

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

Modelos de dose-resposta com censura intervalar aplicados a  
dados de germinação de sementes

Iábita Fabiana Sousa Azevedo

Tese apresentada para obtenção do título de  
Doutora em Ciências. Área de concentração:  
Estatística e Experimentação Agronômica

Piracicaba  
2016

Iábita Fabiana Sousa Azevedo  
Licenciada em Matemática

**Modelos de dose-resposta com censura intervalar aplicados a dados de  
germinação de sementes**

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:  
Prof. Dr. **CÉSAR GONÇALVES DE LIMA**  
Coorientador:  
Prof. Dr. **JUVÊNCIO SANTOS NOBRE**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora  
em Ciências. Área de concentração: Estatística e  
Experimentação Agronômica

**Piracicaba  
2016**

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

Azevedo, Iábita Fabiana Sousa

Modelos de dose-resposta com censura intervalar aplicados a dados de germinação de sementes / Iábita Fabiana Sousa Azevedo. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2016.  
74 p. : il.

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

1. Análise de sobrevivência 2. Germinação de sementes 3. Modelos de dose-resposta  
4. Censura intervalar 5. Pacote drc I. Título

CDD 519.546  
A994m

**"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"**

## Dedicatória

*À memória dos inesquecíveis, minha bisa Chiquinha, meu padastro Antônio Alberto e do meu amado pai José Raimundo.*



## AGRADECIMENTOS

Essa tese não teria sido escrita sem a colaboração de várias pessoas que não só me ajudaram, mas também foram exemplos de como enfrentar as adversidades quando se busca um sonho. Quero expressar de coração os meus agradecimentos às seguintes pessoas e instituições:

À Deus, pelos momentos difíceis que me lembrou que deveria me esforçar e ter bom ânimo, moldando assim o meu caráter a exemplo de Cristo, e pelos momentos felizes que me deram força para prosseguir.

À minha grande família a qual eu sou muito feliz de pertencer: minha mãe, irmã, irmãos, avós, tios, tias, primos, primas, cunhados, cunhadas, meus sogros pelo cuidado, pela força, dedicação, amor e pelo apoio nos momentos difíceis que não foram poucos e pelas inquietantes decisões, por cada oração, por estarem ao meu lado a cada conquista e se alegrarem comigo a cada realização.

Ao meu marido Fabio Azevedo, que no meio dessa caminhada reapareceu em minha vida de uma maneira bela e essencial para que pudesse chegar até aqui.

Ao Professor Joel Augusto Muniz e a professora Taciana Savian pelo incentivo a começar esta nova etapa.

Ao professor César Gonçalves de Lima por ser mais que um orientador, por suas contribuições, por acreditar em mim e no meu crescimento, pelo seu apoio fundamental e por me ensinar tanto com o seu exemplo de generosidade e paciência.

Ao professor Juvêncio Santos Nobre, por suas contribuições para melhoria deste trabalho.

Ao Professores Christian Ritz e Walmes Zeviane, pela disposição a ajudar, por compartilhar seus conhecimentos de maneira tão nobre, minha admiração e meu obrigada.

A PPGA/ESALQ por ter me recebido no curso de doutorado, aos professores do departamento por compartilharem os seus conhecimentos e em especial ao professor Carlos Tadeu e a Professora Roseli Leandro por todo apoio nessa jornada.

Aos funcionários do departamento de estatística e experimentação agrônômica da Esalq, especialmente Solange Sabadin, Luciane Brajão e Mayara Se-

gatto.

À Adrielle Biase, que nesses anos se tornou uma grande amiga, que levamos essa amizade por toda a vida, sempre me incentivando a prosseguir.

Aos alunos do PPGEA, meus amigos da vida acadêmica, o meu muito obrigada, em especial Valiana, Kuang, Marisol, Nilton, Sergio, Tiago Viana, Izabela, Djair, Josiane, Altemir, Rafael Moral.

A minha casa em Piracicaba, a cada irmã que ajudou a minimizar a saudade de casa, e a cada amiga que conheci durante esses anos, dividindo alegrias, dúvidas e anseios.

Ao meu pai, que não pode ver a conclusão deste trabalho, mas que foi um grande exemplo para mim de amor, alegria, generosidade e força.

Faço questão de agradecer a todas as pessoas que torceram ou intercederam por mim, mesmo que de forma anônima. Alba, Ricardo, Samara, Lucas, Patrícia, Ana Cláudia, Silvia, Keite, amigos de Lavras. A todos esses amigos e muitos outros aqui não citados, meu muito obrigada.

Finalmente À SEDUC-PI pelo apoio financeiro e institucional e ao CNPQ pela concessão da bolsa de doutorado para a realização da pesquisa.

*"Levantarei os meus olhos para os montes, de onde vem o meu socorro. O meu socorro vem do Senhor que fez o céu e a terra."*

Salmos 121:1,2





## SUMÁRIO

RESUMO . . . . .	11
ABSTRACT . . . . .	13
LISTA DE FIGURAS . . . . .	15
LISTA DE TABELAS . . . . .	17
1 INTRODUÇÃO . . . . .	19
2 DESENVOLVIMENTO . . . . .	23
2.1 Características dos dados de germinação de sementes . . . . .	23
2.2 Medidas de germinação de sementes . . . . .	25
2.3 Análise de sobrevivência . . . . .	27
2.3.1 Representação dos dados de germinação como dados de sobrevivência . . . . .	32
2.3.2 Estimação dos parâmetros . . . . .	33
2.3.3 Modelos de dose-resposta . . . . .	35
2.4 Estimadores sanduíches . . . . .	36
2.5 Critérios para seleção do modelo de dose-resposta . . . . .	37
2.5.1 Critérios de informação . . . . .	37
2.5.2 Análise de resíduos . . . . .	38
3 MATERIAL E MÉTODOS . . . . .	39
3.1 Materiais . . . . .	39
3.2 Métodos . . . . .	40
3.3 Aspectos computacionais . . . . .	42
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO . . . . .	47
4.1 Germinação de Sementes de Brachiaria . . . . .	47
4.2 Germinação de Sementes de Citrus . . . . .	55
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS . . . . .	61
5.1 Conclusões . . . . .	61
5.2 Pesquisas futuras . . . . .	61
REFERÊNCIAS . . . . .	63
APÊNDICES . . . . .	71



## RESUMO

### Modelos de dose-resposta com censura intervalar aplicados a dados de germinação de sementes

O crescimento de investimentos em biotecnologia na agricultura tem sido um elemento primordial para a segurança alimentar global. Isso tem levado a uma reorganização da indústria mundial de sementes na busca por técnicas mais adequadas de cultivo, mecanização, uso de fertilizantes, defensivos agrícolas e a utilização de sementes. O Brasil por ser um dos ambientes mais sólidos nesse contexto tem contribuído com o crescimento e a diversificação da produção de sementes levando as lavouras brasileiras a atingirem um novo patamar de produtividade. Diferentes metodologias estatísticas têm sido utilizadas para analisar o comportamento da germinação de uma população de sementes. Entretanto, usar abordagens estatísticas que analisam os dados de germinação da melhor maneira possível permitirá uma maior confiabilidade dos resultados, bem como, ganho de informações pertinentes. Como em testes de germinação de sementes estuda-se o tempo até a ocorrência do evento, que envolve medidas repetidas feitas no mesmo lote e não se conhece o tempo exato da germinação da semente, propõe-se o uso de modelos de dose-resposta com censura intervalar, que permitem a interpretação biológica dos parâmetros usados para medir o processo germinativo e refletem o desenho experimental dos dados. Neste trabalho foram utilizadas duas metodologias estatísticas usuais na análise de dados de germinação de sementes e seus resultados foram comparados com os da abordagem de modelos dose-resposta com censura intervalar. Foram utilizados os modelos de dose-resposta Weibull 2 e log-logístico para explicar o processo germinativo de sementes de *Brachiaria* e *Citrumelo Swingle* respectivamente, com diferentes tempos de observação. Os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente aleatorizado e os procedimentos dos testes de germinação de acordo com as Regras para Análise de Sementes (RAS). As conclusões obtidas a partir da análise dos dados por meio da metodologia proposta, em geral, divergiram das conclusões obtidas por abordagens tradicionais (modelos de regressão não-linear considerando a distribuição normal e índices de germinação com o uso da análise de variância) utilizadas para analisar dados de germinação. Os modelos de dose-resposta com censura intervalar apresentaram ajustes satisfatórios e sendo portanto uma análise mais adequada que as abordagens usuais.

Palavras-chave: Análise de sobrevivência; Germinação de sementes; Modelos de dose-resposta; Censura intervalar; Pacote drc



## ABSTRACT

### **Dose-response models with interval-censored applied to seed germination data**

The growth of investment in biotechnology in agriculture has been a vital element for global food security. This has led to a reorganization of the world seed industry in the seeking of the most appropriate techniques of cultivation, mechanization, use of fertilizers, pesticides and seeds. The Brazil for being one of the most solid in the world context of the seed industry has contributed to the growth and diversification of seed production, leading Brazilian crops to a new level of productivity. Different statistical methodologies have been used to analyze the germination behavior. However, using statistical approaches that analyze germination data as efficiently as possible will allow a greater reliability of the results, as well as relevant information gain. As in seed germination test studies the time until the occurrence of the event, involves repeated measurements on the same experimental unit and do not know the exact time of germination, we propose the use of dose-response models with interval censored that allow biological interpretation of parameters used to measure the germination process and reflect the experimental design of the germination data. In this work we used two methodologies of usual statistical analysis and their results were compared with those of the approach that uses the dose-response models with interval censored. We used the dose response models Weibull 2 and log-logistic to explain the process of seed germination of *Brachiaria* and *Citrumelo* Swingle with different observation times. The experiments were carried out in completely randomized design and testing procedures according to the rules for seed analysis (RAS). The conclusions obtained from the analysis of the data by the proposed methodology in general diverged from the conclusions obtained by traditional approaches (regression models nonlinear considering normal distribution and germination indices using analysis of variance) used to analyze data germination. The dose-response models with interval-censored showed satisfactory adjustments and therefore a more accurate analysis than the usual approaches.

Keywords: Survival analysis; Seed germination; Dose-response models; Interval-censored; Package drc



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Curvas de germinação ao longo do tempo (a), distribuições do tempo de germinação (b) . . . . .	27
Figura 2 - Estimadores de curvas de K-M da função de sobrevivência para dados fictícios de germinação, juntamente com intervalos de confiança (95%) (linhas tracejadas) . . . . .	31
Figura 3 - Estimativa de Kaplan-Meier para os lotes de sementes de <i>Brachiaria</i>	47
Figura 4 - Curvas médias de germinação de sementes de <i>Brachiaria</i> , por tratamento, ajustadas pelo modelo W2 usando usando as abordagens 1 e 2 . . . . .	51
Figura 5 - Gráficos normais com envelope simulado para os resíduos dos ajustes do modelo W2 usando as abordagens 1 e 2 . . . . .	51
Figura 7 - Curvas médias de germinação de sementes de <i>citrumelo Swingle</i> , por tratamento, ajustadas pelo modelo LL usando as duas abordagens . . . . .	57
Figura 8 - Gráficos normais com envelope simulado para os resíduos dos ajustes do modelo LL usando as abordagem 1 e 2 . . . . .	58





## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Lista de modelos de dose-resposta e funções correspondentes . . . . .	35
Tabela 2 - Formato de um arquivo de dados para análise de sobrevivência, com dois lotes, duas repetições e quatro sementes por repetição, observadas durante três dias . . . . .	44
Tabela 3 - Dados de sementes de <i>Brachiaria</i> , por tratamento, com os intervalos de observações e o número de sementes germinadas em cada dia . . .	46
Tabela 4 - Estimativas de Kaplan-Meier para o ensaio de germinação das sementes de <i>Brachiaria</i> , por tratamento . . . . .	48
Tabela 5 - Modelos propostos para descrição do comportamento germinativo de sementes de <i>Brachiaria</i> , AIC e BIC . . . . .	49
Tabela 6 - Estimativas dos parâmetros (erros padrão entre parênteses e intervalos com 95% de confiança entre colchetes) do modelo W2 por abordagens	49
Tabela 7 - Estimativas do parâmetro $t_{50}$ para cada tratamento (dose), com respectivos erros padrão e intervalos de confiança . . . . .	52
Tabela 8 - Estimativas das diferenças entre as curvas ajustadas para cada dose com relação ao parâmetro de porcentagem máxima ( $d$ ) . . . . .	53
Tabela 9 - Estimativas das diferenças entre as curvas ajustadas para cada dose com relação ao parâmetro de inclinação da curva ( $b$ ) . . . . .	54
Tabela 10 - Análises de variância para as estimativas dos índices de germinação .	54
Tabela 11 - Estimativas de Kaplan-Meier para o ensaio de germinação das sementes de <i>citrumelo Swingle</i> por tratamento . . . . .	56
Tabela 12 - Modelos propostos para descrição da germinação das sementes de <i>Citrumelo swing</i> , AIC e BIC . . . . .	56
Tabela 13 - Estimativas dos parâmetros (erros padrão entre parênteses e intervalos com 95% de confiança entre colchetes) do modelo LL obtidas por meio do ajuste das abordagens 1 e 2 . . . . .	57
Tabela 14 - Estimativas das diferenças entre as curvas de germinação para cada lote por meio do ajuste das abordagens 1 e 2, de acordo com os parâmetros $d$ , $t_{50}$ e $b$ . . . . .	59
Tabela 15 - Análises de variância para as estimativas dos índices de germinação e médias das estimativas dos índices - Teste de Tukey . . . . .	60



## 1 INTRODUÇÃO

Estima-se que até 2030 a população mundial chegue a 8,3 bilhões de pessoas, o que levará a um crescimento da demanda mundial por alimentos em torno de 35%. Se associado a esse crescimento populacional as mudanças climáticas, no futuro a escassez de alimentos poderá ser impulsionada, permitindo que estados na África, Oriente Médio, China e Índia sejam mais vulneráveis a esse tipo de problema (ROCKFELLER FOUNDATION; GLOBAL BUSINESS NETWORK-GBN, 2010; UNITED STATES, 2012a; INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA E APLICADA -IPEA, 2015).

Em uma perspectiva tecnológica, o crescimento de investimentos em biotecnologia na agricultura por meio de cultivares geneticamente modificadas, tem sido considerado um fator-chave para garantir a segurança alimentar global. Isso também tem levado a uma reestruturação na indústria de sementes, uma vez que investimentos tecnológicos voltados para a sustentabilidade da produção agrícola permite alinhar pesquisas em engenharia genética, sementes, o uso adequado de novas tecnologias agrícolas e fertilizantes (UNITED STATES, 2012a; IPEA, 2015).

O Brasil tem sido considerado um dos ambientes mais sólidos para negócios no contexto global da indústria de sementes, seja por seu sistema regulatório ou por características continentais que favorecem sementes de alta qualidade, de diferentes espécies, em diferentes condições edafoclimáticas<sup>1</sup>. A intensificação do uso de sementes melhoradas tem levado ao crescimento e à diversificação da produção de sementes, o que contribuiu para atingir um novo patamar de produtividade pelas lavouras brasileiras (SANTOS et al., 2014).

Estudos envolvendo experimentos de germinação de sementes estão presentes em muitas linhas de pesquisa e são conduzidos em uma ampla variedade de situações biológicas, tais como: fisiologia de sementes, tipos e controles de dormência, genética e diferenças induzidas por fatores ambientais entre populações co-específicas, o armazenamento das sementes ou métodos de preparação que maximizam o percentual de germinação e pós-semeadura de fatores ambientais, físicos e químicos (BASKIN; BASKIN, 2001).

---

<sup>1</sup>Condições edafoclimáticas: são fatores físicos-químicos do solo e mais fatores de clima, dentre estes precipitação, temperatura, radiação e outros.

Os experimentos de germinação de sementes podem ser divididos em dois grupos: os ensaios onde novos lotes de sementes são utilizados para cada tempo de inspeção, geralmente utilizados em estudos sobre o impacto do armazenamento na viabilidade das sementes e os ensaios mais populares, onde as sementes de um mesmo lote são observadas sucessivamente ao longo de um intervalo de tempo.

Hay, Mead e Bloomberg (2014) alertam que estes dois cenários não podem ser considerados como geradores de dados semelhantes, e nem que os dados sejam tratados como se fossem os mesmos, pois os dados gerados a partir de um experimento de armazenagem são provenientes de amostras independentes em momentos diferentes e podem ser analisados por meio de modelos lineares generalizados para dados binomiais, como regressão logística, por exemplo. Entretanto, as contagens cumulativas registradas durante o progresso da germinação não são independentes, indicando que uma abordagem alternativa de análise deva ser utilizada para descrever a variável resposta binária, como por exemplo, análise de sobrevivência.

Diferentes metodologias estatísticas têm sido utilizadas para analisar o comportamento de uma população de sementes no que diz respeito à germinação: os índices de germinação, propostos e discutidos por diversos pesquisadores ao longo do tempo (ANJUM; BAJWA, 2005; RANAL et al., 2009; THOMSON; EL-KASSABY, 1993), os métodos de regressão clássica (ANOVA, regressão linear ou não-linear) (SANTOS et al., 2013; SOUSA et al., 2014), testes não-paramétricos, modelos lineares generalizados (O'NEILL et al., 2004, SAATKAMP et al., 2011) e técnicas de análise de sobrevivência (MANSO et al., 2013).

Os índices de germinação (ATAÍDE et al., 2015; BINSFELD et al., 2014; MOTA et al., 2015; SILVA JUNIOR et al., 2015) ainda são amplamente utilizados. Entretanto, existem advertências quanto a problemas estatísticos potencialmente graves em seu uso, indicando que eles não fornecem uma base adequada para caracterizar o padrão temporal de germinação, nem são adequados para comparar grupos de sementes ou avaliar os efeitos de tratamentos (BROWN; MAYER, 1988a; McNAIR et al., 2012; SCOTT; JONES; WILLIAMS, 1984).

Aplicar abordagens tradicionais (métodos clássicos de regressão, por exemplo) em ensaios de germinação pode não ser adequado se levar em consideração as características inerentes do experimento, como a correlação serial entre o número

de sementes agrupadas em unidades experimentais observadas longitudinalmente e na mesma unidade de aleatorização; a assincronia das germinações, pois a grande parte da germinação se processa em tempo intermediário e uma pequena parte em tempo precoce ou tardiamente, além da assimetria positiva das respostas, uma vez que a taxa de aumento da germinação cumulativa diminui ao longo do tempo (HAY; MEAD; BLOOMBERG, 2014).

Usar abordagens estatísticas que analisam os dados de germinação da melhor forma possível permitirá uma maior confiabilidade dos resultados, bem como um maior ganho de informações ou de interpretações pertinentes.

O objetivo deste estudo é apresentar uma metodologia de análise na descrição do processo germinativo que utiliza modelos de dose-resposta com censura intervalar e comparar seus resultados com os obtidos com duas abordagens usuais em testes de germinação: modelos de regressão não-linear e índices de germinação.

Um objetivo secundário é contribuir na otimização das análises estatísticas envolvendo o tempo até a ocorrência do evento de interesse (germinação), definindo um roteiro de análise: ajuste, inferências e análise dos resíduos. A metodologia é ilustrada usando dois bancos de dados de germinação com diferentes tempos de observação.

Em termos gerais, o trabalho está estruturado em cinco partes. A seção 2 apresenta uma revisão sobre ensaios de germinação, conceitos de análise de sobrevivência, os modelos utilizados, método de estimação e análise estatística. A seção 3 descreve os conjuntos de dados utilizados e as metodologias de análise. A seção 4 apresenta e discute os resultados das análises realizadas e na seção 5 são feitas as considerações finais sobre o estudo realizado e são apresentadas algumas sugestões de trabalhos futuros.



## 2 DESENVOLVIMENTO

Morfologicamente a semente é semelhante ao grão comercial, porém ela é produzida com a finalidade de semeadura sob cuidados especiais. Dentre os atributos que influenciam na qualidade de um lote de sementes, estão além das qualidades genéticas como resistência a doenças, as qualidades físicas (ausência de material inerte e sementes de outras culturas ou cultivares), fisiológicas (germinação e vigor) e sanitárias (ausência de fungos, bactérias, vírus)(LOPES; NASCIMENTO, 2009).

Essas características afetam diretamente o sistema produtivo das lavouras na medida que podem reduzir custos, determinar a população adequada de plantas e diminuir o uso de herbicidas e fertilizantes.

Estratégias e técnicas de avaliação da germinação variam, dependendo do que se busca: avaliar a viabilidade e o vigor de um lote de sementes ou descrever uma população a partir da perspectiva ecológica, fisiológica ou genética. Nesse contexto, tratamentos padrões e métodos de germinação têm sido desenvolvidos para diferentes espécies agrícolas, como os bioensaios em germinação, que do ponto de vista estatístico, são experimentos planejados para estimar o potencial de um ou mais estímulos relativos a um padrão, usando a informação proporcionada pela resposta mensurada sobre o material biológico (FINNEY, 1979; SOUZA et al., 2000).

Em bioensaios de germinação, a verificação da ocorrência de efeitos inibitórios ou estimulantes na germinação e no crescimento das sementes, os parâmetros de germinabilidade, tempo médio de germinação e crescimento inicial são estudados (CONDESSA et al., 2013; SILVEIRA et al., 2014; FEITOSA et al., 2015).

### 2.1 Características dos dados de germinação de sementes

Em estudos de germinação de sementes a interpretação dos dados pode variar inicialmente de acordo com o critério adotado, ou seja, qual informação está se buscando e em qual contexto a informação está inserida.

Bewley e Black (1994) definem a germinação de maneira geral, como a reunião de eventos que se iniciam com a absorção de água pela semente e terminam com a extensão do eixo embrionário, contendo os seguintes elementos básicos em sua estrutura: tegumento, embrião e tecido reserva.



No entanto, Ferreira e Borghetti (2004) subdividem a definição da germinação em um critério para "tecnologista de sementes e agrônomos" em que a germinação é a emergência da planta no solo ou a formação de uma plântula vigorosa no substrato utilizado e em um "critério botânico ou morfológico" em que a germinação é considerada como a protusão de uma das partes do embrião de dentro dos envoltórios (isto é, quando a radícula tem crescido pelo menos  $1mm$  fora do revestimento da semente).

Para que a germinação de uma semente ocorra determinadas condições devem acontecer: ela precisa ser viável, suas condições internas e as condições ambientais devem ser favoráveis (água, temperatura, oxigênio e luz), e as condições de sanidade devem ser satisfatórias (ausência de agentes patogênicos) (POPININGS, 1985).

A germinação está associada à dormência das sementes, no sentido que uma semente é dormente quando não tem a capacidade para germinar em um período de tempo específico sob qualquer combinação de fatores ambientais e físicos normais que de outra forma seriam favoráveis para a sua germinação (BASKIN; BASKIN, 2004). Dentro desse contexto, define-se a dormência morfológica como um atraso da germinação devido ao tempo necessário de crescimento do embrião e emergência da radícula, após a semente ter atingido a maturidade.

Usualmente, o interesse entre os pesquisadores de sementes não está na germinação de uma semente em si, mas em seguir o comportamento germinativo de uma determinada quantidade de sementes, denominada amostra.

As designações conferidas à amostra podem variar entre tecnologistas de sementes, fisiólogos e ecólogos (SANTANA; RANAL, 2004). Para os tecnologistas, uma população é uma quantidade definida de sementes oriundas da mesma espécie, variedade ou cultivar, submetidas às mesmas práticas culturais e fatores edafoclimáticos. As amostras uniformes oriundas dessas populações dentro das tolerâncias permitidas pelas Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009) são denominadas lotes.

Em estudos de ecofisiologia da germinação, a população tem conceito semelhante ao dos tecnologistas, porém a população é constituída por todas as sementes dos indivíduos que crescem em um determinado ambiente. A amostra advinda dessa população, selecionada ou não por algum critério, é formada por porções de sementes que podem ser misturadas ou mantidas em separado.

A amostragem de sementes busca obter uma amostra de tamanho adequado para os testes, que esteja em conformidade com os lotes de sementes e em proporções semelhantes. A quantidade de sementes analisadas é, em geral, muito pequena em relação ao tamanho do lote que representa, varia de acordo com a espécie e são especificadas pelas RAS (BRASIL, 2009, p. 45).

A germinação de sementes de um lote é usualmente descrita listando o número ou a porcentagem de sementes que atingem um certo estágio de desenvolvimento por um determinado tempo de embebição. Uma descrição completa da germinação deve incluir o percentual máximo de germinação, a velocidade média de germinação e a variação longitudinal dessa velocidade média (JANSSEN, 1973).

## 2.2 Medidas de germinação de sementes

Diferentes formas de medir a germinação foram desenvolvidas ao longo do tempo, em que os resultados do processo germinativo têm sido expressos por meio de índices ou pelas curvas ajustadas de modelos variados. Ranal e Santana (2006) apresentam pelo menos trinta dessas medidas.

Campbell e Sorensen (1979), com objetivo de definir uma nova base para germinação, alertam que medidas para caracterizar lotes de sementes são complicadas, pois a frequência dos dias para germinação não tem uma distribuição normal. El-Kassaby et al. (2008) ao apresentarem um estudo sobre modelagem matemática da germinação de sementes, identificaram que a dependência de um único índice de germinação como germinabilidade, valor de pico, índice de velocidade de germinação ou mesmo qualquer dos seus componentes individuais, é inadequada. A razão para a inadequação destas medidas é a sua falta de associação com o tempo ao longo do curso de germinação, mesmo que o tempo seja usado para calcular cada um dos componentes do índice. O seu uso exclusivo não permite tirar conclusões informativas sobre o comportamento germinativo de um lote de sementes.

As curvas de germinação são baseadas em contagens ou percentuais acumulados obtidos em intervalos de tempo até que a germinação esteja concluída em um período pré-determinado. Se existirem observações suficientes, essas curvas informarão sobre o caminho no qual a germinação ocorre em uma dada população de sementes, sob um certo conjunto de situações como: tempo inicial de germinação, proporção de

sementes germinadas, alterações longitudinais na taxa de germinação e o estado das sementes não germinadas (FAMER, 1997).

A Figura 1 mostra alguns exemplos de curvas de germinação, sobre os quais devem ser feitas algumas observações gerais. As curvas de germinação geralmente são sigmoidais, que é resultado da assincronia da germinação das sementes, em que uma pequena parte de germinações acontece precoce ou tardiamente e uma grande quantidade das germinações em tempo intermediário. Geralmente, as curvas são assimétricas positivas porque uma maior porcentagem de sementes germina na primeira metade do período de germinação ao invés do segundo.

Considerações a respeito das curvas de germinação são apresentadas por Bewley e Black (1994), onde identificam importantes diferenças entre as populações de sementes. A forma das curvas depende da uniformidade da população, isto é, do grau de simultaneidade ou sincronia da germinação. Isto pode ser notoriamente observado entre as populações de sementes representadas pelas curvas (d) e (f) da Figura 1(a), em que a curva (f) necessita de uniformidade de sementes individuais para completar a sua germinação em diferentes períodos de tempo e a curva (d) já apresenta o comportamento altamente uniforme das sementes. A inclinação mais acentuada da curva (d) Figura 1(a) em relação as demais é decorrente do fato de que a maioria das sementes completou o processo de germinação em um período de tempo relativamente menor que os demais lotes (Figura 1(b)).

A definição de taxa de germinação entre os pesquisadores de sementes é utilizada em dois sentidos: como uma medida de uniformidade, isto é, quanto mais acentuada for a inclinação da curva, mais uniforme será o tempo necessário para a germinação, ou no sentido de descrever a velocidade de germinação, definida como o inverso do tempo necessário para germinação ocorrer (ROBERTS, 1972). Essas definições podem ser claramente observadas pelas curvas (c) e (d) apresentadas nas Figuras 1(a) e 1(b).

As curvas (b) e (c) na Figura 1(a) apresentam a mesma germinabilidade, entretanto o tempo e a distribuição da germinação são diferentes. Por exemplo: na Figura 1(b) nota-se que a curva (c) apresenta maior velocidade de germinação e maior taxa máxima de germinação no tempo que a curva (b), e esta característica pode ser relacionada como uma ferramenta para avaliar o vigor (El-KASSABY et al., 2008).

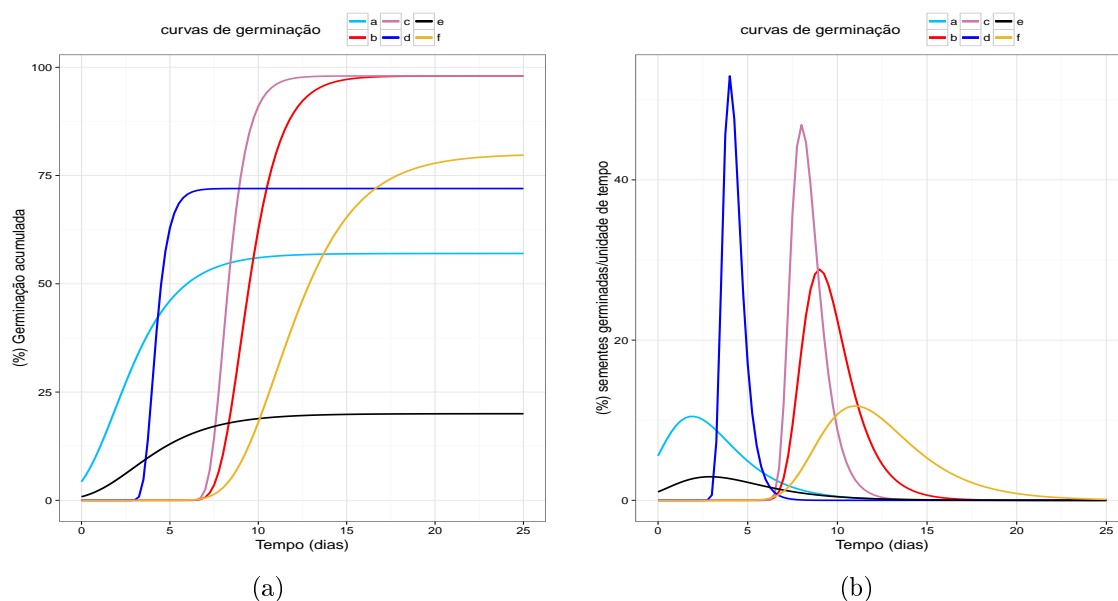


Figura 1 – Curvas de germinação ao longo do tempo (a), distribuições do tempo de germinação (b)

As curvas (a) e (e) na Figura 1(a) exibem populações em que a proporção de sementes capazes de completar a germinação é mais baixa. A assimetria positiva também é uma importante observação nas curvas de distribuição mostradas na Figura 1(b).

### 2.3 Análise de sobrevivência

A germinação das sementes é um dos processos da agricultura que está intrinsecamente associado com o tempo. Fato esse que recentemente tem levado diversos pesquisadores a enfatizar a necessidade da utilização de metodologias estatísticas mais adequadas para melhor descrever este processo.

As técnicas de análise estatística preocupadas em estudar o tempo até a ocorrência de um determinado evento, conhecidas como análise de sobrevivência, oferecem o conjunto mais adequado e poderoso de análise de dados de germinação (McNAIR; SUNKARA; FORBISH, 2012), embora tenham sido pouco usadas para esta finalidade (AMAT; VARGAS; GOMÉZ, 2014; MANSO et al., 2013; ONOFRI et al., 2010; SCOTT; JONES; WILLIAMS, 1984).

Uma característica importante em dados de germinação é que qualquer lote irá conter sementes com potencial para germinar como também uma proporção de sementes que não irá germinar, seja porque não são viáveis ou porque apresentam

dormência morfológica maior que a duração do experimento, levando a observações incompletas. Assim, para as sementes que não germinaram até o final do experimento observa-se o tempo censurado, que corresponde ao período de tempo observado desde o início do experimento até o seu término. Esses resultados são referidos como observações censuradas à direita. Censura à esquerda e censura intervalar também estão presentes em ensaios de germinação, respectivamente quando a germinação já ocorreu antes da primeira avaliação ou quando o tempo exato de germinação ocorre em algum instante entre duas datas sucessivas de monitoramento (ONOFRI et al., 2011).

Os dados na análise de sobrevivência podem ser escritos como um par ordenado  $(t_i, \delta_i)$  em que  $t_i$  é o tempo de falha ou censura e  $\delta_i$  é o indicador de censura, tal que,

$$\delta_i = \begin{cases} 1, & \text{se } t_i \text{ é um tempo de falha,} \\ 0, & \text{se } t_i \text{ é um tempo de censura.} \end{cases}$$

Qualquer método de análise associado à análise de sobrevivência implica no estudo de duas funções: a função de sobrevivência  $S(t)$ , definida como a probabilidade do tempo de sobrevivência  $T$  de um indivíduo ser superior a um tempo  $t$ , e a função de risco  $\lambda(t)$ , definida como o risco instantâneo de ocorrência de um evento, isto é, sementes em risco de germinação em um dado intervalo.

No contexto de estudos relacionados à germinação de sementes, a função de sobrevivência pode ser substituída pela probabilidade de germinação. Assim, os objetivos da análise de sobrevivência são: estimar e interpretar funções de risco e/ou sobrevivência a partir de dados de sobrevivência; comparar tais funções; avaliar a influência de variáveis explanatórias no tempo de sobrevivência. Os métodos de análise podem variar de acordo com o objetivo do estudo (COLOSIMO; GIOLO, 2006; ONOFRI et al., 2010).

Em termos probabilísticos, a função de sobrevivência pode ser expressa como:

$$S(t) = P(T \geq t) = \int_{\infty}^t f(u) du = 1 - F(t), \quad (1)$$

em que  $T$  é uma variável aleatória não negativa, representando o tempo de vida. A função de sobrevivência associada a essa variável possui as seguintes propriedades:

- $S(0) = 1$ ,

- $\lim_{t \rightarrow \infty} S(t) = 0$ ,
- $S(t)$  é monótona decrescente.

Essas propriedades são encontradas em dados de germinação, pois o tempo de germinação é sempre maior que 0, então  $S(0) = 1$ . Devido a dormência morfológica, comum em experimentos de germinação,  $S(t)$  permanecerá constante em 1 para pequenos valores de  $t$  e em seguida começará a decrescer. Quando  $t$  se torna grande,  $S(t)$  irá se aproximar de um valor limite igual a 0 (se todas as sementes germinarem nas condições experimentais) ou maior que zero (caso contrário) (McNAIR; SUNKARA; FORBISH, 2012).

A função de risco,  $\lambda(t)$ , conhecida também por taxa de falha, informa qual a probabilidade da germinação ocorrer em um intervalo de tempo  $[t_1, t_2)$ , dado que não ocorreu antes de  $t_1$ , dividida pelo comprimento do intervalo.

Generalizando  $\lambda(t)$ , situada no intervalo infinitesimal  $(t, t + \Delta_t]$  tem-se:

$$\lambda(t) = \lim_{\Delta_t \rightarrow 0} \frac{P(t \leq T \leq t + \Delta_t \mid T \geq t)}{\Delta_t} = \frac{S(t) - S(t + \Delta_t)}{\Delta_t S(t)}. \quad (2)$$

Outra função útil é a função de risco acumulada do indivíduo,  $\Lambda(t)$ , definida em (3), que apesar de não ter uma interpretação direta, pode ser necessária na avaliação de  $\lambda(t)$ , como também em estimações não paramétricas. Pode ser expressa como:

$$\Lambda(t) = \int_0^t \lambda(u) du. \quad (3)$$

Algumas relações matemáticas importantes são obtidas por meio das funções definidas anteriormente e implica que o conhecimento de uma das funções leva ao conhecimento das demais:

$$\lambda(t) = \frac{f(t)}{S(t)} = -\frac{d}{dt}(\log S(t)),$$

$$\Lambda(t) = \int_0^t \lambda(u) du = -\log S(t)$$

e

$$S(t) = \exp\{-\Lambda(t)\} = \exp\left\{-\int_0^t \lambda(u) du\right\}.$$

Neste contexto, para analisar dados de tempo de sobrevivência na presença de censura, a probabilidade de germinação pode ser estimada pelo estimador não-paramétrico de Kaplan-Meier (KAPLAN; MEIER, 1958). O estimador Kaplan-Meier (K-M) é uma das técnicas de análise não paramétrica mais usadas e consiste em dividir o tempo de seguimento em intervalos, cujos limites correspondem ao tempo de seguimento em que houve eventos (tempos exatos de falha), que é representado por:

$$\hat{S}(t) = \prod_{t_j \leq t} \left( \frac{n_j - d_j}{n_j} \right), \quad (4)$$

em que  $t_1, t_2, \dots, t_k$  são os  $k$  tempos distintos em que ocorreram os eventos,  $d_j$  é o número de sementes que germinaram em  $t_j$ , com  $j = 1, 2, \dots, k$ ,  $n_j$  é o número de sementes em risco de germinação sob o mesmo intervalo  $t_j$ .

Sua variância é calculada a partir do estimador de Greenwood (GREENWOOD, 1926), que pode ser expressada por:

$$\hat{V}(\hat{S}(t)) = (\hat{S}(t))^2 \left[ \frac{d_1}{n_1(n_1 - d_1)} + \frac{d_2}{n_2(n_2 - d_2)} + \dots + \frac{d_j}{n_j(n_j - d_j)} \right], \quad (5)$$

o estimador do erro padrão dessa estatística,  $\hat{V}(\hat{S}(t))$  é dado por:

$$\hat{e}p \left[ \hat{S}(t) \right] = \sqrt{\hat{V}(\hat{S}(t))}, \quad (6)$$

a partir de (6), um intervalo de confiança aproximado para  $S(t)$  a nível de  $100(1 - \alpha)\%$  de confiança pode ser calculado por:

$$\hat{S}(t) \pm z_{\alpha/2} \sqrt{\hat{V}(\hat{S}(t))}. \quad (7)$$

Entretanto, este intervalo pode apresentar valores negativos ou maiores que 1, o que é incoerente com a definição de sobrevivência. Portanto, sugere-se construir um novo intervalo de confiança, com base na transformação  $\hat{U}(t) = \ln(-\ln(S(t)))$  obtendo-se um intervalo a nível de  $100(1 - \alpha)\%$  de confiança, com valores positivos e menores que 1 para  $S(t)$ , que pode ser expressado por:

$$\hat{S}(t)^{\exp \left[ \pm z_{\alpha/2} \sqrt{\hat{V}(\hat{U}(t))} \right]} \quad (8)$$

em que a variância é estimada por:

$$\hat{V}(\hat{U}(t)) = \frac{\hat{V}[\hat{S}(t)]/\hat{S}(t)^2}{\ln \left[ \frac{(n_1 - d_1)}{n_1} \right] + \ln \left[ \frac{(n_2 - d_2)}{n_2} \right] + \dots + \ln \left[ \frac{(n_j - d_j)}{n_j} \right]}. \quad (9)$$

A curva K-M é uma função degrau contínua à direita, decrescente em que os degraus são intervalos de tempo entre duas falhas distintas observadas. A representação gráfica é mostrada na Figura 2.

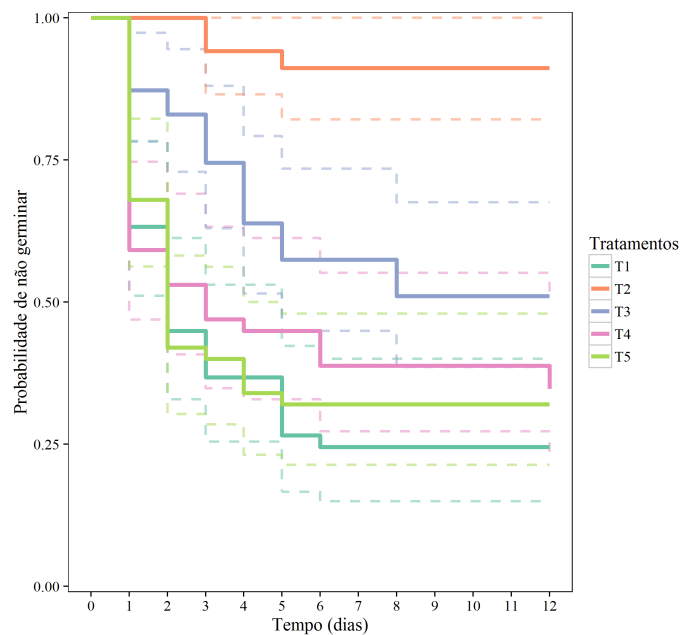


Figura 2 – Estimadores de curvas de K-M da função de sobrevivência para dados fictícios de germinação, juntamente com intervalos de confiança (95%) (linhas tracejadas)

As curvas de K-M não permitem apenas comparar visualmente os tratamentos, mas também a descrição das próprias curvas por estatísticas como o tempo médio de sobrevivência, a taxa média de risco e a mediana da sobrevivência, isto é, elas podem ser usadas para derivar o tempo mediano de germinação ( $T_{50}$ ) ou Tempo médio de germinação (TMG), com erros padrão e/ou limites de confiança (ONOFRI et al., 2010).

Šarčević e Gunjača (2000) utilizaram o estimador de K-M em um estudo para investigar o efeito de diferentes concentrações da solução de D-mannitol sobre as taxas de germinação em duas variedades de sementes de trigo. Onofri et al. (2010)



também construíram funções de germinação para diferentes tratamentos experimentais usando os estimadores de K-M. Entretanto, assumir tempos de falha (germinação) intervalares como tempos exatos de falha pode conduzir a vícios, bem como a resultados e conclusões não muito confiáveis (DOREY; LITTLE; SCHENKER, 1993). Formas alternativas do estimador de K-M foram apresentadas para estimar a função de sobrevivência  $S(t)$  em dados de sobrevivência intervalar, como considerar o ponto médio do intervalo como sendo o valor exato do tempo de falha (COLOSIMO; GIOLO, 2006) ou a utilização de um estimador limite-produto modificado, proposto por Turnbull (1976).

### 2.3.1 Representação dos dados de germinação como dados de sobrevivência

Em estudos agrônômicos ou agropecuários, é comum que as observações sejam monitoradas em período específicos, como por exemplo: visitas às unidades de campo com datas pré-determinadas. Neste caso, as ocorrências dos eventos de interesse são registradas em intervalos de tempo. Quando se investiga a cinética da germinação, o ideal é que as medidas sejam diárias, feitas sempre nos mesmos horários e com intervalos que se aproximem das 24 horas. Porém é comum modificações nas observações dentro dos intervalos de tempo dependendo da velocidade de germinação (FERREIRA; BORGHETTI, 2004). Isso implica que os tempos de germinação não são conhecidos exatamente, sabe-se apenas que a germinação de certa semente ocorreu em algum momento dentro de um intervalo de tempo, o que caracteriza dados de germinação como dados de sobrevivência intervalar.

Dados de sobrevivência intervalar generalizam qualquer situação em que combinações de tempos de falha (exatos ou intervalares) e censuras à direita e à esquerda possam ocorrer em um estudo (COLOSIMO; GIOLO, 2006). Uma outra característica relevante em dados com censura intervalar é denominada como dados grupados ou empatados, ou seja, quando todas as unidades amostrais são avaliadas nos mesmos instantes. Ensaios de germinação em que as sementes são geralmente acondicionadas dentro de unidades de aleatorização (ex: placa de petri <sup>2</sup>) e as observações são avaliadas simultaneamente ao longo do tempo, exemplifica essa situação.

A abordagem mais básica para análise de dados de sobrevivência com

---

<sup>2</sup>Recipiente cilíndrico, achatado, de vidro ou plástico utilizado nos laboratório para desenvolvimentos de culturas ou germinação de sementes.

censura intervalar é a estimativa não-paramétrica da função de sobrevivência (GOMEZ et al., 2009). Sem a necessidade de fazer uso de suposições a respeito da forma da distribuição dos tempos de sobrevivência, as curvas estimadas podem ser facilmente interpretadas, como as curvas de K-M para censura à direita. Esta é geralmente a primeira análise realizada para dados com censura intervalar e pode ser a base para uma análise mais aprofundada, paramétrica ou semiparamétrica, envolvendo por exemplo a utilização de modelos de regressão discretos, modelos de taxas de falha proporcionais, modelos com fração de cura, dentre outros ( CALSAVARA; TOMAZELLA; FOGO, 2013; KOMÁREK; LESAFFRE, 2009; PENG; TAYLOR, 2010)

### 2.3.2 Estimação dos parâmetros

Dados de germinação são dados de resposta quantal<sup>3</sup>, ou seja, a resposta, usualmente binária, de indivíduos a um tratamento ao longo do tempo. Por esta razão, a suposição usual de erros normais e independentes, comum em modelos de regressão de mínimos quadrados, é inadequada. Em vez disso, os resultados de um ensaio de germinação podem ser vistos como um processo de uma distribuição multinomial (LAWLESS, 2003; JAGER et al., 2011; RITZ; PIPPER; STREIBIG, 2013). Vale lembrar que uma ocorrência comum em ensaios de germinação é a observação intermitente das sementes, em pontos de tempos discretos.

Considera-se que cada semente  $i, i = 1, 2, \dots, n$  é observada em um conjunto de ocasiões ou tempos pré-especificados e supõem-se que esses tempos de germinação são observados em " $k + 1$ " intervalos  $I_j = [t_{j-1}, t_j), j = 1, \dots, k + 1$  em que  $0 = t_1 < \dots < t_k < t_{k+1} = \infty$ . Seja  $\pi_j = P(\text{uma semente germinar em } I_j) = P(t_{j-1} \leq T < t_j)$ , então em uma amostra aleatória de  $n$  indivíduos, o número de sementes em germinação em  $I_1, I_2, \dots, I_{k+1}$  é multinomialmente distribuído com parâmetros  $n$  e  $\pi_1, \dots, \pi_{k+1}$ , e notação  $\mathbf{y} \sim \text{Multi}(n, \pi_1, \dots, \pi_{k+1})$ .

Se a distribuição subjacente de  $T$  tem função de distribuição acumulada  $F(\mathbf{t}; \boldsymbol{\theta})$ , então os dados observados  $\mathbf{y} = (y_1, y_2, \dots, y_{k+1})$ , com  $y_j = y(t_j)$  têm função de probabilidade multinomial

---

<sup>3</sup>Usada em estudos toxicológicos, corresponde a proporção de indivíduos que respondem a um determinado efeito de dose ou tratamento; só pode ser avaliada quando uma população de indivíduos é estudada.

$$P(y_1, \dots, y_k, y_{k+1}, n, \boldsymbol{\pi}) = \frac{n!}{y_1! y_2! \dots y_k! y_{k+1}!} \pi_1^{y_1} \pi_2^{y_2} \dots \pi_k^{y_k} \pi_{k+1}^{y_{k+1}} \quad (10)$$

em que  $\pi_j = P(t_{j-1} \leq T < t_j) = F(t_j; \boldsymbol{\theta}) - F(t_{j-1}; \boldsymbol{\theta})$ . Então a função de verossimilhança para  $\mathbf{y}$  dado um vetor de parâmetros  $\boldsymbol{\theta}$  pode ser expressada por:

$$L(\mathbf{y} | \boldsymbol{\theta}) = n! \prod_{j=1}^{k+1} \frac{(F(t_j; \boldsymbol{\theta}) - F(t_{j-1}; \boldsymbol{\theta}))^{y_j}}{y_j!} \quad (11)$$

Tomando o logarítmo de (6) tem-se:

$$\ln L(\mathbf{y} | \boldsymbol{\theta}) = \sum_{j=1}^{k+1} y_j \ln(F(t_j; \boldsymbol{\theta}) - F(t_{j-1}; \boldsymbol{\theta})) + \ln \left( \frac{n!}{\prod_{j=1}^{k+1} y_j!} \right) \quad (12)$$

O último termo em (12) é independente de  $\boldsymbol{\theta}$  e pode ser negligenciado para localizar o conjunto de parâmetros  $\boldsymbol{\theta}$  que maximiza a verossimilhança. A maximização da equação (12) pode ser obtida por meio de algoritmos de otimização, como por exemplo **Nelder-Mead**, **Newton-Rapson**, **quasi-Newton**, disponíveis em softwares estatísticos (LAWLESS, 2003).

Para cada semente considerada no experimento, o intervalo de monitoração em que germinou ou o intervalo de tempo de todo o experimento se não germinou é utilizado na análise. Especificamente, para cada intervalo de monitoramento  $[t_{j-1}, t_j)$  o procedimento de estimação vai procurar corresponder de forma otimizada as proporções observadas de sementes germinadas,  $\frac{n_j}{n}$ , de encontro com as probabilidades de sementes germinadas determinadas pelo modelo  $F(t; \boldsymbol{\theta})$  assumido (RITZ; PIPPER; STREIBIG, 2013).

Pode-se questionar que, caso o experimento fosse repetido nas mesmas condições (uma nova amostra de  $n$  valores de dados selecionados), as contagens provavelmente seriam um pouco diferente. Nota-se que os ensaios de germinação são feitos sem substituições de sementes, ou seja, o valor de  $n$  irá decrescer à medida que as sementes forem germinando ao longo do experimento. Neste caso, a distribuição exata das contagens para amostragem sem substituição é a distribuição hipergeométrica multivariada<sup>4</sup>. No entanto, o modelo multinomial será uma boa aproximação para a distribuição das contagens desde que as alterações nas proporções na população,  $\pi'_j s$ ,

<sup>4</sup><http://www.math.uah.edu/stat/urn/MultiHypergeometric.html>

devido à amostragem sejam desprezíveis (DJKSTRA, 1986).

### 2.3.3 Modelos de dose-resposta

Curvas de dose-resposta podem ser usadas para resumir experimentos em que o tempo decorrido em ensaios de germinação pode ser entendido como um estresse e a proporção de sementes germinadas como resposta. Ritz et al. (2015) definem dose como qualquer quantidade biológica, química, de radiação ou estresse pré-determinada que pode desencadear uma certa resposta. A resposta a uma determinada dose ou exposição é definida como a quantificação de um efeito biologicamente relevante.

Do ponto de vista estatístico, curvas de dose-resposta são modelos baseados na hipótese que cada indivíduo tem um nível de tolerância para um agente teste e que esse nível de resposta ou efeito é uma variável que segue uma distribuição de probabilidade específica.

Essas respostas podem ser modeladas usando uma função dose-resposta cumulativa. Na Tabela 1 são apresentadas quatro diferentes classes de funções de dose-resposta sigmoidais para descrever a proporção de sementes germinadas entre o início do experimento (tempo 0) até o tempo  $t$  (RITZ; PIPPER; STREIBIG, 2013).

Tabela 1 – Lista de modelos de dose-resposta e funções correspondentes

Modelo	Função ( $f$ )
Log-logístico - LL	$\frac{d}{1 + e^{b(\log(t) - \log(\varepsilon))}}$
Log-normal - LN	$d \cdot \Phi.b.(\log(t) - \log(\varepsilon))$
Weibull 1 - W1	$d \cdot e^{-e^{b \cdot (\log(t) - \log(\varepsilon))}}$
Weibull 2 - W2	$d \cdot (1 - e^{-e^{b \cdot (\log(t) - \log(\varepsilon))}})$

em que  $d$  denota a assíntota superior ou limite da resposta ;  $b$  denota o grau de inclinação da curva de dose-resposta resultante;  $\varepsilon$  corresponde ao ponto de inflexão da curva;  $\Phi$  é a função de distribuição acumulada da distribuição normal padrão;  $e$  é a base do logaritmo natural e  $t$  é a unidade de tempo,  $t \geq 0$ .

Os modelos Log-logístico e Log-normal são curvas sigmoidais simétricas enquanto os modelos Weibull 1 e Weibull 2 são curvas assimétricas. O modelo Log-

normal resulta em curva de dose-resposta muito semelhante à curva obtida a partir do modelo Log-logístico, bastante utilizado em estudos toxicológicos e no desenvolvimento da ciência de plantas daninhas para quantificar relações entre dose e seu efeito (LACERDA; VICTORIA FILHO, 2004; RITZ et al., 2015; SEEFELDT; JENSEN; FUERST, 1995; RITZ, 2010;).

A proposta de ajuste utilizando modelos de dose-resposta e considerando o tempo até a ocorrência do evento de interesse foi utilizada por Andreasen; Kemezys e Müller (2014) para estudar o efeito de doses crescentes de fertilizante e cálcio na produção e germinação de sementes de *Gerbera hybrida* e por Rodriguez et al. (2016) com a finalidade de estudar o efeito da temperatura e da profundidade de semeadura na germinação de sementes de Cañahua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen).

## 2.4 Estimadores sanduíches

Segundo Schabenberger e Pierce (2002), a não consideração de pressuposições associadas ao modelo ajustado pode ocasionar na obtenção de estimativas viesadas e a subestimação das variâncias dos parâmetros, o que induz a testes t, intervalos de confiança e *valor-p* que podem ser inadequados e potencialmente enganosos.

A suposição de independência não é sustentada em ensaios de germinação de sementes devido as unidades de observação (sementes) serem geralmente agrupadas dentro de unidades de aleatorização (placas de petri, gerbox<sup>5</sup> ou parcelas, por exemplo), Onofri et al. (2011) sugerem duas maneiras de abordar este problema afim de obter erros padrão adequados. A primeira abordagem baseia-se na introdução de efeitos aleatórios no modelo, para ter em conta as unidades de agrupamento (PINHEIRO; BATES, 2000) e a outra abordagem possível, a qual foi utilizada nesse estudo é baseada em estimativas robustas do erro-padrão, utilizando estimadores Huber/White ou "sanduíche" (Zeileis, 2006), cuja inferência tem por base o teorema central do limite.

O uso de estimadores sanduíche é atraente, porque evita-se procurar uma transformação que atenda as pressuposições do modelo ou a escolha de uma estrutura de covariâncias adequada, ou seja, mesmo que o modelo tenha sido mal especificado no que diz respeito a algumas das pressuposições da distribuição, ainda é possível obter estimativas consistentes dos erros padrão. Explicações detalhadas podem ser

---

<sup>5</sup>Caixa plástica onde são acondicionadas as sementes para germinação.

encontradas em Ritz e Streibig (2008, p.83-87).

## 2.5 Critérios para seleção do modelo de dose-resposta

O principal interesse ao se ajustar um modelo aos dados está na inferência para os parâmetros do modelo, de maneira que os resultados obtidos da amostra possam ser expandidos para a população.

### 2.5.1 Critérios de informação

Os critérios de informação são estatísticas que servem como medidas quando se deseja comparar modelos não encaixados. A ideia consiste em comparar modelos baseados na maximização do logaritmo de verossimilhança, sendo penalizados os modelos com mais parâmetros. Quanto menor for o valor do critério de informação de um modelo melhor é o modelo.

Os critérios mais utilizados são o critério de Akaike (AIC) e o critério bayesiano (BIC). O Critério de Informação de Akaike foi proposto por Akaike (1974) e admite a existência de um modelo real desconhecido que descreve os dados e tenta escolher dentre um grupo de modelos avaliados, o que minimiza a divergência de Kullback-Leibler (K-L). Esta divergência está relacionada à informação perdida por se usar um modelo aproximado e não o "real". O Critério de Informação Bayesiano (BIC), proposto por Schwarz (1978) é definido como a estatística que maximiza a probabilidade de se identificar o verdadeiro modelo dentre os modelos avaliados.

O AIC é definido por:

$$AIC = -2\ln L(\mathbf{y} | \hat{\boldsymbol{\theta}}) + 2k$$

e o BIC é calculado por:

$$BIC = -2\ln L(\mathbf{y} | \hat{\boldsymbol{\theta}}) + 2k\ln(n)$$

em que:

$L$  é o valor máximo da função de verossimilhança;

$\mathbf{y}$ : vetor de observações;  $\hat{\boldsymbol{\theta}}$ : vetor de estimativas dos parâmetros;

$k$ : o número de parâmetros do modelo;

$n$ : é o número total de observações usadas na estimação do modelo em estudo.

### 2.5.2 Análise de resíduos

Em qualquer análise estatística é essencial proceder a uma análise de resíduos, visando verificar se o modelo ajustado é adequado ao conjunto de dados sob estudo.

A verificação da adequação do ajuste de um determinado modelo a um conjunto de observações foi proposta por Atkinson (1985), e consiste, basicamente, em plotar os valores absolutos ordenados de uma determinada medida de diagnóstico, que pode ser um tipo de resíduos, versus as estatísticas de ordem<sup>6</sup> esperadas da distribuição de probabilidade semi-normal, calculadas por:

$$\Phi^{-1} = \left( \frac{i + n - \frac{1}{8}}{2n + \frac{1}{2}} \right)$$

em que  $n$  é o tamanho da amostra,  $i = 1, 2, \dots, n$ , adicionando-se a esse gráfico um envelope simulado. Este método também pode ser aplicado para a construção de gráficos de probabilidade normais, cuja as estatísticas de ordem são calculadas por:

$$\Phi^{-1} = \left( \frac{i - \frac{3}{8}}{n + \frac{1}{4}} \right)$$

Os gráficos de probabilidade normais ou semi-normais com envelopes simulados permitem a detecção de observações atípicas e a verificação se a distribuição do erro foi corretamente especificada (DEMÉTRIO; HINDE; MORAL, 2014). Um indício de bom ajuste ocorrerá se a maior parte dos pontos estiver dentro do envelope simulado. Maiores detalhes sobre a construção do envelope simulado podem ser encontrados em Moral (2013) e Silva (2014).

---

<sup>6</sup>É uma sequência denotada por  $x_{(1)}, x_{(2)}, \dots, x_{(n-1)}, x_{(n)}$  de uma amostra,  $x_1, x_2, \dots, x_{n-1}, x_n$ , ordenada de forma crescente, tal que  $x_{(i)}$  indica a  $i$ -ésima estatística de ordem, ou a  $i$ -ésima observação ordenada.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Na seção 3.1 é apresentada uma pequena descrição dos conjuntos de dados utilizados nas análises e dos ensaios em que foram gerados. A metodologia utilizada nas análises é descrita com detalhes na seção 3.2; na seção 3.3 são apresentados alguns detalhes sobre os aspectos computacionais das análises que foram feitas utilizando o software R.

#### 3.1 Materiais

As bases de dados utilizadas no presente trabalho são resultantes de dois experimentos. O primeiro banco de dados é proveniente de um experimento conduzido no Setor das Agrárias da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo em Pirassununga, São Paulo-USP/FZEA, no ano de 2014, que teve como um dos objetivos avaliar o efeito de doses crescentes do biorregulador vegetal SPD nas taxas de germinação de sementes de pastagem de *Brachiaria brizantha* cv Marandu. Os dados resultaram de um ensaio com medidas repetidas ao longo de 12 dias, num delineamento inteiramente aleatorizado, com 6 doses de SDP (0, 5, 10, 20, 40 e  $80\text{ml.kg}^{-1}$ ) em sementes incrustadas. Cada tratamento constou de seis repetições com 50 sementes, em que para cada quilograma de sementes incrustadas foram utilizados 100ml de solução (água + produto). Nesse estudo os testes de germinação foram realizados em caixas plásticas transparentes do tipo gerbox (GASPAR-OLIVEIRA et al., 2008), contendo papel especial para teste de germinação, colocados em câmara de germinação, à temperatura constante de 30°C, recebendo 12 horas de luz e 12 horas de escuro por dia (BRASIL, 2009). A contagem das sementes, em cada gerbox, foi monitorada diariamente, sempre no mesmo horário.

A segunda base de dados é procedente de um experimento realizado no laboratório de análise de sementes (LAS) do Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura "Luis de Queiroz" da Universidade de São Paulo em Piracicaba, São Paulo-ESALQ/USP, no ano de 2015, que teve como um dos objetivos a avaliação do efeito do fungicida CAPTAN 500 PM nas taxas de germinação de sementes do híbrido *Citrumelo Swingle* (*Citrus paradisi* Macf. e *Poncirus trifoliata* L. Raf). Os dados provêm de um ensaio com medidas repetidas ao longo de 56 dias,



num delineamento inteiramente aleatorizado. O experimento contou com 4 repetições de 50 sementes de 4 lotes com diferentes potenciais de germinação (45%, 48%, 60% e 43%), que tiveram como critério de germinação a formação de plântula normal e serão denotados respectivamente por I, II, III e IV. O lote III não recebeu tratamento. A germinação foi monitorada aos 21, 28, 35, 42, 49 e 56 dias, sempre no mesmo horário. Os testes de germinação foram realizados em papel filtro (germitest), em câmara de germinação, à temperatura de 25°C, seguindo as normas da RAS (BRASIL, 2009).

### 3.2 Métodos

Na análise dos dados de germinação serão utilizadas duas abordagens distintas. Na abordagem 1 é utilizado o modelo de regressão não linear, admitindo que os dados apresentam distribuição normal. Por ser uma metodologia de análise usual, esta abordagem é utilizada para efeito de comparação de resultados. As estimativas dos parâmetros dos modelos são utilizadas para verificação se as curvas de germinação diferem conforme os tratamentos. As estimativas dos índices de germinação serão utilizadas nas comparações entre os tratamentos, em análises de variâncias univariadas independentes. A abordagem 2 consiste na análise por meio do uso de modelos de dose-resposta com censura intervalar, admitindo que o número de sementes germinadas nos diversos intervalos de tempo tem distribuição multinomial.

Os modelos de regressão não linear ajustados na abordagem 1 são os mesmos apresentados na abordagem 2, entretanto as estimativas dos parâmetros são obtidas por meio do método de mínimos quadrados, que consiste em encontrar as melhores estimativas dos parâmetros do modelo para um conjunto de dados, que minimiza a soma de quadrados dos resíduos entre a curva ajustada e os valores observados. Neste caso, os erros são assumidos independentes, normalmente distribuídos e com variância comum. Maiores detalhes podem ser encontrados em Ritz e Streibig (2008), dentre outros.

Ao rever artigos de germinação desde 2013 encontrados pelo Google Scholar, identificou-se que aproximadamente 80% das análises estatísticas foram realizadas considerando os índices de germinação seguidos por análise de variância com as estimativas dos parâmetros ou regressão linear para comparar o efeito de diferentes tratamentos. Entretanto é de conhecimento comum entre os pesquisadores de sementes

que um único índice não deve ser utilizado para quantificar a germinação, mas sim o uso conjunto de diferentes medidas como: a porcentagem máxima de germinação, o progresso da germinação e a forma da curva de germinação (ANJUM; BAJWA, 2005).

Dentre os diversos índices empregados em ensaios de germinação para avaliar a eficácia dos tratamentos foram escolhidos a porcentagem máxima de germinação ( $\%G$ ) e o tempo médio de germinação das sementes ( $\bar{t}$ ), porque eles podem ser facilmente obtidos diretamente a partir das estimativas dos parâmetros dos modelos ajustados pelas abordagens 1 e 2.

O  $\bar{t}$  é um índice muito utilizado e corresponde à média do tempo necessário para um conjunto de sementes germinar, sendo calculado de acordo com a fórmula apresentada por Ferreira e Borghetti (2004):

$$\bar{t} = \frac{\sum_{j=1}^k d_j \cdot t_j}{\sum_{j=1}^k d_j}, \quad (13)$$

em que  $d_j$  é o número de sementes que germinam no tempo  $t_j$ ;  $t_j$  é o tempo de início da  $j$ -ésima observação (em dias ou horas) e  $k$  é o último tempo de observação da germinação das sementes;  $\sum_{j=1}^k d_j$  é o número total de sementes germinadas ao final do experimento.

A porcentagem máxima de germinação ou capacidade de germinação ( $\%G$ ) representa a porcentagem de sementes germinadas em relação ao número total de sementes utilizadas no experimento e pode ser calculada como:

$$\%G = \frac{\sum_{j=1}^k d_j}{n} \times 100, \quad (14)$$

em que  $\sum_{j=1}^k d_j$  e  $k$  é como definido em (13) e  $n$  o número total de sementes usadas no ensaio.

As medidas de germinação calculadas para cada lote foram submetidas a análise de variância (ANOVA) para examinar o efeito dos tratamentos. Para todos os testes de hipóteses foi adotado um nível de significância de 5%. Nos casos em que foi realizada a análise de variância, a verificação das pressuposições de normalidade e homocedasticidade foi realizada por meio da aplicação dos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett (RITZ; STREIBIG, 2008), respectivamente.

Dentre os modelos apresentados na Tabela 1, o modelo Weibull 2 (W2)

foi escolhido para representar a função média de germinação de sementes dos dados de *Brachiaria* e o modelo log-logístico (LL), para os dados de *Citrumelo*. Esta escolha baseou-se nos valores das estatísticas AIC e BIC calculados após o ajuste dos quatro modelos listados na Tabela 1. As expressões usadas para esses dois modelos foram:

- Modelo Weibull 2

$$F(t_{ju}) = d_u \cdot [1 - e^{-e^{b_u(\log(t_j) - \log(\varepsilon_u))}}] \quad (15)$$

- Modelo Log-logístico

$$F(t_{ju}) = \frac{d_u}{1 + e^{b_u(\log(t_j) - \log(\varepsilon_u))}} = \frac{d_u}{1 + \left(\frac{t_j}{t_{50u}}\right)^{b_u}} \quad (16)$$

em que  $F(t_{ju})$  corresponde a proporção de sementes germinadas no  $j$ -ésimo tempo do  $u$ -ésimo tratamento;  $d_u$  indica a proporção máxima de sementes germinadas durante o experimento em relação ao número total de sementes presentes no início do ensaio que receberam o tratamento  $u$ ;  $b_u$  é a inclinação em relação ao ponto de inflexão da curva de dose-resposta das sementes que receberam o tratamento  $u$  e pode ser um indicativo do vigor das sementes germinadas;  $\varepsilon_u$  corresponde ao ponto de inflexão da curva que recebeu o  $u$ -ésimo tratamento, que para os modelos simétricos como LL, o valor de  $\varepsilon_u = t_{50u}$  corresponde ao tempo decorrido para atingir 50% de germinação em relação à porcentagem máxima de germinação e pode ser interpretado como o tempo médio de germinação e  $t_j$  corresponde ao  $j$ -ésimo tempo para germinação de sementes. Como o modelo W2 é assimétrico, o parâmetro  $\varepsilon_u$  será geralmente menor que  $t_{50u}$ .

A comparação entre as curvas de germinação para diferentes tratamentos utilizando as abordagens 1 e 2 foi realizada verificando a sobreposição dos intervalos de confiança calculados para o parâmetro de  $t_{50}$  quando o modelo ajustado foi W2 e para os demais parâmetros por meio do teste de diferenças, semelhante aos testes padrões usados em análise de covariância. Maiores detalhes sobre essas abordagens de análise podem ser encontrados respectivamente em Mischán e Pinho (2014) e Miller e Chapman (2001).

### 3.3 Aspectos computacionais

As análises estatísticas foram produzidas com o **software** R versão 3.2.3 (R CORE TEAM, 2015). O ambiente R possui a vantagem de ser de domínio público

e possuir código de fonte aberto, apresentando considerável facilidade na manipulação de dados, modelagem estatística e construção de gráficos.

Para a obtenção das estimativas de Kaplan-meier e conseqüentemente a construção dos gráficos, foi utilizado o pacote `RcmdrPlugin.survival` (FOX e CARVALHO, 2012) que é uma extensão da interface gráfica do pacote `Rcomander` (FOX, 2005) para análise de sobrevivência. Apesar de algumas limitações, a interface gráfica `Rcomander` apresenta diversas vantagens como: é do tipo **click-and-point**; é auto-explicativa; possui janelas onde são listados os comandos gerados em uma aplicação; executa os comandos e produz uma saída com os resultados, servindo aos pesquisadores iniciantes como um ponto de partida para a escrita de seus próprios comandos em R.

Todas as funções dos pacotes de sobrevivência do R usam um formato de dados padrão para as análises, quando assume os tempos exatos de falha. Para a análise de dados de germinação de sementes, em cada linha da planilha de dados deve aparecer a informação se uma determinada semente germinou ( $\delta_i = 1$ ) ou não ( $\delta_i = 0$ ) naquele determinado tempo de observação.

Na Tabela 2 é ilustrada a maneira como os dados devem ser organizados, ressaltando que os tempos descritos estão como "tempos exatos de falha" de cada semente, logo as considerações anteriores sobre censura intervalar devem ser levadas em conta. Por exemplo: na primeira repetição do primeiro lote (Lote=I) duas sementes germinaram ( $\delta_i = 1$ ) no primeiro dia, uma semente germinou no segundo dia ( $\delta_i = 1$ ), nenhuma semente germinou no terceiro dia ( $\delta_i = 0$ ). Como o experimento terminou ao terceiro dia, temos uma observação censurada a direita para a repetição 1.

Todas as análises estatísticas relacionadas aos modelos de dose-resposta foram realizadas mediante proposta apresentada por Ritz, Pipper e Streibig (2013), que consiste na utilização da função `drm()`, que está completamente documentada no pacote `drc` (**Analysis of dose-response curves**), que permite o ajuste simultâneo de vários modelos de regressão não linear.

Tabela 2 – Formato de um arquivo de dados para análise de sobrevivência, com dois lotes, duas repetições e quatro sementes por repetição, observadas durante três dias

Lote	repetição	Tempo (dia)	$\delta_i$
I	1	1	1
I	1	1	1
I	1	2	1
I	1	3	0
I	2	2	1
I	2	2	1
I	2	3	0
I	2	3	0
II	1	1	1
II	1	3	0
II	1	3	0
II	1	3	0
II	2	1	1
II	2	1	1
II	2	1	1
II	2	2	1

Os modelos (15) e (16) foram ajustados por meio das funções `W2.3()`- modelo Weibull 2 com três parâmetros e `LL.3()`- modelo log-logístico com três parâmetros, aos tempos de germinação das sementes suscetíveis a germinar durante o experimento e a germinação de sementes acumuladas seguindo as distribuições multinomial e normal. Os argumentos da função `drm()` controlam o processo de estimação dos parâmetros. Por exemplo, no modelo que considera o tempo até a ocorrência da germinação utiliza-se `type="event"`. Já no caso dos modelos que consideram os dados de germinação como dados contínuos e o método de estimação é baseado em mínimos quadrados o argumento `type` não deve ser especificado.

Ritz e Streibig (2015) disponibilizaram um conjunto de funções que podem ser encontradas na página de ajuda do pacote `drc`, e também obtida pela função `getMeanFunctions()`. Além disso por **default** a função **self starter** está implementada no pacote, que é uma função de partida automática que retorna um conjunto de valores iniciais dos parâmetros do modelo, que são calculados com base nos dados de entrada. Entretanto, esta opção pode ser anulada por meio do fornecimento de valores iniciais obtidos de qualquer outra forma, utilizando o argumento `start`. A função `getInitial()` pode ser utilizada para conhecer as estimativas iniciais que foram

efetivamente utilizadas para a obtenção de um determinado ajuste do modelo.

A título de ilustração dos comandos em R, o modelo de dose-resposta LL.3() com censura intervalar pode ser ajustado com a função `drm()` a um conjunto de dados utilizando o seguinte comando:

```
drm(germ.dia~tempoinicial+tempofinal, trat, data=dat4, fct=LL.3(names=c()),
type="event")
```

ou equivalentemente

```
drm(germ.dia~tempoinicial+tempofinal, trat, data=dat4, fct=LL.3(names=c("Slope",
"Max", "T50")), type="event")
```

O argumento `names=c("Slope", "Max", "T50")` dentro da função `fct=LL.3()` indica os nomes dos parâmetros,  $b$ ,  $d$  e  $t_{50}$  quando o modelo ajustado é o modelo Log-logístico, nos demais casos quando o ajuste for realizado pelos modelos Weibull ou Log-normal o respectivo argumento não será utilizado e  $t_{50}$  terá suas estimativas obtidas pela função `ED()`.

A fim de realizar o ajuste do modelo deste exemplo, a estrutura dos dados (`data=dat4`) teve de ser organizada de forma adequada, em cada linha tem-se a informação da quantidade de sementes germinadas (`germ.dia`) em cada intervalo de tempo (`tempoinicial+tempofinal`) como descrita na Tabela 3. As sementes que não germinaram até o final do experimento (censuradas à direita) também são contabilizadas na análise, o que pode ser observado nas linhas que contêm intervalos cujo tempo final tende ao infinito (tempo final = inf). Por exemplo: para o tratamento T6, repetição 6 (unidade experimental), das 50 sementes utilizadas, 34 foram censuradas à direita, ou seja, não germinaram até o último dia do experimento.

Tabela 3 – Dados de sementes de *Brachiaria*, por tratamento, com os intervalos de observações e o número de sementes germinadas em cada dia

Tratamentos	repetição	tempo inicial (dia)	tempo final (dia)	germ.dia
T1	1	0	1	18
T1	1	1	2	9
...	...	...	...	...
T1	1	12	inf	16
T1	2	0	1	9
...	...	...	...	...
T3	5	10	11	0
T3	5	11	12	1
T3	5	12	inf	34
T3	6	0	1	13
...	...	...	...	...
T6	6	12	inf	34

As estimativas robustas dos erros padrão foram obtidas com o uso de estimadores sanduíches do pacote **sandwich** (ZEILEIS, 2006), por meio do argumento `vcov.=sandwich` dentro do pacote `drc`.

Para a verificação da qualidade do ajuste foi utilizada a ferramenta gráfica de probabilidade normais dos resíduos quantis, por meio da função `hnp()` disponível no pacote `hnp` (MORAL; HINDE; DEMÉTRIO, 2016).

A comparação entre curvas de germinação para saber se diferem entre os tratamentos, foi realizada por meio da função `CompParm()` no pacote `drc`.

Uma programação resumida para a realização de um ajuste de um modelo de dose-resposta com censura intervalar no **software** R, é encontrada no apêndice A.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Germinação de Sementes de *Brachiaria*

As curvas de germinação estimadas para as sementes de *Brachiaria* (Figura 3) mostram que as germinações ocorrem em diferentes níveis, com estabilizações variando entre 0,4 e 0,7, indicando que uma alta proporção de sementes não germinou até o final do experimento. As sementes que foram tratadas com o biorregulador não alcançaram o tempo mediano de germinação, ou seja, não chegaram a 50% da germinação do total de sementes utilizadas no ensaio (Tabela 4). Observa-se também que as sementes que receberam as dosagem 5ml e 80ml tiveram as menores proporções de germinação (Figura 3 e Tabela 4).

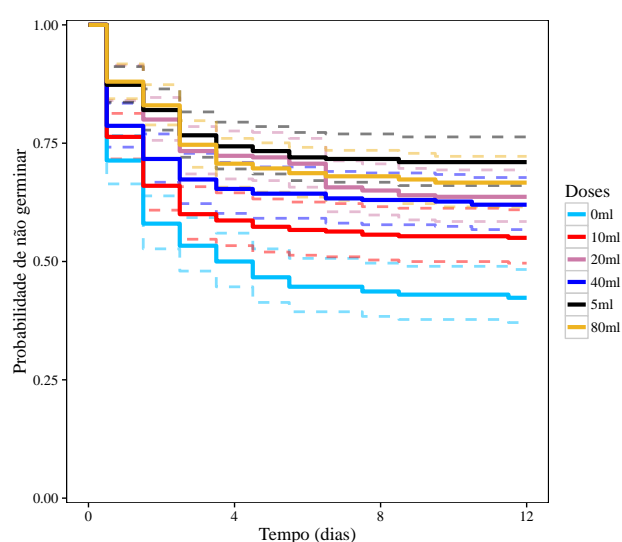


Figura 3 – Estimativas de Kaplan-Meier das curvas de germinação de sementes de *Brachiaria* para cada um dos seis tratamentos e respectivos intervalos de confiança a 95% (linhas tracejadas)

Os modelos da Tabela 5 foram propostos e ajustados visando à comparação das curvas que melhor descreve o percentual germinativo de sementes de *brachiaria*. A escolha pelo o modelo W2, baseou-se no menor valor do AIC e BIC.



Tabela 4 – Estimativas de Kaplan-Meier para o ensaio de germinação das sementes de *Brachiaria*, por tratamento

Doses	Intervalos	$n_j$	$d_j$	Germinadas	Não germinadas	Erro-padrão	I.C 95%
0ml	[0,1)	300	86	0,287	0,713	0,026	[0,66; 0,76]
	[1,2)	214	40	0,420	0,580	0,028	[0,52; 0,63]
	[2,3)	174	14	0,467	0,533	0,028	[0,48; 0,59]
	[3,4)	160	10	0,500	0,500	0,028	[0,44; 0,56]
	[4,5)	150	10	0,533	0,467	0,028	[0,41; 0,52]
	[5,6)	140	6	0,553	0,447	0,028	[0,39; 0,50]
	[6,8)	134	3	0,563	0,437	0,028	[0,38; 0,49]
	[8,9)	131	2	0,570	0,430	0,028	[0,37; 0,49]
	[9,12)	129	2	0,577	0,423	0,028	[0,37; 0,48]
5ml	[0,1)	300	38	0,127	0,873	0,019	[0,83; 0,91]
	[1,2)	262	16	0,180	0,820	0,022	[0,77; 0,86]
	[2,3)	246	16	0,233	0,767	0,024	[0,72; 0,81]
	[3,4)	230	7	0,257	0,743	0,025	[0,69; 0,79]
	[4,5)	223	3	0,267	0,733	0,025	[0,68; 0,78]
	[5,6)	220	4	0,280	0,720	0,025	[0,67; 0,77]
	[6,7)	216	1	0,283	0,717	0,026	[0,66; 0,77]
	[7,12)	215	2	0,290	0,710	0,026	[0,66; 0,76]
	10ml	[0,1)	300	71	0,237	0,763	0,024
[1,2)		229	31	0,340	0,660	0,027	[0,60; 0,71]
[2,3)		198	18	0,400	0,600	0,028	[0,54; 0,65]
[4,5)		176	4	0,413	0,587	0,028	[0,53; 0,64]
[3,4)		180	4	0,427	0,573	0,028	[0,52; 0,63]
[5,7)		172	2	0,433	0,567	0,028	[0,51; 0,62]
[7,8)		170	1	0,437	0,563	0,028	[0,51; 0,62]
[7,8)		169	2	0,443	0,557	0,028	[0,50; 0,61]
[8,9)		167	1	0,447	0,553	0,028	[0,50; 0,61]
[9,12)	166	1	0,450	0,550	0,028	[0,49; 0,60]	
20ml	[0,1)	300	37	0,127	0,873	0,019	[0,84; 0,91]
	[1,2)	263	23	0,200	0,800	0,023	[0,75; 0,84]
	[2,3)	240	20	0,267	0,733	0,025	[0,68; 0,78]
	[3,4)	220	3	0,277	0,723	0,025	[0,67; 0,77]
	[4,5)	217	1	0,280	0,720	0,025	[0,67; 0,77]
	[5,6)	216	4	0,293	0,707	0,026	[0,65; 0,76]
	[6,7)	212	15	0,343	0,657	0,027	[0,60; 0,71]
	[7,8)	197	2	0,350	0,650	0,027	[0,59; 0,70]
	[8,9)	195	3	0,360	0,640	0,027	[0,58; 0,68]
[9,12)	192	1	0,363	0,637	0,027	[0,58; 0,69]	
40ml	[0,1)	300	64	0,213	0,787	0,023	[0,74; 0,83]
	[1,2)	236	21	0,293	0,717	0,026	[0,66; 0,77]
	[2,3)	215	13	0,327	0,673	0,027	[0,62; 0,73]
	[3,4)	202	6	0,347	0,653	0,027	[0,60; 0,71]
	[4,5)	196	3	0,357	0,643	0,027	[0,59; 0,70]
	[6,7)	193	3	0,367	0,633	0,027	[0,58; 0,69]
	[7,8)	190	1	0,370	0,630	0,027	[0,57; 0,68]
	[8,9)	189	1	0,373	0,627	0,027	[0,57; 0,68]
	[9,12)	188	2	0,380	0,620	0,028	[0,56; 0,67]
80ml	[0,1)	300	36	0,120	0,880	0,018	[0,84; 0,91]
	[1,2)	264	15	0,170	0,830	0,021	[0,78; 0,87]
	[2,3)	249	25	0,253	0,747	0,025	[0,69; 0,79]
	[3,4)	224	12	0,293	0,707	0,026	[0,65; 0,76]
	[4,5)	212	3	0,303	0,697	0,026	[0,64; 0,75]
	[5,6)	209	3	0,313	0,687	0,026	[0,63; 0,74]
	[6,7)	206	2	0,320	0,680	0,026	[0,63; 0,73]
	[8,9)	204	2	0,327	0,673	0,027	[0,62; 0,72]
	[9,12)	202	2	0,333	0,667	0,027	[0,61; 0,72]

Tabela 5 – Modelos propostos para descrição do comportamento germinativo de sementes de *Brachiaria*, AIC e BIC

Modelo	AIC	BIC
LN	5576,481	7443,292
LL	5577,339	7444,150
W1	5584,742	7451,553
W2	5573,222	7440,033

As estimativas dos parâmetros do modelo W2 com seus respectivos erros padrão e intervalos de confiança, considerando as duas abordagens, são apresentadas na Tabela 6.

Os percentuais máximos de germinação estimados ( $d$ ), apresentaram valores bem próximos nas duas abordagens, sendo que os correspondentes erros padrão estimados diferiram entre as abordagens, apresentando menores valores na abordagem 1.

Erros padrão menores foram observados por Ritz, Pipper e Streibig (2013), ao analisarem dados de germinação de sementes *Chickweed*, por meio da abordagem 1, indicando que a respectiva abordagem proporciona um excedente na estimativa exata da proporção de sementes germinadas e, em geral, produz erros padrão menores que o modelo que considera o tempo até a ocorrência do evento.

Tabela 6 – Estimativas dos parâmetros (erros padrão entre parênteses e intervalos com 95% de confiança entre colchetes) do modelo W2 por abordagens

Abordagem	Doses	$\hat{\varepsilon}_u$	$\hat{d}_u$	$\hat{b}_u$
1	0 <sub>ml/kg</sub>	1,55 (0,34) [0,82; 2,28]	0,57 (0,03) [0,54; 0,61]	0,80 (0,23) [0,50; 1,09]
	5 <sub>ml/kg</sub>	2,25 (0,53) [0,94; 3,55]	0,29 (0,02) [0,26; 0,31]	1,17 (0,49) [0,56; 1,78]
	10 <sub>ml/kg</sub>	1,34 (0,29) [0,61; 2,06]	0,44 (0,02) [0,42; 0,47]	0,91 (0,39) [0,48; 1,36]
	20 <sub>ml/kg</sub>	3,10 (2,85) [-0,93; 7,15]	0,39 (0,11) [0,29; 0,48]	0,78 (0,46) [0,37; 1,19]
	40 <sub>ml/kg</sub>	1,26 (0,30) [0,27; 2,27]	0,37 (0,02) [0,34; 0,41]	0,76 (0,33) [0,26; 1,25]
	80 <sub>ml/kg</sub>	2,28 (0,62) [1,07; 3,50]	0,33 (0,02) [0,30; 0,36]	1,12 (0,54) [0,59; 1,65]
2	0 <sub>ml/kg</sub>	1,59 (0,51) [1,23; 1,94]	0,58 (0,12) [0,52; 0,64]	0,78 (0,21) [0,63; 0,93]
	5 <sub>ml/kg</sub>	1,86 (0,54) [1,40; 2,32]	0,29 (0,10) [0,23; 0,34]	0,96 (0,25) [0,73; 1,19]
	10 <sub>ml/kg</sub>	1,37 (0,44) [1,04; 1,70]	0,45 (0,12) [0,39; 0,51]	0,83 (0,21) [0,67; 1,00]
	20 <sub>ml/kg</sub>	2,76 (0,98) [2,01; 3,50]	0,37 (0,12) [0,31; 0,43]	0,88 (0,28) [0,67; 1,09]
	40 <sub>ml/kg</sub>	1,31 (0,50) [0,89; 1,73]	0,38 (0,11) [0,32; 0,44]	0,70 (0,20) [0,51; 0,88]
	80 <sub>ml/kg</sub>	2,29 (0,64) [1,81; 2,73]	0,33 (0,11) [0,28; 0,40]	1,05 (0,32) [0,83; 1,26]

Entre as sementes tratadas com o biorregulador, o maior percentual germinativo foi observado para as sementes que receberam a dose 10<sub>ml</sub>. O aumento da dose proporcionou uma queda na germinabilidade das sementes, chegando em torno de 25%, e quando comparada com as sementes que não foram tratadas com o biorregulador (dose 0<sub>ml</sub>), essa queda chegou ao máximo de 40%. Cardoso et al. (2015)

ao analisarem a qualidade fisiológica e composição química de sementes de *Brachiaria brizantha*, também observaram que as sementes que foram tratadas com regulador de crescimento associado a nutrientes tiveram uma queda no percentual germinativo em relação as sementes que não foram tratadas.

Resultados semelhantes foram encontrados por Brennecke, Ferraz e Simões (2015) ao analisarem o percentual germinativo de sementes de *Brachiaria decumbens* sob diferentes concentrações de biorregulador, quando verificaram que doses crescentes da substância biorreguladora apresentaram um limite ao efeito promotor (dose máxima indicada), a partir do qual geraram efeitos negativos ao crescimento e desenvolvimento vegetal.

As estimativas do parâmetro  $b$  e os erros padrão estimados apresentaram valores menores na abordagem 1, assim como os respectivos intervalos de confiança que tiveram uma amplitude menor na abordagem 1 em relação a abordagem 2. Resultados semelhantes são observados para as estimativas dos pontos de inflexão das curvas ajustadas,  $\hat{\epsilon}$ , e os erros padrão estimados, já os intervalos de confiança apresentaram maiores amplitudes na abordagem 1.

As curvas de germinação ajustadas resultantes das duas abordagens são mostradas nas Figuras 4(a) e 4(b). A comparação visual mostra que o modelo W2 oferece ajuste quantitativo satisfatório, sendo adequado para descrever o comportamento médio dos dados, embora já tenham sido relatadas diferenças na precisão das estimativas dos parâmetros, favoráveis a abordagem 2.

Os gráficos normais dos resíduos apresentados na Figura 5 permitem concluir uma melhor qualidade do ajuste considerando a abordagem 2 e uma péssima qualidade com a abordagem 1, confirmando que o uso da distribuição normal para os dados de germinação não é adequado.

As estimativas de  $t_{50}$ , erros padrão e intervalos de confiança são apresentados na Tabela 7. As estimativas tiveram valores próximos em ambas as abordagens, sendo observados erros padrão menores e intervalos de confiança mais precisos para abordagem 1, com exceção da estimativa do parâmetro  $t_{50}$ , para dose  $20_{ml/kg}$  com erro padrão igual a 1,40, que pode ser considerada nula para essa dose. As menores estimativas de  $t_{50}$  podem ser observadas para as doses  $10_{ml/kg}$  e  $40_{ml/kg}$ .

Os intervalos de confiança das estimativas do parâmetro  $t_{50}$  (Tabela 7)

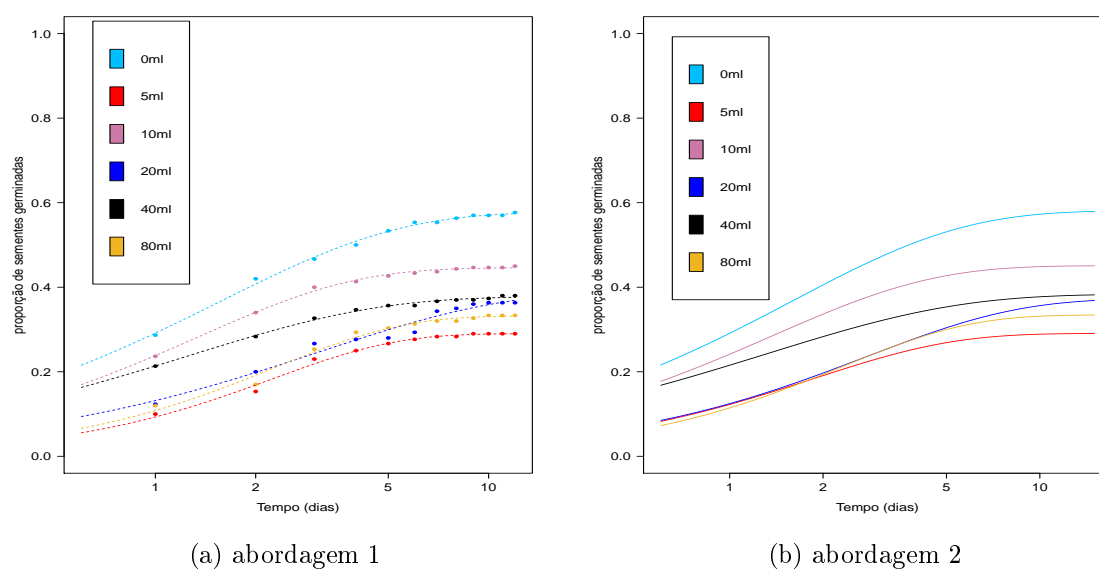


Figura 4 – Curvas médias de germinação de sementes de *Brachiaria*, por tratamento, ajustadas pelo modelo W2 usando usando as abordagens 1 e 2

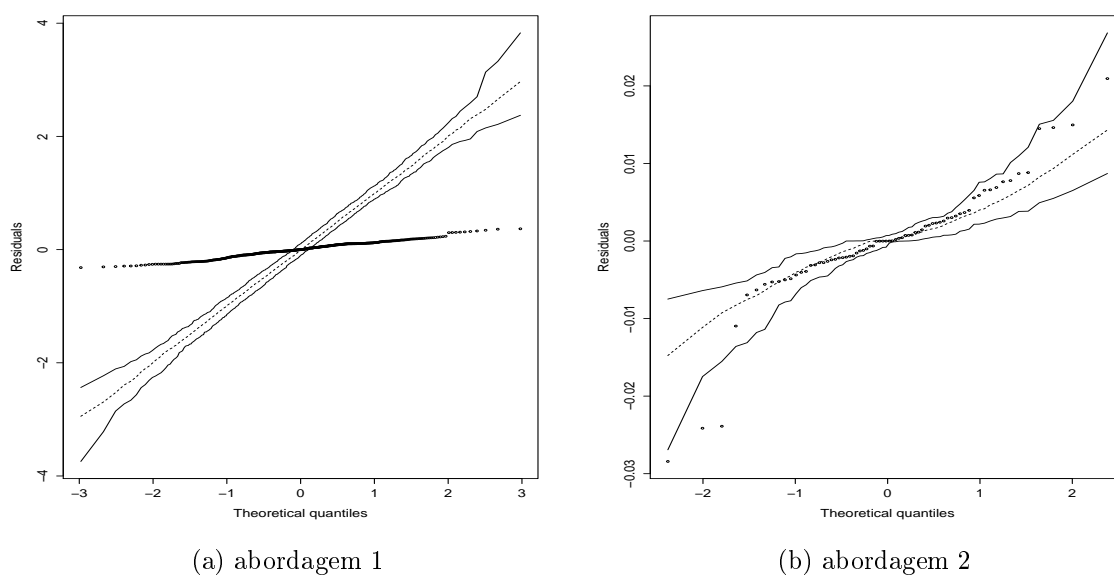


Figura 5 – Gráficos normais com envelope simulado para os resíduos dos ajustes do modelo W2 usando as abordagens 1 e 2

quanto as abordagens 1 e 2 apresentaram conclusões semelhantes em relação a comparação dos tratamentos quanto ao tempo médio de germinação. Observa-se que ocorre uma sobreposição de todos os intervalos de confiança, em ambas as abordagens, indicando que não existem diferenças significativas entre as doses em relação ao tempo médio de germinação e, conseqüentemente, as velocidades médias de germinação das sementes submetidas aos diferentes tratamentos também podem ser consideradas iguais.

Tabela 7 – Estimativas do parâmetro  $t_{50}$  para cada tratamento (dose), com respectivos erros padrão e intervalos de confiança

Abordagem	Doses	Estimativa	erro padrão	I.C (95%)
1	0ml	0,9825	0,2274	[0,5354; 1,4297]
	5ml	1,6458	0,4046	[0,8504; 2,4412]
	10ml	0,8992	0,2397	[0,4279; 1,3704]
	20ml	1,9472	1,3953	[-0,7956; 4,6901]
	40ml	0,7843	0,2138	[0,3639; 1,2047]
	80ml	1,6495	0,5063	[0,6542; 2,6448]
2	0ml	0,9971	0,4169	[0,1798; 1,8143]
	5ml	1,2752	0,4796	[0,3351; 2,2152]
	10ml	0,8860	0,3729	[0,1550; 1,6171]
	20ml	1,8252	0,7257	[0,4029; 3,2476]
	40ml	0,7794	0,3854	[0,0239; 1,5349]
	80ml	1,6163	0,5971	[0,4459; 2,7868]

Na Tabela 8 são apresentadas as diferenças entre as estimativas do parâmetro de germinabilidade ( $d$ ) para cada um dos tratamentos e cada uma das abordagens. Na abordagem 1, sete diferenças significativas são observadas, apontando que as sementes que não foram submetidas ao tratamento com o biorregulador (dose 0ml) diferiram quanto a germinação máxima das sementes submetidas às doses 10ml, 40ml e 80ml. Diferenças significativas também são observadas para o percentual germinativo das sementes tratadas com a dose 5ml em relação à dose 10ml e 40ml, como também da dose 10ml com a dose 80ml. Já pela abordagem 2 não houve diferenças significativas entre os tratamentos quanto a porcentagem máxima de germinação.

De acordo com as estimativas do parâmetro de inclinação da curva ( $b$ ) (Tabela 9) não existem diferenças significativas entre os tratamentos nas abordagens 1 e 2, indicando que o vigor das sementes submetidas aos diferentes tratamentos podem ser considerados iguais.

Na Tabela 10 é apresentado os resultados das ANOVAS construídas para cada uma das estimativas dos dois índices de germinação. Atendida as pressuposições de normalidade e homogeneidade de variâncias ( $p > 0,05$ ), não foram observadas diferenças significativas entre as doses do biorregulador quanto as estimativas da porcentagem de germinação e o tempo médio de germinação ( $p > 0,05$ ).

Os resultados produzidos pela ANOVA em relação às estimativas do tempo médio de germinação ( $\bar{t}$ ) são semelhantes aos resultados das estimativas de  $t_{50}$  apresentados pelas abordagens 1 e 2. No entanto, os resultados para o índice %G di-

Tabela 8 – Estimativas das diferenças entre as curvas ajustadas para cada dose com relação ao parâmetro de porcentagem máxima ( $d$ )

Abordagem	Doses comparadas	Estimativa	Erro padrão	Valor - p
1	0-5	0,2873	0,0374	0,0000***
	0-10	0,1315	0,0397	0,0010***
	0-20	0,1865	0,1233	0,1313
	0-40	0,1998	0,0418	0,0000***
	0-80	0,2453	0,0411	0,0000***
	5-10	-0,1558	0,0335	0,0000***
	5-20	-0,1008	0,1215	0,4072
	5-40	-0,0875	0,0359	0,0154**
	5-80	-0,0420	0,0351	0,2321
	10-20	0,0550	0,1222	0,6529
	10-40	0,0682	0,0384	0,0764
	10-80	0,1138	0,0376	0,0026***
	20-40	0,0132	0,1229	0,9142
	20-80	0,0587	0,1227	0,6321
40-80	0,0455	0,0398	0,2534	
2	0-5	0,2904	0,1574	0,0651
	0-10	0,1302	0,1725	0,4506
	0-20	0,2083	0,1707	0,2224
	0-40	0,1976	0,1679	0,2393
	0-80	0,2467	0,1651	0,1352
	5-10	-0,1602	0,1594	0,3148
	5-20	-0,0820	0,1574	0,6021
	5-40	-0,0927	0,1544	0,5480
	5-80	-0,0437	0,1513	0,7725
	10-20	0,0781	0,1725	0,6506
	10-40	0,0674	0,1698	0,6912
	10-80	0,1164	0,1670	0,4855
	20-40	-0,0106	0,1679	0,9493
	20-80	0,0383	0,1651	0,8164
40-80	0,0490	0,1622	0,7625	

\*\*Significativo ao nível de 5% de probabilidade;\*\*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade

feriram da abordagem 1, sendo condizentes com os resultados obtidos pela abordagem 2, indicados na Tabela 7.

Tabela 9 – Estimativas das diferenças entre as curvas ajustadas para cada dose com relação ao parâmetro de inclinação da curva ( $b$ )

Abordagem	Doses comparadas	Estimativa	Erro padrão	Valor - p
1	0-5	-0,1805	0,3317	0,5863
	0-10	-0,0531	0,2994	0,8590
	0-20	-0,1021	0,3497	0,7703
	0-40	0,0832	0,2900	0,7741
	0-80	-0,2660	0,3841	0,4885
	5-10	0,1273	0,3330	0,7021
	5-20	0,0784	0,3788	0,8359
	5-40	0,2638	0,3245	0,4162
	5-80	-0,0854	0,4108	0,8351
	10-20	-0,0489	0,3508	0,8891
	10-40	0,1364	0,2914	0,6396
	10-80	-0,2128	0,3851	0,5805
	20-40	0,1853	0,3428	0,5887
	20-80	-0,1639	0,4254	0,6999
	40-80	-0,3493	0,3778	0,3553
2	0-5	-0,3719	0,5510	0,5000
	0-10	-0,1183	0,4609	0,7975
	0-20	0,0159	0,5195	0,9756
	0-40	0,0372	0,4114	0,9278
	0-80	-0,3277	0,5937	0,5813
	5-10	0,2536	0,6375	0,6910
	5-20	0,3879	0,6811	0,5693
	5-40	0,4092	0,6027	0,4975
	5-80	0,0442	0,7393	0,9523
	10-20	0,1342	0,6105	0,8260
	10-40	0,1556	0,5215	0,7655
	10-80	-0,2093	0,6748	0,7565
	20-40	0,0213	0,5740	0,9703
	20-80	-0,3436	0,7161	0,6316
	40-80	-0,3650	0,6419	0,5700

Tabela 10 – Análises de variância para as estimativas dos índices de germinação

Índices de Germinação	C.Varição	g.l	Q.M	F	valor p
%G	Doses	5	0,018	0,669	0,650 <sup>ns</sup>
	Resíduo	30	0,019	-	-
$\bar{t}$	Doses	5	1,197	0,588	0,708 <sup>ns</sup>
	Resíduo	30	2,034	-	-

<sup>ns</sup> não significativo

## 4.2 Germinação de Sementes de Citrus

As curvas de germinação estimadas para as sementes de *citrumelo Swingle* (Figura 6) apresentam um percentual considerável de sementes que não germinaram até o final do experimento, entre 30% (0,3) e 70% (0,7). Até os 28 dias uma pequena diferença entre as curvas de germinação estimadas é observada entre os lotes que receberam o tratamento e o lote III (grupo controle), após essa data os lotes I, II e IV que foram tratados com o fungicida apresentaram maiores percentuais germinativos. A curva de germinação do lote III estabilizou-se aos 38 dias e teve a menor proporção de sementes germinadas, aproximadamente 0,33 (33%). A maior porcentagem de germinações foi para o lote II, 69% (0,69) (Tabela 11).

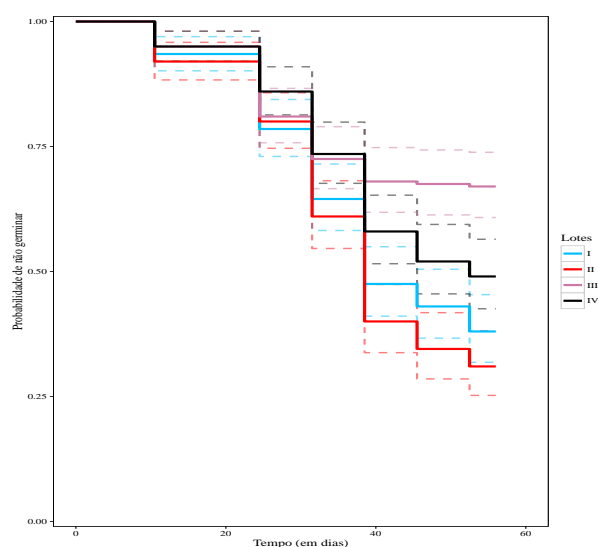


Figura 6 – Estimativa de Kaplan-Meier para os lotes de sementes de *Citrumelo Swingle* para cada um dos quatros tratamentos, respectivos intervalos de confiança (linhas tracejadas)

Dentre os modelos apresentados na Tabela 12, com base nos menores valores de AIC e BIC, o modelo LL foi o que melhor se ajustou aos dados. As estimativas dos parâmetros do modelo LL considerando as duas abordagens, com os respectivos erros padrão e intervalos de confiança são apresentados na Tabela 13.



Tabela 11 – Estimativas de Kaplan-Meier para o ensaio de germinação das sementes de *citrumelo Swingle* por tratamento

Tratamentos	Intervalos	$n_j$	$d_j$	Germinadas	Não germinadas	Erro padrão	I.C 95%
Lote-I	[0, 21)	200	13	0,065	0,935	0,017	[0,901; 0,970]
	[21, 28)	187	30	0,215	0,785	0,029	[0,730; 0,844]
	[28, 35)	157	28	0,355	0,645	0,033	[0,582; 0,715]
	[35, 42)	129	34	0,525	0,475	0,035	[0,411; 0,550]
	[42, 49)	95	9	0,570	0,430	0,035	[0,367; 0,504]
	[49, 56)	86	10	0,620	0,380	0,034	[0,318; 0,454]
Lote-II	[0, 21)	200	16	0,080	0,920	0,019	[0,883; 0,958]
	[21, 28)	184	24	0,200	0,800	0,028	[0,746; 0,857]
	[28, 35)	160	38	0,390	0,610	0,034	[0,546; 0,681]
	[35, 42)	122	42	0,600	0,400	0,034	[0,338; 0,474]
	[42, 49)	80	11	0,655	0,345	0,033	[0,285; 0,418]
	[49, 56)	69	7	0,690	0,310	0,032	[0,252; 0,381]
Lote-III	[0, 21)	200	10	0,050	0,950	0,015	[0,920; 0,981]
	[21, 28)	190	28	0,190	0,810	0,027	[0,757; 0,866]
	[28, 35)	162	17	0,275	0,725	0,031	[0,666; 0,790]
	[35, 42)	145	9	0,320	0,680	0,033	[0,618; 0,748]
	[42, 49)	136	1	0,325	0,675	0,033	[0,613; 0,743]
	[49, 56)	135	1	0,330	0,670	0,033	[0,608; 0,738]
Lote-IV	[0, 21)	200	10	0,050	0,950	0,015	[0,920; 0,981]
	[21, 28)	190	18	0,140	0,860	0,04	[0,813; 0,909]
	[28, 35)	172	25	0,265	0,735	0,031	[0,676; 0,799]
	[35, 42)	147	31	0,420	0,580	0,035	[0,515; 0,653]
	[42, 49)	116	12	0,480	0,520	0,035	[0,455; 0,594]
	[49, 56)	104	6	0,510	0,490	0,035	[0,425; 0,564]

Tabela 12 – Modelos propostos para descrição da germinação das sementes de *Citrumelo swing*, AIC e BIC

Modelo	AIC	BIC
LN	2653,990	2925,840
LL	2649,508	2921,358
W1	2668,166	2940,016
W2	2653,662	2925,512

Os correspondentes erros padrão de  $\hat{t}_{50}$ ,  $\hat{d}$  e  $\hat{b}$  apresentaram menores valores na abordagem 1. As amplitudes dos intervalos de confiança foram semelhantes entre as abordagens. Os menores valores para as estimativas dos parâmetros  $t_{50}$ ,  $d$  e  $b$  foram observados para o lote III, contrastando com os lotes I e II que apresentaram maiores valores de geminabilidade e maiores inclinações da curva.

Resultados similares foram apresentados por Silva et al. (2011) ao analisarem as sementes de *citrumelo Swingle* em diferentes estágios de maturação, submetidas a tratamentos com fungicidas. Observaram que houve uma maior redução na germinação de sementes submetidas ao tratamento controle do que quando tratadas

com diferentes doses de fungicidas. Isso se deve ao fato das sementes de citrus terem germinação lenta, tornando-as vulneráveis ao ataque de fungos, o que provoca uma diminuição na porcentagem germinativa.

Tabela 13 – Estimativas dos parâmetros (erros padrão entre parênteses e intervalos com 95% de confiança entre colchetes) do modelo LL obtidas por meio do ajuste das abordagens 1 e 2

Abordagem	Lotes	$t_{50}$	$d$	$b$
1	I	33,36 (1,60) [29,57; 37,16]	0,67 (0,04) [0,55; 0,79]	-4,73 (0,64) [-6,63; -2,82]
	II	33,70 (1,32) [30,91; 36,49]	0,74 (0,04) [0,64; 0,85]	-5,27 (0,66) [-7,18; -3,36]
	III	27,01 (1,35) [23,80; 30,22]	0,33 (0,03) [0,28; 0,38]	-6,62 (1,76) [-11,34; -1,90]
	IV	35,01 (2,63) [30,49; 39,60]	0,56 (0,07) [0,43; 0,69]	-5,05 (1,06) [-7,56; -2,54]
2	I	33,35 (3,18) [30,76; 35,94]	0,67 (0,14) [0,59; 0,75]	-4,74 (1,67) [-5,77; -3,71]
	II	33,37 (2,26) [31,23; 35,51]	0,73 (0,13) [0,66; 0,81]	-5,16 (1,39) [-6,20; -4,11]
	III	27,05 (1,91) [25,24; 28,85]	0,33 (0,13) [0,26; 0,40]	-6,65 (1,63) [-8,30; -5,00]
	IV	34,68 (2,71) [31,89; 37,47]	0,55 (0,15) [0,47; 0,64]	-5,02 (1,35) [-6,23; -3,81]

As curvas médias de germinação ajustadas pelo modelo LL para as duas abordagens podem ser visualizados na Figura 7.

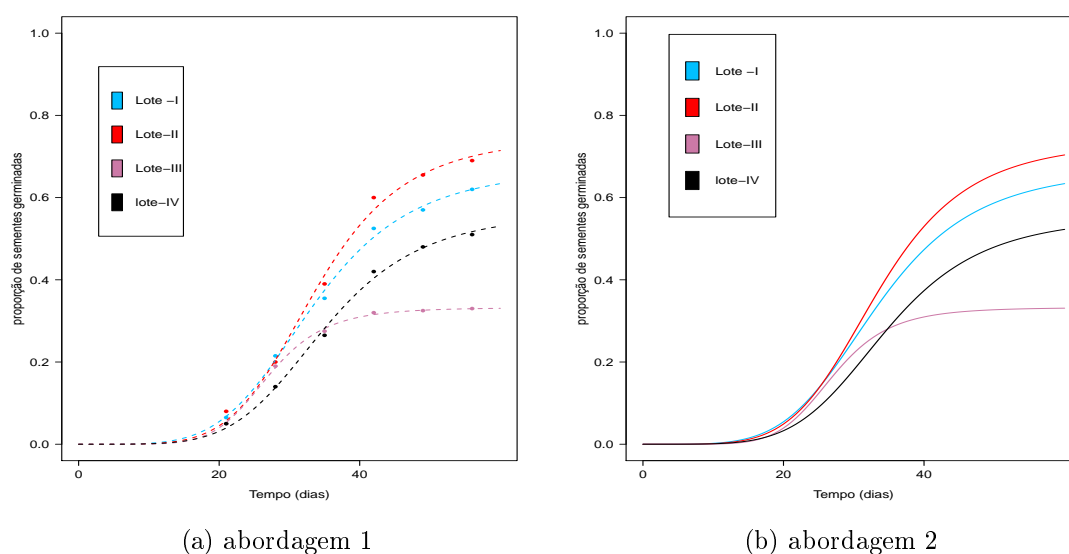


Figura 7 – Curvas médias de germinação de sementes de *citrumelo Swingle*, por tratamento, ajustadas pelo modelo LL usando as duas abordagens

Os gráficos normais dos resíduos são apresentados na Figura 8, percebe-se nitidamente uma melhor qualidade de ajuste do modelo LL aos dados, ao considerar a abordagem 2 (Figura 8(b)).

As comparações entre as curvas de germinação para os diferentes lotes, de acordo com as estimativas dos parâmetros  $d$ ,  $t_{50}$  e  $b$  para as abordagens 1 e 2 são apresentadas na Tabela 14.

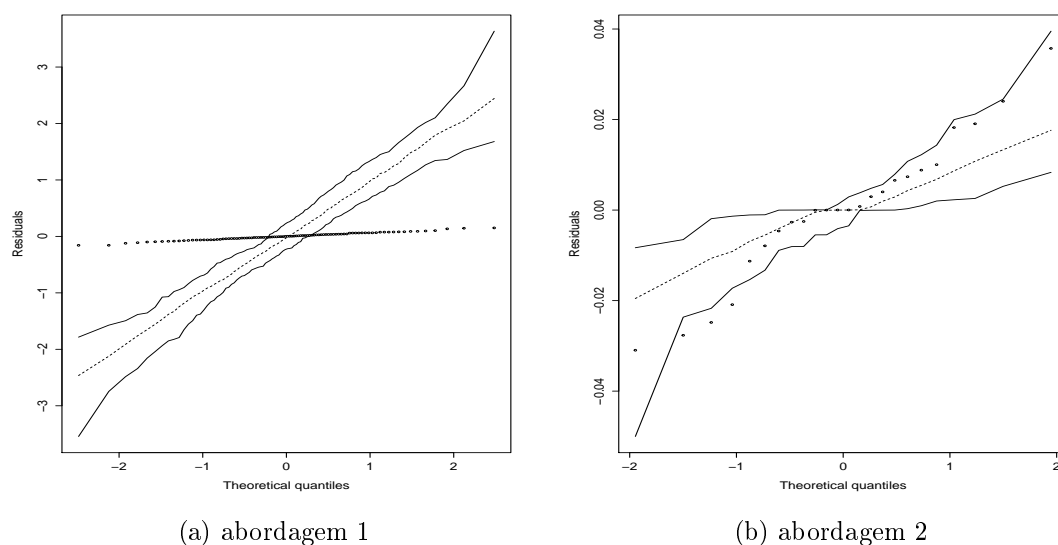


Figura 8 – Gráficos normais com envelope simulado para os resíduos dos ajustes do modelo LL usando as abordagem 1 e 2

Ao considerar a abordagem 1 o percentual máximo de germinação ( $d$ ) do lote III diferiu significativamente dos lotes I, II e IV, diferenças significativas quanto a germinabilidade também foram observadas entre os lotes II e IV. Na abordagem 2 apenas os lotes II e III diferem significativamente quanto porcentagem de germinação.

Em relação ao tempo médio de germinação,  $t_{50}$ , a curva para o lote III diferiu significativamente das curvas para os lotes I, II e IV na abordagem 1 e entre os lotes II e IV na abordagem 2, que indica que o lote III teve uma velocidade de germinação diferenciada dos demais lotes.

As abordagens 1 e 2 não apresentaram resultados divergentes em relação ao parâmetro  $b$ , ou seja, diferenças significativas não foram encontradas entre as curvas de germinação em relação ao parâmetro de inclinação, o que indica que o vigor dos lotes de sementes quanto ao processo de germinação foi o mesmo.

Na Tabela 15 são apresentadas as análises de variância para os dois índices analisados ( $\%G$ ,  $\bar{t}$ ). As pressuposições de normalidade do erro e homogeneidade de variâncias foram satisfeitas para as duas variáveis respostas ( $p > 0,05$ ). A germinabilidade ( $\%G$ ) das sementes de *citrumelo swingle* e o tempo médio de germinação ( $\bar{t}$ ) diferem pelo menos, entre dois dos lotes estudados ( $p > 0,05$ ).

Tabela 14 – Estimativas das diferenças entre as curvas de germinação para cada lote por meio do ajuste das abordagens 1 e 2, de acordo com os parâmetros  $d$ ,  $t_{50}$  e  $b$

Parâmetros	Abordagem	Lotes comparados	Estimativa	erro padrão	valor - p
$d$	1	I - II	-0,075	0,063	0,241
		I - III	0,341	0,055	0,000***
		I - IV	0,108	0,085	0,211
		II - III	0,416	0,054	0,000***
		II - IV	0,183	0,085	0,034*
		III - IV	-0,233	0,079	0,004**
	2	I - II	-0,065	0,195	0,740
		I - III	0,340	0,195	0,080
		I - IV	0,117	0,212	0,580
		II - III	0,405	0,183	0,027*
		II - IV	0,182	0,201	0,365
		III - IV	-0,223	0,200	0,266
$t_{50}$	1	I - II	-0,333	2,078	0,873
		I - III	6,357	2,098	0,003**
		I - IV	-1,684	3,082	0,586
		II - III	6,691	1,898	0,000***
		II - IV	-1,350	2,950	0,648
		III - IV	-8,0412	2,964	0,008*
	2	I - II	-0,018	3,909	0,996
		I - III	6,301	3,717	0,090
		I - IV	-1,328	4,182	0,751
		II - III	6,318	2,972	0,033*
		II - IV	-1,310	3,536	0,711
		III - IV	-7,630	3,323	0,021*
$b$	1	I - II	0,546	0,922	0,555
		I - III	1,893	1,879	0,316
		I - IV	0,324	1,242	0,794
		II - III	1,347	1,885	0,476
		II - IV	-0,222	1,250	0,859
		III - IV	-1,569	2,060	0,448
	2	I - II	0,415	1,815	0,819
		I - III	1,908	2,006	0,951
		I - IV	0,282	1,791	0,874
		II - III	1,493	2,143	0,486
		II - IV	-0,132	-0,068	0,945
		III - IV	-1,625	2,123	0,444

\*significativo ao nível de 5% de probabilidade ;\*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade; \*\*\*Significativo ao nível de 0,1% de probabilidade

Comparações entre as médias dos percentuais máximos de germinações dos lotes pelo teste de Tukey indicaram um melhor percentual germinativo para os lotes I e II, e um pior desempenho para o lote III. Em relação ao tempo médio de germinação( $\bar{t}$ ) apenas o lote III se diferenciou das médias dos demais lotes, apresentando

um menor valor.

As conclusões obtidas por meio das análises de variância para o índice de germinabilidade ( $\%G$ ) e o tempo médio de germinação( $\bar{t}$ ) difere dos resultados encontrados na abordagem 2, apresentando uma diferença significativa a mais para as variáveis respostas analisadas entre o lote III e o lote I.

Tabela 15 – Análises de variância para as estimativas dos índices de germinação e médias das estimativas dos índices - Teste de Tukey

Índices de germinação	C.Variação	g.l	Q.M	F	valor p
$\%G$	Tratamentos	3	0,0985	13,133	0,0004
	Erro	12	0,0075	-	-
$\bar{t}$	Tratamentos	3	35,61	6,08	0,009
	Erro	12	5,85	-	-
Médias					
Lotes	I	II	III	IV	
$\%G$	0,62 a	0,69 a	0,33 b	0,51 ab	
$\bar{t}$	36,49 a	36,36 a	30,91 b	37,52 a	

Médias seguidas de mesma letra nas linhas não diferem pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

### 5.1 Conclusões

No presente trabalho foi apresentada uma nova abordagem para análise de dados de germinação, como sugerido por Ritz, Pipper e Streibig (2013), que consiste no uso de modelos de dose-resposta com censura intervalar, admitindo que o número de sementes germinadas nos diversos intervalos de tempo tem distribuição multinomial. Seus resultados foram comparados com os obtidos por meio de uma abordagem tradicional, que utiliza modelos de regressão não-linear e admite que os dados apresentem distribuição normal, como também com resultados obtidos com as estimativas de índices de germinação para comparar o efeito de diferentes tratamentos.

O uso dessas abordagens em dois conjuntos de dados relativos à germinação de sementes de *Brachiaria brizantha* e de *Citrumelo Swingle*, permitiu concluir que:

- a nova proposta apresentou melhores ajustes que os obtidos pela abordagem tradicional, observados a partir dos gráficos de resíduos normais com envelope simulado;
- os erros padrão associados às estimativas dos parâmetros dos modelos calculados com a abordagem tradicional foram menores do que os obtidos com a nova proposta;
- alguns resultados das comparações de tratamentos feitos a partir das estimativas obtidas com a nova proposta divergiram das obtidas pelas abordagens tradicionais.

### 5.2 Pesquisas futuras

Diante dos problemas que surgiram durante a realização do presente trabalho, sugere-se para pesquisas futuras:

1. Estudar e implementar métodos alternativos de análise da qualidade do ajuste quando se utilizam modelos de dose-resposta com censura intervalar;

2. Estudar a inclusão de efeitos aleatórios aos parâmetros do modelo, com o intuito de resolver possíveis problemas de correlação entre as medidas repetidas e de heterogeneidade de variâncias.
3. Estudar e comparar com a nova proposta os ajustes de modelos com fração de cura (ONOFRI et al., 2011) com efeito de fragilidade, utilizando o pacote `gamlss`;
4. Estudar o uso da distribuição hipergeométrica multivariada como alternativa à distribuição multinomial;
5. Estudar a viabilidade da aplicação de testes da razão de verossimilhanças e de Wald na comparação das curvas médias.

## REFERÊNCIAS

AKAIKE, H. A. New Look at the Statistical Model Identification. **IEEE Transactions on automatic control**, Minato-ku, v. 19, n. 6, p. 716-723, 1974.

AMAT, M. E.; VARGAS, P.; GOMÉZ, J.M. Factors controlling seed germination of the Iberian critically endangered *Pseudomisopates* (Antirrhinaceae). **Plant Systematics and Evolution**, Austria, v. 300, n. 9, p. 2127-2134, 2014. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00606-014-1045-5>>. Acesso em: 9 jun. 2016.

ANDREASEN, C.; KEMEZYS, A. H.; MULLER R. The effect of fertilizer level and foliar-applied calcium on seed production and germination of *Gerbera hybrida*. **HortScience**, Virginia, v. 49, n. 1, p. 538-543, 2014.

ANJUM, T.; BAJWA, R. Importance of Germination Indices in Interpretation of Allelochemical Effects. **International Journal of Agriculture and Biology**, Pakistan, v. 7, n. 3, p. 538-543, 2005.

ATAÍDE, G.M.; BORGES, E. E. L.; FLORES, A. V.; CASTRO, R.V.O. Óxido nítrico na germinação de sementes de baixo vigor de *Dalbergia nigra*. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 38, n. 3, p. 438-444, 2015.

ATKINSON, A.C. **Plots, transformations and regression: An introduction to graphical methods of diagnostic regression analysis**. Oxford: Clarendon, 1985. 282p.

BASKIN, C.C.; BASKIN, J. M. **Seeds: Ecology, biogeography, and evolution of dormancy and germination**. New York: Academic Press, 2001. 667p.

BASKIN, J. M.; BASKIN, C. C. A classification system for seed dormancy. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 14, n. 1, p. 1-16, 2004. Disponível em: <[http://journals.cambridge.org/abstract\\_S0960258504000017](http://journals.cambridge.org/abstract_S0960258504000017)>. Acesso em: 13 Abr. 2016.

BEWLEY, J. D.; BLACK, M. **Seeds: physiology of development and germination**. 2.ed. New York: Plenum Press, 1994. 445p.

BINSFELD, J.A; BARBIERI, A.P.P.; HUTH, C.; CABRERA, I.C.; HENNING, L.M.M. Uso de bioativador, bioestimulante e complexo de nutrientes em sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 44, n. 1, p. 88-94, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399p.

BRENNECK, K., FERRAZ, F. M, SIMÕES, T. R. Germinação de sementes de *Brachiaria decumbens* sob diferentes concentrações de biorregulador, **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, São José dos Pinhais, v. 13, n. 1, p. 145-151, 2015.

BROWN, R.F.; MAYER, D.G. Representing cumulative germination. 1. A critical analysis of single-value germination indices. **Annals of Botany**, Oxford, v. 61, n. 2, p. 117-125, 1988a.



CALSAVARA, V.F.; TOMAZELLA, V.L.D.; FOGO, J.C. The effect of frailty term in the standard mixture model. **Chilean Journal of Statistics**, Santiago, v. 4, n. 2, p. 95-109, 2013.

CAMPBELL, R.K.; SORENSEN, F.C. A new basis for characterizing germination. **Journal of Seed Technology**, Washington, v. 4, n. 2, p. 24-34, 1979.

CARDOSO, E. D.; SÁ, M. E.; HAGA, K. I.; BINOTTI, F. F. S.; COSTA, E. Qualidade fisiológica e composição química de sementes de *Brachiaria brizantha* em função do condicionamento osmótico. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia, v. 2, n. 2, p. 42-48, 2015.

CONDESSA, M.B.; CARVALHO, I.A.F de.; SANTOS, B.T. A dos.; PAULA, J.E de.; GOMES, S.M.; SILVEIRA, D.; SIMEONI, L.A. Efeito de extratos foliares de três espécies de *Pouteria* (*SAPOTACEAE*) sobre a germinação e crescimento de *Lactuca sativa* L. E *Lycopersicon esculentum* Mill. **Revista de Biologia e Farmácia**, Campina-Grande, v. 9, n. 3, p. 1-18, 2013.

COLOSIMO, E.A.; GIOLO, S.R. **Análise de sobrevivência aplicada**. São Paulo: Blucher, 2006. 370p.

DEMÉTRIO, C. G. B., HINDE, J.; MORAL, R. A. **Models for overdispersed data in entomology**. Ecological modelling applied to entomology: Entomology in Focus. Switzerland: Springer, 2014. 40p.

DJKASTRA, T. K. **On Model Uncertainty and its Statistical Implications**. Lecture Notes in Economics and Mathematical Systems. Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1986. 138p.

DOREY, F. J.; LITTLE, R. J.; SCHENKER, N. Multiple imputation for threshold-crossing data with interval censoring. **Statistics in Medicine**, Malden, v. 12, n. 1, p. 1589-1603, 1993.

EL-KASSABY, Y.A.; MOSS, I.; KOLOTELO, D.; STOEHR, M. Seed germination: mathematical representation and parameters extraction. **Forest Science**, London, v. 54, n. 1, p. 220-227, 2008.

FEITOSA, F.M.; JUNIOR, I.O.A.; DAVID, A.M.S.S.; RODRIGUES, B.R.A.; DAMASCENA, N.S.; ARAÚJO, E.D.; AMARO, H.T.R. Efeito dos reguladores giberelina e citocinina na quebra de dormência de sementes de capim-andropogon. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 38, n. 1, p. 34-40, 2015.

FAMER, R.E. **Seed Ecophysiology of Temperate and Boreal Zone Forest Trees**, Florida: ST.Louis Press, 1997. 259p.

FERREIRA, A. G.; BORGHETHI, F. **Germinação de sementes do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. 323p.

FINNEY, D.J. Bioassay and the Practice of Statistical Inference. **International Statistical Institute**, Great Britain, v. 47, n. 1, p. 1-12, 1979. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/1403201>. Acesso em: 02 maio 2016.

FOX, J. The R Commander: A Basic-Statistics Graphical User Interface to R. **Journal of Statistical Software**, Austria, v. 14, n. 7, p. 1-42, 2005. Disponível em: [http://www.jstatsoft.org/v14/i09/.](http://www.jstatsoft.org/v14/i09/)> Acesso em: 10 abr. 2016.

FOX, J.; CARVALHO, M.S. The RcmdrPlugin.survival Package: Extending the R Commander Interface to Survival Analysis. **Journal of Statistical Software**, Austria, v. 49, n. 7 p. 1-22, 2012. Disponível em: <https://www.jstatsoft.org/article/view/v049i07>>. Acesso em 10 abr. 2016.

GASPAR-OLIVEIRA, C. M.; MARTINS, C. C; NAKAGAWA, J.; CAVARIANI, C. Duração do teste de germinação de *Brachiaria brizantha* cv. marandu (Hochst.ex A. Rich.) Stapf. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 30, n. 3, p. 30-38, 2008.

GREENWOOD, M. The natural duration of cancer. **Reports on Public Health and Medical Subjects**, London: Her Majesty's Stationery Office, v. 33, n. 1, p. 1-26, 1926.

GOMEZ, G.; CALLE, M.L.; OLLER, R.; LANGHOR, K. Tutorial on methods for interval-censored data and their implementation in R. **Statistical Modelling**, Thousand Oaks, v. 9, n. 4, p. 259-297, 2009. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/1403201>. Acesso em: 02 maio 2016.

HAY, F. R.; MEAD, A.; BLOOMBERG, M. Modelling seed germination in response to continuous variables: use and limitations of probit analysis and alternative approaches. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 24, n. 3, p. 165-186, 2014. Disponível em: [http://journals.cambridge.org/abstract\\_S096025851400021X](http://journals.cambridge.org/abstract_S096025851400021X)>. Acesso em: 14 mar. 2016.

INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA E APLICADA -IPEA. **Megatendências mundiais 2030**: o que entidades e personalidades internacionais pensam sobre o futuro do mundo?: contribuição para um debate de longo prazo para o Brasil. Brasília: Ipea, 2015. 175p. Disponível em: [http://www.ipea.gov.br/portal/images/stories/PDFs/livros/livros/151013\\_megatendencias\\_mundiais\\_2030.pdf](http://www.ipea.gov.br/portal/images/stories/PDFs/livros/livros/151013_megatendencias_mundiais_2030.pdf)>. Acesso em: 01 maio 2016.

JAGER, T.; ALBERT, C.; PREUSS, T. G.; ASHAUER, R. General unified threshold model of survival- a toxicokinetic- toxicodynamic framework for ecotoxicology. **Environmental Science & Technology**, Washington, v. 45, n. 7, p. 2529-2540, 2011. Disponível em: [http://journals.cambridge.org/abstract\\_S0960258511000547](http://journals.cambridge.org/abstract_S0960258511000547)>. Acesso em: 5 mar. 2016.

JANSSEN, J.G.M. A method for recording germination curves. **Annals of Botany**, Exeter, v. 37, n. 1, p. 705-708, 1973.

KAPLAN, E.L.; MEIER, P. Factors nonparametric estimation from incomplete observations. **Journal of the American Statistical Association**, Austria, v. 53, n. 282, p. 457-481, 1958. Disponível em: < <http://www.jstor.org/stable/2281868>>. Acesso em: 9 jun. 2016.

KOMÁREK, A.; LESAFFRE, E. The regression analysis of correlated interval-censored data: illustration using accelerated failure time models with flexible distributional assumptions. **Statistical Modelling**, Praga, v. 9, n. 4, p. 299-319, 2009.

LACERDA, A. L de S.; VICTORIA FILHO, R. Curvas dose-resposta em espécies de plantas daninhas com o uso do herbicida glyphosate. **Bragantia**, Campinas, v. 63, n. 1, p. 73-79, 2004.

LAWLESS, J. F. **Statistical models and methods for lifetime data**. 2.ed. New Jersey: John Wiley & Sons. 2003. 637p.

LOPES, A.C.A.; NASCIMENTO, W.M. Análise de Sementes de Hortaliças **Circular Técnica-Embrapa**. Brasília, n. 83, p. 1-9, 2009. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/783114/analise-de-sementes-de-hortalicas>>. Acesso em: 17 mar. 2016.

MANSO, R; FORTIN, M; CALAMA, R; PARDOS, M. Modelling seed germination in forest tree species through survival analysis. The Pinus pinea L. case study. **Forest Ecology and Management**, Netherlands, v. 289, n. 1, p. 515-524, 2013.

McNAIR, J.; SUNKARA, A.; FORBISH, D. How to Analyse Seed Germination Data Using Statistical Time-to-event Analysis: Non-parametric and Semi-parametric Methods. **Seed Science Research**, Cambridge, v. 22, n. 2, p. 77-95, 2012. Disponível em: <[http://journals.cambridge.org/abstract\\_S0960258511000547](http://journals.cambridge.org/abstract_S0960258511000547)>. Acesso em: 20 nov. 2015.

MILLER, G.A; CHAPMAN, J.P. Misunderstanding Analysis of Covariance. **Journal of Abnormal Psychology**, Washington, DC, v. 110, n. 1, p. 40-48, 2001.

MISCHAN, M.M.; PINHO, S.Z. **Modelos não lineares funções assintóticas de crescimento**. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2014. 187p.

MORAL, R.A.; HINDE J.; DEMÉTRIO, C.G B. **hnp: Half-Normal Plots with Simulation Envelopes**. São Paulo: CRAN, 2016. 28p.

MORAL, R.A. **Modelagem estatística e ecológica de relações tróficas em pragas e inimigos naturais**. 2013. 173p. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

MOTA, A.R.R da.; SILVA, R.J da.; SOUZA, P.B de.; OLIVEIRA, L.M de.; SANTOS, A.C.M dos. Efeito da substância húmica na germinação de sementes de Myracrodruon urundeuva Fr. All. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Pombal, v. 10, n. 3, p. 26-30, 2015.

O'NEILL, M. E.; THOMSON, P. C.; JACOBS, B. C.; BRAIN, P.; BUTLER, R. C.; TURNER, H.; MITAKDA, B. Fitting and comparing seed germinations models with a focus on the inverse normal distribution. **Australian and New Zealand Journal of Statistics**, Malden, v. 46, n. 3, p. 349-366, 2004.

ONOFRI, A.; GRESTA, F.; TEI, F.; MORTIMER, A.M.; COUSENS, R.D. A new method for the analysis of germination and emergence data of weed species. **Weed Research**, Malden, v. 50, n. 3, p. 187-198, 2010.

ONOFRI, A.; MESGARAN, M.B.; TEI, F.; COUSENS, R.D. The cure model: an improved way to describe seed germination? **Weed Research**, Malden, v. 51, n. 5, p. 516-524, 2011.

PENG, Y.; TAYLOR, J.M.G. Mixture cure model with random effects for the analysis of a multi-center tonsil cancer study **Statistics in medicine**, Malden, v. 30, n. 1, p. 211-223, 2011.

PINHEIRO, J.C.; BATES, D.M. **Mixed-Effects Models in S and S-PLUS**. New York: Springer-Verlag, 2000. 528p.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da Semente**. 2.ed. Brasília: ABEAS, 1985. 298p.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, 2015. Disponível em: <<http://www.r-project.org>>. Acesso em: 24 abr. 2015.

RANAL, M.A.; SANTANA, D.G. How and why to measure the germination process? **Brazilian Journal of Botany**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 1-11, 2006.

RANAL, M.A.; SANTANA, D.G. FERREIRA, W. R.; MENDES-RODRIGUES, C. Calculating germination measurements and organizing spreadsheets **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 849-855, 2009.

RITZ, C. Toward a unified approach to dose-response modeling in ecotoxicology **Environmental Toxicology and Chemistry**, Ann Arbor, v. 29, n. 1, p. 220-229, 2010.

RITZ, C.; BATY, F.; STREIBIG, J.C.; GERHARD, D. Dose-Response Analysis Using R **Plos One**, California, v. 10, n. 12, p. 1-13, 2015. Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0146021>>. Acesso em: 02 abr. 2016.

RITZ, C.; PIPPER, C.B.; STREIBIG, J.C. Analysis of germination data from agricultural experiments **European Journal of Agronomy**, Denmark, v. 45, p. 1-6, 2013.

RITZ, C.; STREIBIG, J.C. Bioassay Analysis using R **Journal of Statistical Software**, Austria, v. 12, n. 5 p. 1-22, 2005.

RITZ, C.; STREIBIG, J.C. **Nonlinear Regression with R**. New York: Springer Science e Business Media, 2008. 144p.

ROBERTS, E.H. **Viability of Seeds**. London: Springer Science e Business Media, 1972. 448p.

RODRIGUEZ, J. P.; JACOBSEN, S.E.; SORENSEN, M.; ANDREASEN, C. Germination Responses of Cañahua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen) to Temperature and Sowing Depth: A Crop Growing Under Extreme Conditions. **Journal of Agronomy and Crop Science**, Malden, v. 1, n. 1, p. 1-12, 2016.

ROCKEFELLER FOUNDATION; GLOBAL BUSINESS NETWORK-GBN. **Scenarios for the future of technology and international development**. New York: Rockefeller Foundation; GBN, 2010. 53p. Disponível em: <<http://goo.gl/mI7tAF>>. Acesso em: 01 maio 2016.

SAATKAMP, A.; AFFRE, L.; DUTOIT, T.; POSCHOLD, P. Germination traits explain soil seed persistence across species: the case of Mediterranean annual plants in cereal fields **Annals of Botany**, Oxford, p. 415-426, 2011.

SANTANA, D.G.; RANAL, M.A. **Análise da Germinação**: Um enfoque estatístico. Brasília: UNB, 2004. 247p.

SANTOS, P.E. de C.; SOUZA, P.I. de M. de; CARMONA, R.; FAGIOLI, M.; SEPHAR, C.R.; VILLAS BÔAS, H.D. da C. Semente é tecnologia. ed. Especial Abrasem. **Agroanalysis**, São Paulo, p. 31-37, 2014.

SANTOS, C. A. C dos.; PEIXOTO, C.P.; VIEIRA, E. L.; CARVALHO, E. V.; PEIXOTO, V. A. B. Stimulate na germinação de sementes, emergência e vigor de plântulas de girassol. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 2, p. 605-616, 2013.

ŠARČEVIC, J.; GUNJAČA, H. Survival analysis of the wheat germination data. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON INFORMATION TECHNOLOGY INTERFACES, 22., 2000, Pula. **Conference paper...** Pula: ITI, 2000. p. 307-310.

SCHABENBERGER, O.; PIERCE F. J. **Contemporary Statistical Models for the Plant and Soil Sciences**. Florida: CRC Press, 2002. 760p.

SCOTT, S. J.; JONES, R. A.; WILLIAMS, W. A. Review of Data Analysis Methods for Seed Germination. **Crop Science**, Madison, v. 24, n. 6, p. 1192-1199, 1984.

SCHWARZ, G. Estimating the dimensional of a model. **Annals of Statistics**, Hayward, v. 6, n. 2, p. 461-464, 1978.

SEEFELDT, S. S.; JENSEN, J. E.; FUERST, P. Log-Logistic Analysis of Herbicide Dose-Response Relationships. **Weed Technology**, Lawrence, v. 9, n. 2, p. 218-227, 1995.

SILVA JUNIOR, E. G. da; MAIA, J. M.; SILVA, A. F. da; SANTOS, E. E de.S.; RECH, E. G.; ALMEIDA, R. A de. Influência de composto orgânico na germinação e desenvolvimento inicial de melancia. **Revista de Ciências Agrárias**, Recife, v. 11, n. 1, p. 1-13, 2015.

SILVA, P. H. D da. A SAS macro to generate normal and half-normal plots with simulated envelope. **Revista Brasileira de Biometria**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 460-473, 2014.

SILVA, T. T. de A.; GUIMARAES, R. M.; PINHO, É. V. de R. V.; ABREU, L. A. de S. Storage of 'Swingle' *citrumelo* seeds in different maturation stages subjected to fungicide treatment. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 768-776, 2011.

SILVEIRA, S.F da.; LUZ, V.K da.; WOLTE, D.D.; SANTOS, F.I.C dos.; VIANA, T.P.; FERNANDES, B.S.; OLIVEIRA, D. de. C.; SOUSA, R.O de.; MAIA, L.C da.; OLIVEIRA, A. C de. Resposta de plântulas de aveia ao estresse por ácidos acético e butírico. **Bragantia**, Campinas, v. 73, n. 4, p. 345-356, 2014.

SOUZA, A.P de.; FERREIRA, F.A.; SILVA, A.A da.; CARDOSO, A.A.; RUIZ, H.A. Uso da equação logística no estudo de dose-resposta de glyphosate e imazapyr por meio de bioensaios. **Planta daninha**, Viçosa, v. 18, n. 1, p. 17-28, 2000.

SOUSA, I. F.; KUNZLE NETO., J. E.; MUNIZ, J. A., GUIMARÃES, R. M., SAVIAN, T. V.; MUNIZ, F. R. Fitting nonlinear autoregressive models to describe coffee seed germination. **Ciência. Rural**, Santa Maria, v.44, n.11, p.2016-2021, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20131341>>. Acesso em: 20 jun. 2015.

THOMSON, A. J.; EL-KASSABY, Y. A. Interpretation of seed-germination parameters. **Kluwer Academic Publishers**, Netherlands, v. 7, n. 1, p. 123-132, 1993.

TURNBULL, B. W. The empirical distribution function with arbitrarily grouped, censored and truncated data. **Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)**, London, v. 38, n. 3, p. 290-295, 1976. Disponível em: <<http://www.jstor.org/stable/2984980>>. Acesso em: 20 maio 2016

UNITED STATES. National Intelligence Council. **Global trends 2030: alternative worlds**. Washington: NIC, 2012a. 140p. Disponível em: <<http://goo.gl/8gjl4U>>. Acesso em: 01 maio 2016.

ZEILEIS, A. Object-oriented Computation of Sandwich Estimators **Journal of Statistical Software**, Austria, V. 16, n. 9 p. 1-16, 2006.



## APÊNDICES





## APÊNDICE A - Programação para análise dos dados

```
##### pacotes necessários para realização #####
require(survival)
require(ggplot2)
require(Rcmdr)
require(RcmdrPlugin.KMggplot2)
require(drc)
require(plyr)
require(ggplot2)
require(nlstools)
require(lmtest)
require(sandwich)
require(hnp)
require(survival)
### Estatística não paramétrica de Kaplan-Meier- autoexplicativo
#opção 1: Rcomander - Plugin.KMggplot2
#opção 2: Rcomander - Plugin.survival
#ou usando o pacote survival
#Plot Kaplan-Meier
#Ajuste Kaplan-Meier e plot
#time=tempo médio do intervalo
fit <- survfit(Surv(time, status) ~ trat, data = citrus)
plot(fit, lty = 2:3)

##Análise de variância das medidas de germinação de sementes de citrus
require(ExpDes)
require(ExpDes.pt)
dados<-read.table("medcitrus.txt", header=TRUE)
head(dados)
attach(dados)
dic(lote, TMG, quali = TRUE, mcomp = "tukey", nl = FALSE,
hvar='Bartlett', sigT = 0.05, sigF = 0.05)
dic(lote, gt, quali = TRUE, mcomp = "tukey", nl = FALSE,
hvar='Bartlett', sigT = 0.05, sigF = 0.05)
# ou
#variável porcentagem de germinação máxima
dados$lote<-factor(dados$lote)
modelo1 <- aov(gt ~ lote, data=dados)
anova(modelo1)
# Análise dos resíduos
#(default - Ha: autocorrelação positiva)
dwtest(gt ~ lote, data=dados) # teste de independência dos resíduos
shapiro.test(residuals(modelo1)) # teste de normalidade dos resíduos
bartlett.test(resid(modelo1),lote) # teste de homogeneidade das variâncias
#ok
# Para a ANOVA das sementes de Brachiaria o procedimento é o mesmo descrito acima.

# Ajustes para modelos não lineares - usando o tempo até a ocorrência do evento - MV
rm(list=ls(all=TRUE))
cff<-read.table("cp.txt", header=TRUE)
m1<-drm(germ.dia ~ starttime+endtime, trat, data=cff, fct=LL.3(), type="event")
coefest(m1,vcov.=sandwich)
confint(m1, vcov.=sandwich)
compParm(m1, "b", "-", vcov=sandwich)
compParm(m1, "d", "-", vcov=sandwich)
compParm(m1, "e", "-", vcov=sandwich)
```

```

# Ajuste-modelo de dose resposta - considerando a distribuição a distribuição normal -MMQ

#Análises dados citrus
d1<-read.table("citrusnl.txt", header=TRUE)
mn2<-drm(germ/50~tempo,data=d1,lote, fct=LL.3())
confint(mn2, vcov.=sandwich)
coefTest(mn2, vcov.=sandwich)
hnp(residuals(mn2), halfnormal = T)
compParm(mn2, "b", "-", vcov=sandwich, od=TRUE)
compParm(mn2, "d", "-", vcov=sandwich,od=TRUE)
compParm(mn2, "e", "-", vcov=sandwich, od=TRUE)
ED(mn2,50,interval="delta",vcov.=sandwich,od=TRUE)

#Construção de gráficos
#Logístico
# não linear
plot(mn2,log="" ,ylim=c(0,1), xlim=c(0,60),ylab="proporção de sementes germinadas",
      xlab="Tempo (dias)",col=c("deepskyblue","red", "#CC79A7","black"),pch=16, lty=2,lwd=2,
      legend=FALSE)
#tempo do evento
plot(m4,log="" ,ylim=c(0,1), xlim=c(0,60),ylab="proporção de sementes germinadas",
      xlab="Tempo (dias)",col=c("deepskyblue","red", "#CC79A7","black"),pch=16, lty=1,lwd=2,
      legend=FALSE)

# Envelope simulado
#modelo não linear
hnp(mn2)
#tempo do evento

#envelope simulado

d.fun <- function(obj) resid(obj)
s.fun <- function(n, obj) {
M1 <- matrix(fitted(m4), byrow=T, nrow=4)
M1 <- cbind(0, M1)
M2 <- apply(M1, 1, diff)
M2 <- rbind(M2, 1 - M1[,ncol(M1)])
M3 <- list()
for(i in 1:ncol(M2)) M3[[i]] <- M2[,i]
M4 <- lapply(M3, function(x) as.numeric(t(rmultinom(ncol(M2), 50, x))))
y.new <- unlist(M4)
return(y.new)
}
f.fun <- function(y.) drm(y. ~ starttime+endtime, trat, fct=LL.3(), data=cff, type="event")

h1 <- try(hnp(fit0, newclass=T, halfnormal=T, resid.type="studentised", diagfun=d.fun,
simfun=s.fun, fitfun=f.fun, verb=T, sim=200, conf=1) )

```