. 68-70, 2017.

BERTOLDO, É.; PAISANI, J. C.; OLIVEIRA, P. E. DE. Registro de Floresta Ombrófila Mista nas regiões sudoeste e sul do Estado do Paraná, Brasil, durante o Pleistoceno / Holoceno. **Hoehnea**, v. 41, n. 1, p. 1–8, 2014.

BEZERRA, J. E. F. et al. **Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2006. p. 42-62.

BJÖRKMAN, O.; DEMMIG, B. Photon Yield of O<sub>2</sub> Evolution and Chlorophyll Fluorescence Characteristics at 77 K Among Vascular Plants of Diverse Origins. **Planta**, v. 170, n. 4, p. 489-504, 1987.

BOISVERT, S.; JOLY, D.; CARPENTIER, R. Quantitative analysis of the experimental O-J-I-P chlorophyll fluorescence induction kinetics: Apparent activation energy and origin of each kinetic step. **FEBS Journal**, v. 273, n. 20, p. 4770–4777, 2006.

BONAH, E. et al. Vis-NIR Hyperspectral Imaging for the Classification of Bacterial Foodborne Pathogens based on pixel-wise analysis and a novel CARS-PSO-SVM model. **Infrared Physics & Technology**, v. 105, 103220, 2020.

BONTEMPO, P. et al. *Feijoa sellowiana* derived natural Flavone exerts anti-cancer action displaying HDAC inhibitory activities. **International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, n. 10, p. 1902-14, 2007.

BORELLO, E.; DOMENICI, V. Determination of pigments in virgin and extra-virgin olive oils: A comparison between two near UV-Vis spectroscopic techniques. **Foods**, v. 8, n. 1, p. 18, 2019.

BRAGA, J. W. B. **Avaliação de figuras de mérito em calibração multivariada, aplicada na determinação de carbamazepina por espectroscopia no infravermelho próximo e médio**. 2004. 153p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas - Unicamp, Instituto de Química, Campinas, São Paulo, 2004.

BRANDÃO, M.; LACA-BUENDÍA, J. P.; MACEDO, J. F. **Árvores nativas e exóticas do Estado de Minas Gerais**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2002. 528 p.

BREIMAN, L. Random Forests. **Machine learning**, v. 45, n. 1, p. 5–32, 2001.

CALLAO, M. P.; RUISÁNCHEZ, I. An overview of multivariate qualitative methods for food fraud detection. **Food Control**, v. 86, p. 283–293, 2018.

CAMPBELL, M. K.; FARRELL, S. O. **Bioquímica**. 5. ed. São Paulo: Thomson, 2006. p.845.

CANIZO, B. V. et al. Intra-regional classification of grape seeds produced in Mendoza province (Argentina) by multi-elemental analysis and chemometrics tools. **Food Chemistry**, v. 242, p. 272-278, 2018.

CARVALHO, J. S. B. DE; MENDONÇA, C. A. S.; LIMA, L. D. DE. Relato de uma experiência de ensino sobre fotossíntese fundamentada na teoria ausubeliana. **Educação e (Trans)formação**, v. 2, n. 1, p. 79–93, 2017.

CARVALHO, P. E. R. **Cerejeira: *Eugenia involucrata***. Comunicado Técnico, Colombo: Embrapa Florestas, Julho, 2009.

CAZZONELLI, C. I. Goldacre review: carotenoids in nature: Insights from plants and beyond. *Functional Plant Biology*, v. 38, p. 833-847, 2011.

CHAZDON, R. L. Photosynthetic plasticity of two rainforest shrubs across natural gap transects. *Oecologia*, v. 92, p. 586-595, 1992.

CIARLINI, J. J. S.; MARANGONI, A.; BOLZAN, A. Selectivity of supercritical CO<sub>2</sub> extraction and atmospheric pressure techniques for the major volatile compounds of *Eugenia involucrata* leaves from Southern Brazil. **Food and Bioproducts Processing**, v. 106, p. 29-34, 2017.

CITADIN, I. et al. Qualidade de frutos de jaboticabeira (*Myrciaria cauliflora*) sob influência de duas condições de cultivo: sombreamento natural e pleno sol. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 11, p. 373-375, 2005.

CONGALTON, R. G. A review of assessing the accuracy of classifications of remotely sensed data. **Remote Sensing of Environment**, v. 46, p. 35–46, 1991.

CORTES, C.; VAPNIK, V. Support-vector networks. **Machine Learning**, v. 20, p. 273-297, 1995.

DA-COL, J. A.; DANTAS, W.; POPPI, R. Experimento didático de quimiometria para o mapeamento de pellets farmacêuticos utilizando espectroscopia de imagem na região do infravermelho próximo e resolução multivariada de curvas com mínimos quadrados alternantes: um tutorial, parte IV. **Química Nova**, v. 41, n. 3, p. 345–354, 2017.

DAMASCENO, D. et al. Análise multivariada de imagens na química: Um experimento para determinação do pH de águas potáveis. **Química Nova**, v. 38, n. 6, p. 836–841, 2015.

DEGENHARDT, J.; FRANZON, R. C.; COSTA, R. R. da. **Cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata*)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. 22 p. -- (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 211).

DINÇ, E. et al. The chl a fluorescence intensity is remarkably insensitive to changes in the chlorophyll content of the leaf as long as the chl a/b ratio remains unaffected. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1817, n. 5, 70-779, 2012.

DONADIO, L. C. Jaboticaba (*Plinia jaboticaba* (Vell.) Berg). In: **Frutas Brasileiras**. DONADIO, L. C.; MÔRO, F. V.; SERVIDONE, A. A. Jaboticabal: FUNEP, 2002. 288 p.

DONADIO, L. C.; MORO, F.; CUNHA, E. L. **Frutíferas Nativas e Exóticas: Morfologia Floral**. UNESP: Jaboticabal. 2017. 324p.

DORIGONI, P. A. et al. Levantamento de dados sobre plantas medicinais de uso popular no município de São João do Polêsine, RS, Brasil. I - Relação entre enfermidades e espécies utilizadas. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 4, n. 1, p. 69-79, 2001.

EGEA, M. B., PEREIRA-NETTO, A. B. Bioactive compound-rich, virtually unknown, edible fruits from the Atlantic Rainforest: changes in antioxidant activity and related bioactive compounds during ripening. **European Food Research and Technology**, v. 245, p. 1081-1093, 2019.

ELIAS, S. R. M. et al. Anatomia foliar em plantas jovens de *Solanum lycocarpum* A.St.-Hil. (Solanaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 2, p.169-174, 2003.

ELMOLLA, E. S.; CHAUDHURI, M.; ELTOUKHY, M. M. The use of artificial neural network (ANN) for modeling of COD removal from antibiotic aqueous solution by the Fenton process. **Journal of Hazardous Materials**, v. 179, n. 1-3, p. 127-134, 2010.

EMBRAPA FLORESTAS. **Monitoramento da Fenologia Vegetativa e Reprodutiva de Espécies Nativas dos Biomas Brasileiros**: Guabirobeira, 2011. Disponível em:< <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/919971/monitoramento-da-fenologia-de-especies-arboreas-das-florestas-brasileiras-guabirobeira>>. Acesso em: 10 mai. 2020.

ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 3, n. 1, p. 39-45, 1991.

Espectrofotometria. Disponível em: <<http://www.c2o.pro.br/automacao/ar01s15.html>>. Acesso em: 09 set. 2019.

FERRÃO, M. F. et al. Determinação simultânea dos teores de cinza e proteína em

farinha de trigo empregando NIR-PLS e DRIFT-PLS. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 3, p. 333–340, 2004.

FERREIRA, M. M. C. et al. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**, v. 22, n. 5, 1999.

FERREIRA, M., M. C. **Quimiometria**: conceitos, métodos e aplicações. Campinas, SP: Editora da Unicamp, p. 493, 2015.

FIUZA, T. S. et al. Caracterização farmacognóstica das folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 5, n. 2, p. 21-31, 2008.

FLORA DO BRASIL. **Campomanesia in Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2020e. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB10316>>. Acesso em: 22 mai. 2020.

FLORA DO BRASIL. **Campomanesia in Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2020c. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB10335>>. Acesso em: 21 mai. 2020.

FLORA DO BRASIL. **Eugenia in Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2020b. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB10419>>. Acesso em: 22 mai. 2020.

FLORA DO BRASIL. **Eugenia in Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2020d. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB10560>>. Acesso em: 21 mai. 2020.

FLORA DO BRASIL. **Psidium in Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2020a. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB10858>>. Acesso em: 21 mai. 2020.

FOCHEZATTO, E. S. **Composição físico-química, nutricional e compostos bioativos do araçá amarelo (*Psidium cattleianum* Sabine)**. 32 p. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Nutrição) – Departamento de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

FRANZON, R. C. et al. Propagação da pitangueira através da enxertia de garfagem. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 2, p. 488-491, 2008.

FREDE, K.; SCHREINER, M.; BALDERMANN, S. Light quality-induced changes of carotenoid composition in pak choi *Brassica rapa* ssp. *chinensis*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 193, p. 18-30, 2019.

FRISCH, J. D.; FRISCH, C. D. **Aves Brasileiras e Plantas que as Atraem**. 3. ed. São Paulo: Dalgas Ecoltec-Ecologia Técnica Ltda., 2005. 480 p.

GAMA, J. R. V. et al. Estrutura e potencial futuro de utilização da regeneração natural de floresta de várzea alta no município de Afuá, estado do Pará. **Ciência Florestal**, v. 13, n. 2, p. 71, 2003.

GHAEDI, M. et al. Random forest model for removal of bromophenol blue using activated carbon obtained from *Astragalus bisulcatus* tree. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 20, n. 4, p. 1793–1803, 2014.

GHIDIN, A. A. et al. Topossequências de Latossolos originados de rochas basálticas no Paraná: I - mineralogia da fração argila. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 30, n. 2, p. 293-306, 2006.

GISLASON, P. O.; BENEDIKTSSON, J. A.; SVEINSSON, J. R. Random forests for land cover classification. **Pattern Recognition Letters**, v. 27, n. 4, p. 294–300, 2006.

GODINHO, M. da S. et al. Classificação de refrigerantes através de análise de imagens e análise de componentes principais (PCA). **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1485–1489, 2008.

GOLTSEV, V. N. et al. Variable chlorophyll fluorescence and its use for assessing physiological condition of plant photosynthetic apparatus. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 63, n. 6, p. 869–893, 2016.

GOMES, G. C. et al. **Conservação de frutíferas nativas**: localização, fenologia e reprodução. Documentos 183, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2007, p. 18.

GONÇALVES, E. R. et al. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila a em variedades de cana-de-açúcar submetidas à deficiência hídrica. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.14, n.4, p.378–386, 2010a.

GONÇALVES, J. F. DE C. et al. Análise dos transientes da fluorescência da clorofila a de plantas jovens de *Carapa guianensis* e de *Dipteryx odorata* submetidas a dois ambientes de luz. **Acta Amazonica**, v. 40, n. 1, p. 89-98, 2010b.

GOVAERTS, R. et al. **World checklist of Myrtaceae. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew**. 2018. Disponível em: <<http://wcsp.science.kew.org/qsearch.do>>. Acesso em: 10 dez. 2018.

GRESSLER, E.; PIZO, M. A.; MORELLATO, L. P.C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 29, p. 509-530, 2006.

GUO, Y.; TAN, J. Recent advances in the application of chlorophyll a fluorescence

from photosystem II. **Photochemistry and Photobiology**, v. 91, n. 1, p. 1–14, 2015.

HANELT, D. Photosynthesis assessed by chlorophyll fluorescence. In: HÄDER, D-P.; ALEXANDER, F.; ERZINGER, G. S. **Bioassays: Advanced Methods and Applications**. p.169–198, 2018.

HAYKIN, S. **Redes Neurais, Princípios e Práticas**. 2. ed., Bookman, Porto Alegre (2001).

HELPER, G. A. et al. Chemostat, um software gratuito para análise exploratória de dados multivariados. **Química Nova**, v. 38, n. 4, p. 575–579, 2015.

HERZOG, N. F. M.; MALAVASI, M. M.; MALAVASI, U. C. Morfometria dos frutos e germinação de sementes de *Campomanesia xanthocarpa* O. Berg. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 4, p. 1359-1366, 2012.

HIGUCHI, P. et al. Floristic composition and phytogeography of the tree component of Araucaria Forest fragments in southern Brazil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 35, n. 2, p. 145–157, 2012.

HOU, G. et al. Rapid identification of edible oil species using supervised support vector machine based on low-field nuclear magnetic resonance relaxation features, **Food Chemistry**, v. 280, p. 139-145, 2019.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Manual técnico da vegetação brasileira**. Rio de Janeiro, p. 271, 2012.

IM, I. et al. The Butanol Fraction of Guava (*Psidium cattleianum* Sabine) Leaf Extract Suppresses MMP-2 and MMP-9 Expression and Activity Through the Suppression of the ERK1/2 MAPK Signaling Pathway. **Nutrition and Cancer**, v. 64, n. 2, p. 255-266, 2012.

JARQUÍN-SÁNCHEZ, A. et al. Analysis of soil organic matter in tropical soils with near-infrared spectroscopy (NIRS) and chemometrics. **Ciencia e investigación agraria**, v. 39, n. 2, p. 387–394, 2012.

JESUS, S. V. De; MARENCO, R. A. O SPAD-502 como alternativa para a determinação dos teores de clorofila em espécies frutíferas. **Acta amazônica**, v. 38, n. 4, p. 815-818, 2008.

JONES, F. C. et al. Random forests as cumulative effects models: A case study of lakes and rivers in Muskoka, Canada. **Journal of Environmental Management**, v. 201, p. 407–424, 2017.

KALAJI, H. M. et al. Frequently asked questions about in vivo chlorophyll fluorescence: Practical issues. **Photosynthesis Research**, v. 122, n. 2, p. 121–158, 2014.

- KARAMI, M.; SALEHI, H.; NAGHSHVAR, F. Study of histopathology and antioxidant activity of methanolic extract of *Feijoa Sellowiana* against dosage induced by MDMA in mouse liver. **Pharmacology online**, v.3, p.315- 21, 2008.
- KAUTSKY, H.; HIRSCH, A. Neue Versuche zur Kohlensäureassimilation. **Naturwissenschaften**, v. 19, n. 48, p. 964-964, 1931.
- KHATAEE, A. R.; ZAREI, M.; POURHASSAN, M. Bioremediation of malachite green from contaminated water by three microalgae: Neural network modeling. **Clean-Soil, Air, Water**, v. 38, n. 1, p. 96-103, 2010.
- KHO, S. J. et al. Automated plant identification using artificial neural network and support vector machine. **Frontiers in Life Science**, v. 10, n. 1, p. 98-107, 2017.
- KHYASUDEEM, M. F. et al. Studying the spectral diffusion dynamics of chlorophyll a and chlorophyll b using two-dimensional electronic spectroscopy. **Chemical Physics**, v. 527, n. 1, 110480, 2019.
- KLAFKE, J. Z. et al. Effects of *Campomanesia xanthocarpa* on biochemical, hematological and oxidative stress parameters in hyper cholesterol emic patients. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, p. 299-305, 2010.
- KONRAD et al., 2005. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila em seis cultivares de cafeeiro sob estresse de alumínio. **Bragantia**, v. 64, n.3, p. 339-347, 2005.
- KRAUSE, G. H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. **Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, n. 42, p. 313-349, 1991.
- KRAUSE, G. H.; WEIS, E. Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology. II. Interpretation of fluorescence signals. **Photosynthesis Research**, v. 5, p. 139-157, 1984.
- KRÜGER, G. H. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; STRASSER, R. J. Light stress provokes plastic and elastic modifications in structure and function of photosystem II in camellia leaves. *Physiologia Plantarum*, v. 101, n. 2, p. 265-277, 1997.
- KRUPEK, R. A.; LIMA, A. D. de. Variação na estrutura foliar de guabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg.) sob diferentes condições de luminosidade em um remanescente de Floresta Ombrófila Mista. **Ambiência**, v. 8 n. 2, p. 293-305, 2012.
- KULKARNI, A. D.; LOWE, B. Random Forest Algorithm for Land Cover Classification. **Computer Science Faculty Publications and Presentations**, v. 4, n. 3, p. 58-63, 2016.
- LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. **Biometrics**, v. 33, n. 1, p. 159, 1977.

- LANDRUM, L. R.; KAWASAKI, M. L. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, v. 49, p. 508-536, 1997.
- LAVINE, B. K. Validation of classifier. in: Walczak B; Tauler R; Brown S, (Eds) **Comprehensive Chemometrics**. Elsevier Inc. Oxford (2009) 587–599.
- LAZÁR, D. Chlorophyll a fluorescence induction. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1412, p. 1-28, 1999.
- LAZÁR, D. The Polyphasic chlorophyll a fluorescence rise measured under high intensity of exciting light. **Functional Plant Biology**, v. 33, p. 9-30, 2006.
- LEE, S.; CHOI, H.; CHA, K.; CHUNG, H. Random forest as a potential multivariate method for near-infrared (NIR) spectroscopic analysis of complex mixture samples: Gasoline and naphtha. **Microchemical Journal**, v. 110, p. 739–748, 2013.
- LEMOS-FILHO, J. P. DE. Fotoinibição em três espécies do cerrado (*Annona crassifolia*, *Eugenia dysenterica* e *Campomanesia adamantium*) na estação seca e na chuvosa. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23, n. 1, p. 45-50, 2000.
- LI, Y. et al. Random forest regression for online capacity estimation of lithium-ion batteries. **Applied Energy**, v. 232, p. 197-210, 2018.
- LIAW, A.; WIENER, M. Classification and regression by random Forest. **R News**, v. 2, p. 18-22, 2002.
- LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes. **Methods in enzymology**, v. 148, p. 350, 1987.
- LIMA, D.F.; GOLDENBERG, R.; SOBRAL, M. O gênero *Campomanesia* (Myrtaceae) no estado do Paraná, Brasil. **Rodriguésia**, v. 62, p. 683-693, 2011.
- LISBÔA, Gustavo N.; KINUPP, Valdely F.; BARROS, Ingrid B. I. de. *Psidium cattleianum* - Araçá. In: CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. (Eds.). **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**. Brasília: MMA, 2011. p. 934.
- LIU, S. et al.  $\beta$ -Elemene enhances both radiosensitivity and chemosensitivity of glioblastoma cells through the inhibition of the ATM signaling pathway. **Oncology Reports**, v. 34, n. 2, p. 943-951, 2015.
- LIU, W. et al. Discrimination of geographical origin of extra virgin olive oils using terahertz spectroscopy combined with chemometrics. **Food Chemistry**, v. 251, p. 86-92, 2018.



- LÓPEZ, M. I., CALLAO, M. P., RUISÁNCHEZ, I. A tutorial on the validation of qualitative methods: From the univariate to the multivariate approach. **Analytica Chimica Acta**, 891, 62-72, 2015.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. v.1, 7. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2016. 384p.
- LU, X. S. et al.  $\beta$ -Elemene inhibits the proliferation of T24 bladder carcinoma cells through upregulation of the expression of Smad4. **Molecular Medicine Reports**, v. 7, n. 2, 513-518, 2013.
- LUCAS, E. J. et al. Phylogenetic patterns in the fleshy-fruited Myrtaceae – preliminary molecular evidence. **Plant Systematics and Evolution**, v. 251, p. 35-51, 2005.
- LUCAS, E. J. et al. Suprageneric phylogenetics of Myrteae, the generically richest tribe in Myrtaceae (Myrtales). **Taxon**, v. 56, n. 4, p. 1105-1128, 2007.
- MAKARSKA-BIALOKOZ, M.; KACZOR, A. A. Computational analysis of chlorophyll structure and UV-Vis spectra: a student research project on the spectroscopy of natural complexes. **Spectroscopy Letters**, v. 47, n. 2, p. 147-152, 2014.
- MARÇO, P. H. **Estudo da influência da radiação e pH no comportamento cinético de antocianinas de plantas do gênero hibiscus por métodos quimiométricos**. 2009. 209f. Tese (doutorado em química). Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química, Campinas – SP, 2009.
- MARIN, R. et al. Volatile Components and Antioxidant Activity from some Myrtaceous Fruits cultivated in Southern Brazil. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, p. 172-177, 2008.
- MARQUES FILHO, O.; VIEIRA NETO, H. **Processamento Digital de Imagens**. Rio de Janeiro: Brasport, 1999.
- MARQUES, R. P. et al. Relações Hídricas e Produção de Pigmentos Fostossintéticos em Mudanças de *Eugenia Uniflora* L. Sob Condições de Salinidade. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 4, n. 3, p. 497-509, 2011.
- MARTINAZZO, E. G. et al. Efeito do sombreamento sobre o crescimento inicial e teor de clorofila foliar de *Eugenia uniflora* Linn (Pitanga) – Família Myrtaceae. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. S2, p. 162-164, 2007.
- MATTOS, J. R. **Guabiroleiras do Brasil**. Jaboticabal. Funep, 2010. 50p.
- MAXWELL, K.; JOHNSON, G.N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, v. 51, p. 659-668, 2000.

MCCULLOCH, W. S.; PITTS, W. A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity. **Bulletin of Mathematical Biophysics**, v. 5, p. 115-133, 1943.

MEDINA, A. L. et al. Araca (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, v. 128, p. 916-922, 2011.

MELO JÚNIOR, C. M. et al. Geração de mapas de danos de fachadas de edifícios por processamento digital de imagens capturadas por Vant e uso de fotogrametria digital. **Ambiente Construído**, v. 18, n. 3, p. 211–226, 2018.

MENDES, T. DE O. et al. Discrimination between conventional and omega-3 fatty acids enriched eggs by FT-Raman spectroscopy and chemometric tools. **Food Chemistry**, v. 273, p. 144–150, 2019.

MENDONÇA, V. et al. Produção de mudas tipo pé-franco de cerejeira-do-mato adubadas com cloreto de potássio. **Agrarian**, v. 2, n. 5, p. 87-95, 2010.

MIELKE, M. S.; SCHAFFER, B. Photosynthetic and growth responses of *Eugenia uniflora* L. seedlings to soil flooding and light intensity. **Environmental and Experimental Botany**, v. 68, p. 113-121, 2010.

MIELKE, M. S.; SCHAFFER, B.; SCHILLING, A. C. Evaluation of reflectance spectroscopy indices for estimation of chlorophyll content in leaves of a tropical tree species. **Photosynthetica**, v. 50, p. 343-352, 2012.

MISRA, A. N.; MISRA, M.; SINGH, R. Chlorophyll Fluorescence in plant biology. In: MISRA, A. N. (Ed.). **Biophysics**. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/biophysics/chlorophyll-fluorescence-in-plant-biology>>. Acesso em: 04. Jul. 2020.

MITRA, S. K. et al. Taxonomy and importance of Myrtaceae. **Acta horticulturae**, v. 959, p. 23–34, 2012.

MOHAMMADI, M.; KHORRAMI, M. K.; GHASEMZADEH, H. ATR-FTIR spectroscopy and chemometric techniques for determination of polymer solution viscosity in the presence of SiO<sub>2</sub> nanoparticle and salinity. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 220, p. 1-7, 2019.

MOUGET, J.; TREMBLIN, G. Suitability of the fluorescence monitoring system (FM, Hansatech) for measurement of photosynthetic characteristics in algae. **Aquatic Botany**, v. 74, n. 03, p. 219-231, 2002.

MUÑIZ, G. I. B. DE et al. Fundamentos e estado da arte da espectroscopia no infravermelho próximo no setor de base florestal. **Ciência Florestal**, v. 22, n. 4, p. 865–875, 2012.

MURAKAMI, N. S. **Processamento e caracterização do gel Magic-f com raios-x, espectroscopia por RMN e EPR e espectrofotometria UV/Vis**. 68 f.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2017.

MURCHIE, E. H.; LAWSON, T. Chlorophyll fluorescence analysis: A guide to good practice and understanding some new applications. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 13, p. 3983–3998, 2013.

NARVAES, I. D. S.; BRENA, D. A.; LONGHI, S. J. Estrutura da regeneração natural em Floresta Ombrófila Mista na Floresta Nacional de São Francisco de Paula, RS. **Ciência Florestal**, v. 15, n. 4, p. 331, 2005.

NATA. Technical Note 17. **Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative test methods**. 32p. Canberra: National Association of Testing Authorities (2013).

NETO, R. et al. Análise florística e estrutural de um fragmento de floresta ombrófila mista montana, situado em Criúva, RS, Brasil. **Ciência Florestal**, v. 12, n. 1, p. 29–37, 2002.

NOBEL, P. S. **Physicochemical and environmental plant physiology**. San Diego: Academic Press, 1991. 474p.

OLIVEIRA, M. I. U.; FUNCH, L. S.; LANDRUM, L. R. Flora da Bahia: *Campomanesia* (Myrtaceae). **Sitientibus**, v. 12, p. 91–107, 2012.

PATEL, S. Exotic tropical plant *Psidium cattleianum*: a review on prospects and threats. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, v. 11, p. 243-248, 2012.

PEIXOTO, P. H. P.; MATTA, F. M. DA; MATTA, J. C. DA. Responses of the photosynthetic apparatus to aluminum stress in two sorghum cultivars. **Journal of Plant Nutrition**, v. 25, n. 4, p.821-832, 2002.

PEREIRA, J. M. **Metodologia alternativa para detecção rápida de *Salmonella* spp. em leite via espectroscopia e quimiometria** 2016. 45f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Campo Mourão, 2016.

PEREIRA, M. C. et al. Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae family. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 12, p. 3061–3067, 2012.

PEREIRA, V. P.; KNOR, F. J.; VELLOSA, J. C. R.; BELTRAME, F. L. Determination of phenolic compounds and antioxidant activity of green, black and white teas of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 3, p. 490–498, 2014.

PHAM, B. T. et al. A Novel Hybrid Soft Computing Model Using Random Forest

and Particle Swarm Optimization for Estimation of Undrained Shear Strength of Soil. **Sustainability**, v. 12, n. 6, p. 2218, 2020.

PIZO, M. A. The seed dispersers and fruit syndromes of Myrtaceae in Brazilian Atlantic forest. In: LEVEY, D. J.; SILVA, W. R.; GALETTI, M. (eds.). **Frugivores and seed dispersers** – biodiversity and conservation perspectives. CABI Publishing, Wallingford, 2002. p.129-143.

PORRA, R. J. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. **Photosynthesis Research**, v.73, n.1-3, p.149-156, 2002.

PORRA, R. J.; THOMSON, W. A.; KRIEDEMANN, P. E. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 975, p. 384-394, 1989.

PRADHAN, B. A comparative study on the predictive ability of the decision tree, support vector machine and neuro-fuzzy models in landslide susceptibility mapping using GIS. **Computers and Geosciences**, v. 51, p. 350-365, 2013.

QUEIROZ, J. E. R. DE; GOMES, H. M. Introdução ao Processamento Digital de Imagens. **RITA**, v. 13, n. 2, p. 11–42, 2006.

RAI, P.; MAJUMDAR, G. C., DASGUPTA, S. DE S. Prediction of the viscosity of clarified fruit juice using artificial neural network: a combined effect of concentration and temperature. **Journal of Food Engineering**, v. 68, n. 4, p. 527-533, 2005.

REYNERTSON, K. A. et al. Analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v. 109, p. 883-890, 2008.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.

RIBEIRO, A. B.; CHISTÉ, R. C.; FREITAS, M. *Psidium cattleianum* fruit extracts are efficient in vitro scavengers of physiologically relevant reactive oxygen and nitrogen species. **Food Chemistry**, v. 165, p. 140-148, 2014.

RIBEIRO, F. A. de L.; FERREIRA, M. M. C.; MORANO, S. C.; SILVA, L. R. da.; SCHNEIDER, R. P. Planilha de validação: Uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 164–171, 2008.

ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 807–812, 2004.

- RODRIGUES, L. P. M.; RAMBO, M. K. K. D. Biorrefinarias: caracterização de biomassas residuais do tocantins por espectroscopia nir aliada a quimiometria visando a obtenção de insumos químicos e condicionadores de solo. **Revista Desafios**, v. 3, n. Especial, p. 49–54, 2017.
- ROSEMBLATT, F. The perceptron: a probabilistic model for information storage and arganization in the brain. **Psychological Review**, Vol. 65, 1958, pp. 386-408.
- SALONEN, T. et al. Chemometrics in forensic chemistry — Part II: Standardized applications – three examples involving illicit drugs. **Forensic Science International**, v. 307, 110138, 2019.
- SANQUETTA et al. Inventário de plantas fornecedoras de produtos não madeireiros da Floresta Ombrófila Mista no estado do Paraná. **Scientia Agraria**, v. 11, n. 5, p. 359-369, 2010.
- SANTOS, G. N. DOS et al. Regeneração natural em uma floresta com araucária: inferências sobre o processo de construção da comunidade de espécies arbóreas. **Ciência Florestal**, v. 28, n. 2, p. 483, 2018.
- SANTOS, M. S. et al. Polissacarídeos Extraídos da Gabiroba (*Campomanesia xanthocarpa* Berg): Propriedades Químicas e Perfil Reológico. **Revista Polímeros**, v. 20, n. especial, p.352-358, 2010.
- SANTOS, P. M.; COLNAGO, L. A. Comparison among MIR, NIR, and LF-NMR techniques for quality control of jam using chemometrics. **Food Analytical Methods**, v. 11, n. 7, p. 2029-2034, 2018.
- SARDI, J. C. O. et al. Unexplored endemic fruit species from Brazil: Antibiofilm properties, insights into mode of action, and systemic toxicity of four *Eugenia* spp. **Microbial Pathogenesis**, v. 105, p. 280-287, 2017.
- SAUSEN, T.L. et al. Avaliação da atividade alelopática do extrato aquoso de folhas de *Eugenia involucrata* DC. E *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret. **Polibotânica**, v. 27, p. 145-158, 2009.
- SCHÄFFER, W. B.; PROCHNOW, M. A Mata Atlântica e você: como preservar, recuperar e se beneficiar da mais ameaçada floresta brasileira. **Brasília: Apremavi**, 2002.
- SENA, M. M. DE et al. Avaliação do uso de métodos quimiométricos em análise de solos. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 547–556, 2000.
- SILVA, I. N.; SPATTI, D. H.; FLAUZINO, R. A. **Redes Neurais Artificiais**: para engenharia e ciências aplicadas. São Paulo: Editora Artliber Ltda, p. 399, 2010.
- SILVA, L. DA et al. Fotossíntese, relações hídricas e crescimento de cafeeiros jovens em relação à disponibilidade de fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n. 9, p. 965-972, 2010.

SILVA, N. A. D.; RODRIGUES, E.; MERCADANTE, A. Z. Phenolic compounds and carotenoids from four fruits native from the Brazilian Atlantic forest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 22, p. 5072-5084, 2014.

SMIT, M. F. et al. Effect of trifluoroacetate, a persistent degradation product of fluorinated hydrocarbons, on *Phaseolus vulgaris* and *Zea mays*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 47, p. 623-634, 2009.

SMOLA, A. J.; SCHOLKOPF, B. A tutorial on support vector regression. **Statistics and Computing**, 14, 199–222, 2004.

SOARES-SILVA, L. H.; PROENÇA, C. E. B. A new species of *Psidium* L. (Myrtaceae) from southern Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 158, p. 51-54, 2008.

SOBRAL, M. et al. **Myrtaceae**. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 21 jun. 2018.

SOBRAL, M. et al. Seven new records of Myrtaceae in Brazil. **Check List**, v. 11, n.4, p. 1-12, 2015.

SOEIRO, B. T. et al. Investigação da qualidade de farinhas enriquecidas utilizando Análise por Componentes Principais (PCA). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 3, p. 618–624, 2010.

SOLOMON C.; BRECKON T. **Fundamentos de processamento digital de imagens: uma abordagem prática com exemplos em Matlab**. Editora LTC, Rio de Janeiro. 2013. 283p.

SOUZA, A. M. de.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte I. **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 223–229, 2012.

SOUZA, M. T.; SOUZA, M. T.; PANOBIANCO, M. Morphological characterization of fruit, seed and seedling, and seed germination test of *Campomanesia guazumifolia*. **Journal of Seed Science**, v. 40, n. 1, p. 000-000, 2018.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil baseado em APG III. 3 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2012.

STIRBET, A.; GOVINDJEE. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and Photosystem II: Basics and applications of the OJIP fluorescence transient. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 104, n. 1–2, p. 236–257, 2011.

- STRASSER, R. J.; SRIVASTAVA, A.; GOVINDJEE. Polyphasic chlorophyll a fluorescence transient in plants and Cyanobacteria. **Photochemistry and Photobiology**, v. 61, n. 1, p. 32-42, 1995.
- STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M. Stress in plants, from daily rhythm to global changes, detected and quantified by the JIP-test. **Chim. Nouvelle (SRC)**, v. 75, p. 3321–3326, 2001.
- STRASSER, R.J.; SRIVASTAVA, A.; TSIMILLI-MICHAEL, M. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: YUNUS, M.; PATHRE, U.; MOHANTY, P. (Eds.), **Probing Photosynthesis: Mechanism, Regulation and Adaptation**, Taylor and Francis, London, UK, 2000, pp. 443–480.
- STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; SRIVASTAVA, A. **Chlorophyll Fluorescence: A Signature of Photosynthesis**. 5th ed., Springer: Netherlands, 2004.
- STRASSER, R. J.; TSIMILLI-MICHAEL, M.; SRIVASTAVA, A. **Chlorophyll Fluorescence: A Signature of Photosynthesis**. 5th ed., Springer: Netherlands, 2004.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.
- TAVARES, K. M. et al. Mid-infrared spectroscopy and chemometrics were used to identify adulteration in roasted and ground coffee by addition of coffee husks. **Quimica Nova**, v. 35, p.1164-1168, 2012.
- TESTER, M.; BACIC, A. Abiotic stress tolerance in grasses. From model plants to crop plants. **Plant Physiology**, v.137, p.791-793, 2005.
- THORNTON, J. I. **Journal Forensic Science**, v.19, n. 4, p. 873-883, 1975.
- TMBG. **Trópicos do Missouri Botanical Garden**. Trópicos. Disponível em: <<http://www.tropicos.org/>>. Acesso em: 13 nov. 2018.
- TOLEDO, A. G. et al. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of leaves of *Eugenia involucrata* DC. **Bioscience Journal**, v. 36, n. 2, p. 568-577, 2020.
- TORRES NETTO, A. et al. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. **Scientia Horticulturae**, v. 104, p. 199-209, 2005.
- TÓTH, S. Z.; SCHANSKER, G.; STRASSER, R. J. A non-invasive assay of the plastoquinone pool redox state based on the OJIP-transient. **Photosynthesis Research**, v. 93, p. 193–203, 2007.
- TOZETTO, A.; DEMIATE, I. M.; NAGATA, N. Análise exploratória de adoçantes de mesa via espectroscopia no infravermelho (FTIR) e análise por componentes

principais (ACP). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 723–728, 2007.

VALDERRAMA, L. et al. Proposta experimental didática para o ensino de análise de componentes principais. **Química Nova**, v. 39, n. 2, p. 245–249, 2016.

VALDERRAMA, P. **Calibração multivariada de primeira e segunda ordem e figuras de mérito na quantificação de enantiômeros por espectroscopia**. Tese (Doutorado) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2009.

VALDERRAMA, P.; BRAGA, J. W. B.; POPPI, R. J. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1278–1287, 2009.

VAPNIK, V.N., 1995. **The Nature of Statistical Learning Theory**. Springer Verlag, New York.

VIEIRA, D. A. DE P. et al. Fluorescência e teores de clorofilas em abacaxizeiro Cv. Pérola submetido a diferentes concentrações de sulfato de amônio. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 2, p. 360-368, 2010.

VIEIRA, R. G. et al. Chemical pattern of brazilian apples. A chemometric approach based on the Fuji and Gala varieties Padrão químico da maçã brasileira. Uma abordagem quimiométrica baseado nas variedades Fuji e Gala. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 418–426, 2011.

VOLPATO, C.; LONGHI, A.; SPERB, M. Frutas nativas: alimentos locais, sabores e ingredientes especiais. **Cetap**, p. 21, 2015.

WELLBURN, A. R.; LICHTENTHALER, H. K. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transactions**, v. 11, p. 591-592, 1983.

WILLADINO et al. Estresse salino em duas variedades de cana-de-açúcar enzimas do sistema antioxidativo e fluorescência da clorofila. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 417-422, 2011.

WILSON, P. G. et al. Myrtaceae revisited: a reassessment of infrafamilial groups. **American Journal of Botany**, v. 88, p. 2023-2025, 2001.

WILSON, P. G. et al. Relationships within Myrtaceae *sensu lato* based on a matK phylogeny. **Plant Systematics and Evolution**, v. 251, p. 3-19, 2005.

WOLD, S.; SJOSTROM, M.; ERIKSSON, L. PLS-regression: a basic tool of chemometrics. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 58, p. 109–130, 2001.



WORLEY, B.; HALOUSKA, S.; POWERS, R. Utilities for quantifying separation in PCA/PLS-DA scores plots. **Analytical Biochemistry**, v. 433, n. 2, 102-104, 2013.

XU, L. et al. Fusion of elemental profiles and chemometrics: Discrimination of organic and conventional green teas. **Microchemical Journal**, v.149, 104006, p. 1-6, 2019.

XU, L. et al. Rapid discrimination of pork in Halal and non-Halal Chinese ham sausages by Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy and chemometrics. **Meat science**, v. 92, n. 4, p. 506- 510, 2012.

YUAN, Y. et al. Rapid detection of the authenticity and adulteration of sesame oil using excitationemission matrix fluorescence and chemometric methods. **Food Control**, v. 112, 107145, 2020.

## APÊNDICES

**LISTA DE APÊNDICES**

APÊNDICE A – Testes de efeitos do modelo.....	114
APÊNDICE B – Comparações por Método Pairwise para clorofila <i>a</i> . ....	115
APÊNDICE C – Comparações por Método Pairwise para clorofila <i>b</i> . ....	116
APÊNDICE D – Comparações por Método Pairwise para clorofila total. ....	117
APÊNDICE E – Comparações por Método Pairwise para carotenoides. ....	118

## APÊNDICE A – Testes de efeitos do modelo.

<b>Fonte de variação</b>	<b>Qui-quadrado de Wald</b>	<b>gl</b>	<b>p-valor</b>	<b>Variável Dependente</b>
Intercepto	6964,291	1	0,000	<b>clorofila a</b>
SP	108,365	4	0,000	
Intercepto	5875,606	1	0,000	<b>clorofila b</b>
SP	266,542	4	0,000	
Intercepto	7780,865	1	0,000	<b>clorofila total</b>
SP	152,706	4	0,000	
Intercepto	3902,472	1	0,000	<b>carotenoides</b>
SP	70,976	4	0,000	

Fonte: A autora (2020)

## APÊNDICE B – Comparações por Método Pairwise para clorofila a.

(I) SP	(J) SP	Diferença média (I-J)	Erro Padrão	gl	p-valor	95% Intervalo de Confiança de Wald para Diferença:	
						Inferior	Superior
Cg	Cx	-0,238960 <sup>a</sup>	0,0433003	1	0,000	-0,360505	-0,117415
	Eu	0,151967 <sup>a</sup>	0,0433003	1	0,004	0,030421	0,273512
	Pc	-0,040427	0,0433003	1	1,000	-0,161972	0,081119
	Ei	0,140687 <sup>a</sup>	0,0433003	1	0,012	0,019141	0,262232
Cx	Cg	0,238960 <sup>a</sup>	0,0433003	1	0,000	0,117415	0,360505
	Eu	0,390927 <sup>a</sup>	0,0433003	1	0,000	0,269381	0,512472
	Pc	0,198533 <sup>a</sup>	0,0433003	1	0,000	0,076988	0,320079
	Ei	0,379647 <sup>a</sup>	0,0433003	1	0,000	0,258101	0,501192
Eu	Cg	-0,151967 <sup>a</sup>	0,0433003	1	0,004	-0,273512	-0,030421
	Cx	-0,390927 <sup>a</sup>	0,0433003	1	0,000	-0,512472	-0,269381
	Pc	-0,192393 <sup>a</sup>	0,0433003	1	0,000	-0,313939	-0,070848
	Ei	-0,011280	0,0433003	1	1,000	-0,132825	0,110265
Pc	Cg	0,040427	0,0433003	1	1,000	-0,081119	0,161972
	Cx	-0,198533 <sup>a</sup>	0,0433003	1	0,000	-0,320079	-0,076988
	Eu	0,192393 <sup>a</sup>	0,0433003	1	0,000	0,070848	0,313939
	Ei	0,181113 <sup>a</sup>	0,0433003	1	0,000	0,059568	0,302659
Ei	Cg	-0,140687 <sup>a</sup>	0,0433003	1	0,012	-0,262232	-0,019141
	Cx	-0,379647 <sup>a</sup>	0,0433003	1	0,000	-0,501192	-0,258101
	Eu	0,011280	0,0433003	1	1,000	-0,110265	0,132825
	Pc	-0,181113 <sup>a</sup>	0,0433003	1	0,000	-0,302659	-0,059568

a. A diferença média é significativa no nível 0,05.  
Fonte: A autora (2020)

APÊNDICE C – Comparações por Método Pairwise para clorofila *b*.

(I) SP	(J) SP	Diferença média (I-J)	Erro Padrão	gl	p-valor	95% Intervalo de Confiança de Wald para Diferença:	
						Inferior	Superior
Cg	Cx	-0,002733	0,0245681	1	1,000	-0,071697	0,066230
	Eu	0,076540 <sup>a</sup>	0,0245681	1	0,018	0,007576	0,145504
	Pc	0,004020	0,0245681	1	1,000	-0,064944	0,072984
	Ei	0,327827 <sup>a</sup>	0,0245681	1	0,000	0,258863	0,396790
Cx	Cg	0,002733	0,0245681	1	1,000	-0,066230	0,071697
	Eu	0,079273 <sup>a</sup>	0,0245681	1	0,013	0,010310	0,148237
	Pc	0,006753	0,0245681	1	1,000	-0,062210	0,075717
	Ei	0,330560 <sup>a</sup>	0,0245681	1	0,000	0,261596	0,399524
Eu	Cg	-0,076540 <sup>a</sup>	0,0245681	1	0,018	-0,145504	-0,007576
	Cx	-0,079273 <sup>a</sup>	0,0245681	1	0,013	-0,148237	-0,010310
	Pc	-0,072520 <sup>a</sup>	0,0245681	1	0,032	-0,141484	-0,003556
	Ei	0,251287 <sup>a</sup>	0,0245681	1	0,000	0,182323	0,320250
Pc	Cg	-0,004020	0,0245681	1	1,000	-0,072984	0,064944
	Cx	-0,006753	0,0245681	1	1,000	-0,075717	0,062210
	Eu	0,072520 <sup>a</sup>	0,0245681	1	0,032	0,003556	0,141484
	Ei	0,323807 <sup>a</sup>	0,0245681	1	0,000	0,254843	0,392770
Ei	Cg	-0,327827 <sup>a</sup>	0,0245681	1	0,000	-0,396790	-0,258863
	Cx	-0,330560 <sup>a</sup>	0,0245681	1	0,000	-0,399524	-0,261596
	Eu	-0,251287 <sup>a</sup>	0,0245681	1	0,000	-0,320250	-0,182323
	Pc	-0,323807 <sup>a</sup>	0,0245681	1	0,000	-0,392770	-0,254843

a. A diferença média é significativa no nível 0,05.  
Fonte: A autora (2020)

## APÊNDICE D – Comparações por Método Pairwise para clorofila total.

(I) SP	(J) SP	Diferença média (I-J)	Erro Padrão	gl	p-valor	95% Intervalo de Confiança de Wald para Diferença:	
						Inferior	Superior
Cg	Cx	-0,247380 <sup>a</sup>	0,0638115	1	0,001	-0,426501	-0,068259
	Eu	0,233973 <sup>a</sup>	0,0638115	1	0,002	0,054852	0,413094
	Pc	-0,037293	0,0638115	1	1,000	-0,216414	0,141828
	Ei	0,480040 <sup>a</sup>	0,0638115	1	0,000	0,300919	0,659161
Cx	Cg	0,247380 <sup>a</sup>	0,0638115	1	0,001	0,068259	0,426501
	Eu	0,481353 <sup>a</sup>	0,0638115	1	0,000	0,302232	0,660474
	Pc	0,210087 <sup>a</sup>	0,0638115	1	0,010	0,030966	0,389208
	Ei	0,727420 <sup>a</sup>	0,0638115	1	0,000	0,548299	0,906541
Eu	Cg	-0,233973 <sup>a</sup>	0,0638115	1	0,002	-0,413094	-0,054852
	Cx	-0,481353 <sup>a</sup>	0,0638115	1	0,000	-0,660474	-0,302232
	Pc	-0,271267 <sup>a</sup>	0,0638115	1	0,000	-0,450388	-0,092146
	Ei	0,246067 <sup>a</sup>	0,0638115	1	0,001	0,066946	0,425188
Pc	Cg	0,037293	0,0638115	1	1,000	-0,141828	0,216414
	Cx	-0,210087 <sup>a</sup>	0,0638115	1	0,010	-0,389208	-0,030966
	Eu	0,271267 <sup>a</sup>	0,0638115	1	0,000	0,092146	0,450388
	Ei	0,517333 <sup>a</sup>	0,0638115	1	0,000	0,338212	0,696454
Ei	Cg	-0,480040 <sup>a</sup>	0,0638115	1	0,000	-0,659161	-0,300919
	Cx	-0,727420 <sup>a</sup>	0,0638115	1	0,000	-0,906541	-0,548299
	Eu	-0,246067 <sup>a</sup>	0,0638115	1	0,001	-0,425188	-0,066946
	Pc	-0,517333 <sup>a</sup>	0,0638115	1	0,000	-0,696454	-0,338212

a. A diferença média é significativa no nível 0,05.  
Fonte: A autora (2020)

## APÊNDICE E – Comparações por Método Pairwise para carotenoides.

(I) SP	(J) SP	Diferença média (I-J)	Erro Padrão	gl	p-valor	95% Intervalo de Confiança de Wald para Diferença:	
						Inferior	Superior
Cg	Cx	-0,063467 <sup>a</sup>	0,0095344	1	0,000	-0,090230	-0,036703
	Eu	-0,070687 <sup>a</sup>	0,0095344	1	0,000	-0,097450	-0,043923
	Pc	-0,029193 <sup>a</sup>	0,0095344	1	0,022	-0,055957	-0,002430
	Ei	-0,045793 <sup>a</sup>	0,0095344	1	0,000	-0,072557	-0,019030
Cx	Cg	0,063467 <sup>a</sup>	0,0095344	1	0,000	0,036703	0,090230
	Eu	-0,007220	0,0095344	1	1,000	-0,033983	0,019543
	Pc	0,034273 <sup>a</sup>	0,0095344	1	0,003	0,007510	0,061037
	Ei	0,017673	0,0095344	1	0,638	-0,009090	0,044437
Eu	Cg	0,070687 <sup>a</sup>	0,0095344	1	0,000	0,043923	0,097450
	Cx	0,007220	0,0095344	1	1,000	-0,019543	0,033983
	Pc	0,041493 <sup>a</sup>	0,0095344	1	0,000	0,014730	0,068257
	Ei	0,024893	0,0095344	1	0,090	-0,001870	0,051657
Pc	Cg	0,029193 <sup>a</sup>	0,0095344	1	0,022	0,002430	0,055957
	Cx	-0,034273 <sup>a</sup>	0,0095344	1	0,003	-0,061037	-0,007510
	Eu	-0,041493 <sup>a</sup>	0,0095344	1	0,000	-0,068257	-0,014730
	Ei	-0,016600	0,0095344	1	0,817	-0,043363	0,010163
Ei	Cg	0,045793 <sup>a</sup>	0,0095344	1	0,000	0,019030	0,072557
	Cx	-0,017673	0,0095344	1	0,638	-0,044437	0,009090
	Eu	-0,024893	0,0095344	1	0,090	-0,051657	0,001870
	Pc	0,016600	0,0095344	1	0,817	-0,010163	0,043363

a. A diferença média é significativa no nível 0,05.  
Fonte: A autora (2020)