

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO E ANÁLISE DE IMAGENS
MULTIESPECTRAIS PARA CLASSIFICAÇÃO DE SEMENTES DE CRAMBE
QUANTO AO POTENCIAL FISIOLÓGICO**

Ana Lucia Aranha da Costa
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2024**

ANA LUCIA ARANHA DA COSTA

**ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO E ANÁLISE DE IMAGENS
MULTIESPECTRAIS PARA CLASSIFICAÇÃO DE SEMENTES DE CRAMBE
QUANTO AO POTENCIAL FISIOLÓGICO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Luiz A Dos Santos Dias

Coorientador: Laercio Junio da Silva

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2024**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

C837e
2024

Costa, Ana Lucia Aranha da, 1999-

Espectroscopia no infravermelho próximo e análise de imagens multiespectrais para classificação de sementes de crambe quanto ao potencial fisiológico / Ana Lucia Aranha da Costa. – Viçosa, MG, 2024.

1 dissertação eletrônica (59 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Luiz Antônio dos Santos Dias.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Agronomia, 2024.

Referências bibliográficas: f. 54-59.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.764>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. *Crambe abyssinica* - Semente. 2. Sementes - Testes. 3. Análise espectral. 4. Espectroscopia de infravermelho. I. Dias, Luiz Antônio dos Santos, 1957-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. III. Título.

CDD 22. ed. 633.85

ANA LUCIA ARANHA DA COSTA

**ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO E ANÁLISE DE IMAGENS
MULTIESPECTRAIS PARA CLASSIFICAÇÃO DE SEMENTES DE CRAMBE
QUANTO AO POTENCIAL FISIOLÓGICO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 26 de agosto de 2024.

Assentimento:

Ana Lucia Aranha da Costa
Autora

Luiz Antonio Dos Santos Dias
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pela autora em 20/11/2024 às 15:12:30 e pelo orientador em 20/11/2024 às 15:21:05. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **UC78.AW4J.S6SG** e clique no botão 'Validar documento'.

À minha família! É tudo por vocês.

AGRADECIMENTOS

A Deus e ao Espírito Santo, por iluminar minha inteligência e jornada, para que tudo ocorresse da melhor forma.

À Sagrada Família e a todos os Santos, por rogarem e atenderem minhas preces.

Aos meus pais, Reinaldo de Carvalho Costa e Marinete Nazaré Aranha, pelo amor, apoio e incentivo aos meus sonhos.

À minha madrastra, Socorro Pontes da Silva, pelas orações e preocupação.

Aos meus irmãos: Ana Carolina, Matheus, Josias e Yasmin, por todo amor, amizade e torcida.

Ao meu primo, Carlos, por toda ajuda.

Às minhas amigas: Ana Clara Sousa e Adrielle Carvalho, pela amizade, apoio e presença em mais essa etapa de nossas vidas.

Ao meu orientador, Luiz Antônio dos Santos Dias, pela orientação, amizade e por me acolher em seu laboratório durante o mestrado.

Ao meu coorientador, Laércio Junio da Silva, pela amizade, orientações, confiança, oportunidade e paciência em me ensinar durante o mestrado.

Aos integrantes do laboratório de Agroenergia: Andressa Alves, Gabriel Blasques, Guilherme Rodrigues, Maurício Araújo e Saulo Fabrício, pela companhia, conversas, ajuda e amizade.

Aos integrantes do GSem: Júlia Martins, Marcelo Limão, Maricélio Souza, Cleidiane Rodrigues, Amanda Ramos, Fernanda Mara, Luciano Marcelino e Tércio Carvalho, pela amizade e ajuda na condução e avaliação do meu experimento.

Ao Bruno Noronha, pela ideia e execução na criação do protótipo CromaSeed.

À Fundação Mato Grosso do Sul (FMS), pela concessão das sementes.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

E a todos os professores e aqueles que, de alguma forma, ajudaram e estiveram presentes nesta etapa da minha vida acadêmica e profissional. Muito obrigada!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de

Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

COSTA, Ana Lucia Aranha da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2024. **ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO E ANÁLISE DE IMAGENS MULTIESPECTRAIS PARA CLASSIFICAÇÃO DE SEMENTES DE CRAMBE QUANTO AO POTENCIAL FISIOLÓGICO**. Orientador: Luiz Antonio Dos Santos Dias. Coorientador: Laercio Junio da Silva.

A espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) e a análise de imagens multiespectrais (MSI) surgem como ferramentas promissoras para economizar tempo e recursos na indústria e nos laboratórios de análise de sementes, por permitirem a rápida pré-seleção de lotes de sementes, além de não necessitarem do uso de reagentes químicos para obtenção de seus resultados. As aplicações das técnicas NIR e MSI permitem discriminar os níveis de potencial fisiológico dos lotes de sementes de maneira rápida e precisa. O objetivo deste trabalho foi investigar a viabilidade de utilização do NIR e de um protótipo UV-VIS-NIR, utilizado para obtenção de imagens multiespectrais, em associação com os testes fisiológicos tradicionais, para classificar lotes de sementes de crambe quanto ao seu potencial fisiológico. Para classificação física e fisiológica das sementes de crambe, foram utilizados 12 lotes, sendo quatro linhagens e três lotes de cada. As sementes foram avaliadas por meio do teste de raios X e dos testes de germinação e crescimento de plântulas. No primeiro experimento, foram obtidos espectros NIR das amostras de sementes, com total de 12 leituras por lote. Os espectros originais das amostras de sementes foram pré-processados por meio de diferentes técnicas, sendo elas: Standard Normal Variate (SNV); 1ª derivada; 2ª derivada; 1ª e 2ª derivada de Savitzky-Golay (SG), além das combinações entre SNV e 1ª e 2ª derivada. Os lotes foram segmentados em duas classes, com base no potencial fisiológico: igual ou acima de 85% de germinação (maior potencial fisiológico) e abaixo de 85% de germinação (menor potencial fisiológico). Fez-se o uso dos espectros pré-processados para construção do modelo de classificação por meio do método Partial Least Squares – Discriminant Analysis (PLS-DA), sendo que o melhor modelo foi obtido com os espectros pré-processados pela técnica da 1ª derivada de SG. No segundo experimento, utilizando o protótipo UV-VIS-NIR, foram capturadas imagens multiespectrais de oito repetições de 25 sementes para cada um dos 12 lotes avaliados. As imagens foram obtidas nos comprimentos de onda de 395, 460, 520, 585, 620, 740, 850 e 940

nm, totalizando 768 imagens. Posteriormente, foi feita a extração dos valores de pixel da área segmentada de cada semente nas imagens multiespectrais com auxílio do software ImageJ. Os dados obtidos a partir das imagens foram convertidos em reflectância e os espectros originais foram submetidos aos métodos de pré-processamento: Standard Normal Variate (SNV); Multiplicative Scatter Correction (MSC); 2ª derivada; e 1ª derivada de Savitzky-Golay (SG). As sementes de cada lote foram segmentadas em duas classes, assim como no primeiro experimento: igual ou acima de 85% de germinação (maior potencial fisiológico) e abaixo de 85% de germinação (menor potencial fisiológico). Os espectros pré-processados foram utilizados para a construção de modelos de classificação por meio do método Random Forest (RF). Foi possível observar que dos 238 espectros utilizados para validação do modelo de imagens multiespectrais, 195 espectros foram alocados corretamente em suas classes de acordo com seu maior e menor potencial fisiológico. No primeiro experimento, o modelo PLS-DA obtido a partir dos espectros pré-processados por meio da 1ª derivada de SG apresentou 0,96 de acurácia e 0,92 de coeficiente Kappa, para os dados de validação, com quatro regiões (I: 1300 – 1400 nm; II: 1800 – 1900 nm; III: 2000 – 2100 nm, IV: 2250 – 2300 nm) sendo as mais importantes para distinguir as classes de potencial fisiológico das sementes de crambe. Já no segundo experimento, o modelo RF obtido a partir dos espectros pré-processados por meio da técnica MSC apresentou 0,81 de acurácia e 0,62 de coeficiente Kappa, para os dados de validação, sendo os comprimentos de onda: I: 385 nm; II: 740 nm; III: 850 nm; IV: 940 nm, os mais importantes para separação das classes de sementes de crambe com base no seu potencial fisiológico. Conclui-se que a espectroscopia NIR e a análise de imagens multiespectrais são ferramentas promissoras para serem utilizadas para classificação de lotes de sementes de crambe quanto ao potencial fisiológico.

Palavras-chave: crambe abyssinica hochst. ex re fr.; nir.; quimiometria.; reflectância.; qualidade de sementes.; modelos de classificação.

ABSTRACT

COSTA, Ana Lucia Aranha da, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2024. **NEAR-INFRARED SPECTROSCOPY AND MULTISPECTRAL IMAGE ANALYSIS FOR CLASSIFYING CRAMBE SEEDS ACCORDING TO PHYSIOLOGICAL POTENTIAL.** Adviser: Luiz Antonio Dos Santos Dias. Co-adviser: Laercio Junio da Silva.

Near-infrared spectroscopy (NIR) and multispectral imaging (MSI) analysis are promising tools for saving time and resources in the seed analysis industry and laboratories, as they enable rapid pre-selection of seed lots without the need for chemical reagents. Applications of NIR and MSI techniques allow rapid and accurate discrimination of seed lot physiological potential levels. This study aimed to investigate the feasibility of using NIR and a UV-VIS-NIR prototype, used for obtaining multispectral images, in association with traditional physiological tests to classify crambe seed lots according to their physiological potential. For physical and physiological classification of crambe seeds, 12 lots were used, comprising four lineages with three lots each. The seeds were evaluated through X-ray, germination, and seedling growth tests. In the first experiment, NIR spectra were obtained from seed samples, with a total of 12 readings per lot. The original seed spectra were preprocessed using various techniques: Standard Normal Variate (SNV), first derivative, second derivative, Savitzky-Golay (SG) first and second derivatives, as well as combinations between SNV and the first and second derivatives. Lots were segmented into two classes based on physiological potential: equal to or above 85% germination (higher physiological potential) and below 85% germination (lower physiological potential). The preprocessed spectra were used to construct a classification model through the Partial Least Squares – Discriminant Analysis (PLS-DA) method, with the best model achieved using spectra preprocessed with the SG first derivative technique. In the second experiment, using the UV-VIS-NIR prototype, multispectral images of eight repetitions of 25 seeds were captured for each of the 12 lots evaluated. Images were acquired at wavelengths of 395, 460, 520, 585, 620, 740, 850, and 940 nm, totaling 768 images. Pixel values from the segmented seed area in each multispectral image were extracted using ImageJ software. The data obtained from the images were converted into reflectance, and the original spectra were subjected to preprocessing methods: SNV, Multiplicative Scatter Correction (MSC), SG

second derivative, and SG first derivative. The seeds in each lot were segmented into two classes, as in the first experiment: equal to or above 85% germination (higher physiological potential) and below 85% germination (lower physiological potential). The preprocessed spectra were used to build classification models through the Random Forest (RF) method. Among the 238 spectra used for model validation from multispectral images, 195 were correctly allocated according to their higher or lower physiological potential. In the first experiment, the PLS-DA model derived from SG first derivative preprocessed spectra showed an accuracy of 0.96 and a Kappa coefficient of 0.92 for validation data, with four regions (I: 1300–1400 nm; II: 1800–1900 nm; III: 2000–2100 nm, IV: 2250–2300 nm) being the most important for distinguishing crambe seed physiological potential classes. In the second experiment, the RF model derived from MSC-preprocessed spectra presented an accuracy of 0.81 and a Kappa coefficient of 0.62 for validation data, with the wavelengths I: 385 nm, II: 740 nm, III: 850 nm, IV: 940 nm being the most significant for class separation of crambe seeds based on physiological potential. It is concluded that NIR spectroscopy and multispectral imaging analysis are promising tools for classifying crambe seed lots based on physiological potential.

Keywords: *crambe abyssinica* hochst. ex r.e. fr. ; nir.; chemometrics. ; reflectance.; seed quality. ; classification models.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Imagens das sementes de crambe linhagem FMS 1101 nos oito comprimentos de onda geradas utilizando o protótipo CromaSeed.	25
Figura 2. A: Imagem radiográfica das sementes de crambe. B: Semente preenchida com sua respectiva plântula normal. C: Semente com espaço vazio e sua respectiva plântula anormal.	31
Figura 3. Espectros brutos médios de amostras de sementes de Crambe abyssinica em duas classes de acordo com o potencial fisiológico.	40
Figura 4. Matriz de confusão da classificação dos lotes de sementes de crambe de acordo com as duas classes de potencial fisiológico por meio do modelo PLS-DA utilizando-se os espectros pré-processados com o filtro da primeira derivada de Savitzky-Golay.	43
Figura 5. Importância das faixas de comprimento de onda para classificação dos lotes de sementes de Crambe abyssinica de acordo com o potencial fisiológico.	44
Figura 6. Espectros brutos médios das sementes de Crambe abyssinica obtidos por meio da análise de imagens multiespectrais de duas classes de acordo com o potencial fisiológico. ...	47
Figura 7. Matriz de confusão da classificação dos lotes de sementes de crambe em duas classes de acordo com o potencial fisiológico por meio do modelo RF utilizando-se os espectros pré-processados com a técnica Multiplicative Scatter Correction.	50
Figura 8. Importância dos comprimentos de onda para o modelo de classificação RF quanto ao potencial fisiológico de sementes de Crambe abyssinica.	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Médias dos parâmetros físicos das sementes de crambe obtidos por meio da análise das imagens radiográficas.....	34
Tabela 2. Médias de umidade e dos parâmetros avaliados no teste de germinação para os 12 lotes de sementes de crambe.....	35
Tabela 3. Médias dos parâmetros avaliados no teste de crescimento de plântulas de 12 lotes de sementes de crambe.	37
Tabela 4. Divisão de classes de acordo com potencial fisiológico das sementes de crambe. Maior potencial fisiológico: maior ou igual a 85% de germinação. Menor potencial fisiológico: menor que 85% de germinação.	39
Tabela 5. Valores de acurácia e coeficiente Kappa para os dados de validação dos modelos de classificação obtidos por meio da PLS-DA, com diferentes técnicas de pré-processamento, para avaliação dos lotes de sementes de crambe de acordo com suas classes de potencial fisiológico	41
Tabela 6. Valores de acurácia e coeficiente Kappa para os dados de validação do modelo Random Forest (RF) com diferentes técnicas de pré-processamento, para classificação dos lotes de sementes de crambe de acordo com seu potencial fisiológico.....	48

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BOD – *Biochemical Oxygen Demand*

FMS – Fundação Mato Grosso do Sul

GA₃ – *Gibberellic Acid 3*

ISTA – *International Seed Testing Association*

LUMO – *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*

NIR – *Near Infrared Spectroscopy*

PLS-DA – *Partial Least Squares - Discriminant Analysis*

SG – Savitzky-Golay

SNV – *Standard Normal Variate*

UR – Umidade Relativa

AOSA – *Association of Official Seed Analysts*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1. A cultura do crambe	16
2.3. Novas alternativas para avaliação do potencial fisiológico de sementes	19
2.4. Teste de raios X em sementes	19
2.5. Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR) em sementes	20
2.6. Análise de Imagens Multiespectrais	22
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1. Local de condução do experimento	23
3.2. Formação dos lotes – Envelhecimento artificial	23
3.3. Determinação do grau de umidade	23
3.4. Obtenção dos espectros NIR	23
3.5. Obtenção das imagens radiográficas e teste de raios X	24
3.6. Obtenção das imagens multiespectrais	24
3.7. Teste de germinação e crescimento de plântulas	25
Experimento I – Espectroscopia no Infravermelho Próximo – NIR para classificação das sementes quando ao potencial fisiológico	27
Experimento II – Análise de imagens multiespectrais para classificação da qualidade fisiológica das sementes	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4.1. Caracterização da qualidade física dos lotes de acordo com as imagens radiográficas	31
4.2. Caracterização da qualidade fisiológica dos lotes de sementes	35
Experimento I – Espectroscopia no Infravermelho Próximo – NIR para classificação das sementes em classes de potencial fisiológico	40
Experimento II – Análise de imagens multiespectrais para classificação de sementes de crambe quanto ao potencial fisiológico	47
5. CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS	54

1. INTRODUÇÃO

O crambe (*Crambe abyssinica* Hochst. Ex RE Fr.) é uma oleaginosa anual de ciclo curto, pertencente à família Brassicaceae, que vem ganhando destaque pelo bom rendimento e alto teor de óleo (36-38%) contido em suas sementes (Silva et al., 2019). A espécie é promissora, mas ainda não é amplamente cultivada no Brasil, podendo ser utilizada para compor sistemas de rotação de culturas no período referente a safrinha (Lima et al., 2018). Suas sementes são uma excelente alternativa para a produção de biocombustíveis, pois o óleo que produzem oferece desempenho energético semelhante ao dos combustíveis fósseis, sendo uma espécie que se apresenta como alternativa para o fornecimento de óleo vegetal no inverno (Aquino et al., 2018). Além disso, o óleo extraído das sementes também pode ser utilizado na manufatura de borracha sintética, plastificantes, produção de nylon, adesivos, isolamento e cosméticos (Falasca et al., 2010; Tavares et al., 2017).

Espécies oleaginosas de uso industrial destinadas à produção de biocombustíveis têm ganhado importância no setor agrícola, resultando em um aumento das pesquisas sobre essas culturas para melhor compreender seu potencial produtivo e aumentar a produtividade. A crescente preocupação com as alterações climáticas causadas pelo uso de combustíveis fósseis intensifica a investigação de fontes de energia renováveis que sejam benéficas para o ambiente (Costa et al., 2019). Para atender à demanda de produção de crambe no setor de biocombustíveis e outros setores, é essencial que as plantas se estabeleçam com êxito no campo, o que depende fundamentalmente da qualidade das sementes. O uso de sementes de alta qualidade é um dos principais pilares para incrementar a produtividade agrícola em qualquer sistema de cultivo, sendo essencial para o sucesso de qualquer programa agrícola (Elias, 2018).

Sementes de alta qualidade proporcionam maior germinação, apresentam maior vigor e são resistentes às adversidades de clima, solo e estresses, sendo fundamentais para obtenção de elevada emergência e uniformidade de plântulas em campo, o que, conseqüentemente, assegura a produtividade (Finch-Savage; Bassel., 2016; Reed et al., 2022). Logo, para garantir que os lotes de sementes apresentem esses resultados, faz-se necessário não apenas avaliar seu percentual de germinação total, mas também o vigor dos lotes, por meio de testes padronizados e metodologias disponíveis que forneçam informações confiáveis sobre seu possível desempenho em campo e durante o armazenamento.

Quando nos referimos aos testes padrões laboratoriais na área de sementes, embora estes sejam confiáveis e por meio deles seja possível obtermos informações valiosas sobre o

potencial fisiológico dos lotes de sementes, a fim de estimar seu desempenho em campo, seus resultados são relativamente demorados e dependem de analistas treinados (ElMasry et al., 2019a). Além disso, o tempo de instalação dos testes e a mão de obra empregada para as avaliações torna a obtenção de seus resultados onerosos quando se tem que avaliar muitos lotes por vez na indústria. Presentemente, existem diversas abordagens disponíveis para a avaliação do vigor e qualidade das sementes. Essas metodologias, no entanto, envolvem operações de monitoramento e inspeção visual das sementes, em certos casos uma a uma, por meio de testes que são destrutivos e trabalhosos, como tetrazólio, condutividade elétrica e envelhecimento acelerado (Bianchini et al., 2021).

Recentemente, na área de tecnologia de sementes, nota-se um aumento de pesquisas que buscam fazer a avaliação do potencial fisiológico dos lotes por meio de análises não destrutivas como espectroscopia no infravermelho próximo (Zhang et al., 2023), análise de imagens multiespectrais (ElMasry et al., 2019a) e testes de raios X (Musaev et al., 2021). O interesse de explorar métodos instrumentais inovadores para avaliação do potencial fisiológico de sementes parte do princípio de que essas ferramentas permitem obter mais informações em menos tempo sobre os lotes, a fim de auxiliar na tomada de decisões em campo, durante o beneficiamento, armazenamento e no processo de comercialização.

A espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) é um método analítico que faz uso de valores de referência para o desenvolvimento dos modelos de calibração. Quando esses modelos são desenvolvidos é possível fazer uma rápida seleção e classificação de lotes de sementes quanto ao seu potencial fisiológico sem a necessidade de preparo de amostras ou uso de reagentes. Sua eficácia na distinção de lotes de sementes já foi comprovada, como observado por Soares et al. (2024) que, após avaliar 372 lotes de sementes de soja combinando a quimiometria com a espectroscopia NIR, concluíram que a técnica permite classificar lotes de acordo com seu potencial fisiológico, além de fornecer informações que podem vir a ter relação com a composição bioquímica das sementes.

De modo semelhante, a técnica de imagem multiespectral tem sido implementada como uma alternativa promissora na área de tecnologia de sementes para a detecção de contaminação por fungos (Rego et al., 2020), avaliação da pureza varietal (Shrestha et al., 2015), bem como aspectos relacionados a viabilidade e germinação da semente (ElMasry et al., 2019b). Os resultados obtidos por meio de análise de imagens multiespectrais quando comparados com os métodos laboratoriais de referência apresentam alta correlação (Boelt et al., 2018). Atualmente, as pesquisas utilizando imagens multiespectrais que buscam fazer as

correlações entre as regiões espectrais com a qualidade das sementes são feitas com auxílio do equipamento VideometerLab4™ (Videometer A/S, Herlev, Dinamarca) (Zhang et al., 2022; Wagner et al, 2023).

O protótipo que está em desenvolvimento na Universidade Federal de Viçosa, campus Viçosa, permite obter imagens de sementes e outras amostras biológicas nos seguintes comprimentos de ondas: 395, 460, 520, 585, 620, 740, 850 e 940 nm. O equipamento é composto por uma câmera digital que adquire imagens no formato TIFF, com LEDs acoplados na parte superior emitindo radiação UV-VIS-NIR nas oito bandas espectrais mencionadas. A aquisição das imagens nas diferentes faixas de onda é realizada em segundos, utilizando um código escrito em Python para semi-automatizar o processo pelo computador. O desenvolvimento de um método de detecção da qualidade de sementes com auxílio da técnica de análise de imagens multiespectrais utilizando o protótipo pode reduzir o tempo de avaliação e triagem inicial de um grande volume de lotes, acelerar o processo inicial de descarte e destinação desses lotes, e tornar acessível a todo o setor sementeiro o uso dessa tecnologia para a tomada de decisão sobre o potencial fisiológico dos seus lotes de sementes.

Nesta pesquisa, propõe-se verificar se a espectroscopia no infravermelho próximo e a análise de imagens multiespectrais podem ser utilizadas como ferramentas para classificação de sementes de crambe quanto ao potencial fisiológico. Assim, foram criados modelos preditivos a partir dos dados espectrais NIR e imagens multiespectrais provenientes de 12 lotes de sementes de crambe, caracterizados por meio dos testes tradicionais de germinação e crescimento de plântulas. Ainda foi investigada a relação entre a qualidade dos lotes e os comprimentos de onda que permitiram sua classificação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cultura do crambe

A demanda mundial por fontes de combustíveis renováveis tem aumentado progressivamente, tendo em vista a crescente preocupação com as alterações climáticas atreladas ao uso de combustíveis fósseis, resultando na investigação de fontes de energia alternativas que sejam benéficas ao ambiente (Costa et al., 2019). Desse modo, espécies oleaginosas de uso industrial que podem ser destinadas a produção de biocombustíveis vêm ganhando importância no setor agrícola.

O crambe (*Crambe abyssinica* Hochst.), espécie pertencente à família Brassicaceae, quando cultivado tem alto potencial para a produção de biocombustíveis por apresentar desempenho energético semelhante ao dos combustíveis fósseis e se destaca pelo ciclo de cultivo que não compete com as culturas alimentares (de Marins et al., 2018). Além disso, essa oleaginosa é de uso industrial exclusivo, pois seu óleo apresenta elevado teor de ácido erúico, um ácido graxo monoinsaturado de cadeia longa que limita a utilização da planta tornando-a mais propícia a processos industriais específicos (Samarappuli et al., 2020).

No ranking das espécies oleaginosas mais estudadas para a produção de óleo, o crambe aparece em segundo lugar como cultura em geral mais citada devido ao alto teor de óleo contido nas sementes e rápido crescimento (Von Mark; Dierig, 2012; de Marins et al., 2018). Por suas características e propriedades únicas, a espécie apresenta diversas aplicações de uso, sendo seu óleo utilizado na produção de plásticos biodegradáveis, nylon, adesivos, isolamento e cosméticos (Falasca et al., 2010; Tavares et al., 2017).

A planta de crambe apresenta boa resistência a seca e possui ciclo de crescimento curto, com colheita ocorrendo geralmente entre 90 e 110 dias após a semeadura (Cavalheiro et al., 2023). É uma herbácea anual que atinge entre 1,00 e 1,20 m de altura (Righini et al., 2016). Suas sementes são produzidas em pequenas síliquas esféricas de coloração inicial verde, mas que se tornam marrom-amareladas à medida que atingem a maturidade fisiológica, contendo uma única semente por síliqua. As sementes maduras apresentam tamanho que varia de 0,8 a 2,6 mm de diâmetro e suas sílicas são indeiscentes, evitando quebras e perdas de sementes durante a colheita (Samarappuli et al., 2020). Como a multiplicação de crambe se dá por sementes, infere-se que a qualidade das sementes desempenha um papel crucial na garantia do estabelecimento rápido e uniforme do estande no campo.

2.2. Potencial fisiológico de sementes e métodos tradicionais para sua avaliação

Uma semente de alta qualidade deve ter em equilíbrio quatro atributos mínimos de qualidade: atributos físico, genético, sanitário e fisiológico, sendo todos igualmente importantes (Peske et al., 2009). Isso porque uma semente de qualidade possui a capacidade de fazer uso eficiente dos insumos, como fertilizantes e irrigação, para que se alcance a segurança alimentar (Mirza, 2015). Infere-se disso que uma semente de qualidade não obtém apenas maiores índices de rendimento, mas também maiores retornos monetários.

Podemos caracterizar os quatro atributos mínimos de qualidade da semente da seguinte forma: o atributo de qualidade física se relaciona com a ausência de materiais inertes no lote de

sementes e a integridade das sementes; os de qualidade genética com a ausência de misturas varietais; os de qualidade sanitária com a ausência de patógenos e de sementes de plantas daninhas; e os de qualidade fisiológica se relacionam com o desempenho das sementes relacionados à germinação e ao vigor. Desse modo, o potencial fisiológico das sementes é definido como a sua capacidade de formar uma plântula normal e desempenhar as funções vitais, caracterizadas pelo vigor, viabilidade, longevidade e germinação (Costa et al., 2021).

Dentre os testes tradicionais para avaliação do potencial fisiológico de sementes, o teste de germinação vem a ser o principal procedimento realizado em laboratórios. As Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009), responsáveis por padronizar as metodologias de diversos testes do setor sementeiro em todo o território brasileiro, estabelecem como sendo o objetivo do teste de germinação determinar o máximo potencial de germinação de um lote de sementes, fazendo uso do resultado para comparar a qualidade de diferentes lotes, além de estimar o valor para semeadura em campo.

No entanto, por ser conduzido em condições ótimas de temperatura e umidade, ou seja, sob condições ideais de laboratório, o teste de germinação pode não se relacionar com o desempenho das sementes em campo, ainda mais quando o campo apresenta condições que diferem das mais adequadas por uma série de intempéries. Assim, os laboratórios recorrem aos testes de vigor para melhor compreender e estimar o potencial fisiológico de um lote de sementes. Segundo Marcos-Filho (2010), a avaliação do vigor das sementes é um componente relevante do seu potencial fisiológico, uma vez que se relaciona com o desempenho das sementes em campo e durante o armazenamento.

A definição de vigor de semente é um tanto quanto complexa, pois o vigor da semente se inclui na categoria de avaliação do seu potencial fisiológico, abrangendo uma emergência rápida e uniforme e o seu bom desenvolvimento em uma ampla gama de condições de campo. O vigor das sementes também está atrelado a sua vida útil, variável que depende do potencial fisiológico, da conservação genética e das condições as quais a semente foi submetida durante o armazenamento (Rajjou L; Debeaujon., 2008; Walters et al., 2010).

No entanto, os testes de vigor podem ser utilizados não apenas para estimar o potencial fisiológico de apenas um lote de sementes, mas também para comparar e classificar diferentes lotes em diferentes classes de vigor de acordo com o desempenho que suas sementes apresentariam em campo e durante o armazenamento, sendo a estratificação e designação dos lotes para diferentes finalidades um dos seus principais objetivos. A avaliação do vigor de diferentes lotes com germinação semelhante irá permitir a detecção de diferenças significativas entre eles, tornando possível classificá-los em diferentes níveis de qualidade. Essa classificação

diferencia lotes de alto e baixo vigor contribuindo para identificação dos lotes com maior potencial fisiológico para o estabelecimento em campo e armazenamento (Marcos-Filho, 2020).

Atualmente, o setor sementeiro conta com diversos testes para avaliação do vigor de sementes de diferentes espécies, ganhando destaque principalmente os testes no qual em suas classificações são tidos como fisiológicos, bioquímicos e de resistência a estresses (Marcos-Filho, 2020). Contudo, o tempo de avaliação, a mão de obra empenhada e a demora para obtenção dos resultados desses testes torna-se problemático para o setor.

2.3. Novas alternativas para avaliação do potencial fisiológico de sementes

Pesquisas recentes que propõe testes rápidos têm se apresentado como uma alternativa e/ou complemento aos testes tradicionais para avaliação do potencial fisiológico de sementes. Os métodos tradicionais são normalmente não automatizados, demorados, destrutivos e requerem formação e experiência da mão-de-obra que irá conduzi-los e, desse modo, tornam-se inadequados para aplicação em larga escala. Logo, métodos de triagem não invasivos e de alto rendimento vêm ganhando importância para a indústria de sementes para que sementes de alto vigor sejam fornecidas aos agricultores antes da semeadura (Xia et al., 2019). Os métodos mais recentes e conhecidos utilizados na área de sementes para verificar a viabilidade de lotes são espectroscopia no infravermelho próximo (NIR), imagem hiperespectral (HSI) e imagem multiespectral (MSI) (ElMasry et al., 2019a). As tecnologias de análise de imagens têm demonstrado grande potencial para serem utilizadas, associadas aos testes tradicionais para avaliar a qualidade de sementes, orientando a observação humana a partir da percepção e precisão das máquinas. Esse tipo de abordagem pode proporcionar avanços significativos, não apenas na padronização de metodologias, mas também na obtenção de resultados com alto nível de confiabilidade e reprodutibilidade (Toda et al., 2020).

2.4. Teste de raios X em sementes

O teste de raios X é uma técnica óptica baseada em radiação eletromagnética que vem sendo utilizada há mais de um século em aplicações médicas. Essa tecnologia tem sido explorada com êxito na inspeção de diversos produtos agrícolas para avaliação da sua qualidade interna de modo não-destrutivo, uma vez que certas características de qualidade não são visíveis por meio da superfície desses produtos (Kotwaliwale et al., 2014).

A técnica de radiografia de raios X é um procedimento experimental que vem a ser simples e rápido para analisar a estrutura e o estágio de desenvolvimento embrionário em

sementes de modo individual. Seu princípio consiste na passagem da radiação primária dos raios X através da semente, sendo essa radiação absorvida em graus variados, a depender da espessura, densidade e composição do material submetido a radiação e do próprio comprimento de onda da radiação que é utilizado (ISTA, 2005). O método é capaz de auxiliar na detecção de sementes vazias, cheias e com presença de danos internos oriundos por ataques de insetos ou danos mecânicos. O estudo da morfologia interna de sementes por meio da técnica de raios X nos fornece informações importantes sobre a qualidade de lotes de sementes. Isso porque é possível observar que sementes classificadas em testes de raios X como sem danos resultam em maior porcentagem de plântulas normais e menor porcentagem de sementes mortas em relação às aquelas com danos (Carvalho et al., 2009).

Desse modo, nos últimos anos, se observa que a análise de imagens de sementes feitas por meio da técnica eletromagnética de raios X é favorável para a área de sementes. O uso da técnica permite a observação de estruturas internas das sementes possibilitando o estabelecimento de relações entre sua integridade física, morfológica e fisiológica (Marcos Filho et al., 2010; Silva et al., 2013). Há diversos estudos que recomendam o uso da técnica de raios X para analisar a morfologia interna das sementes, procurando obter diagnósticos que sejam mais precisos e rápidos com relação às características físicas de interesse, relacionando-as de modo frequente à germinação e ao vigor das sementes (Medeiros et al., 2020; Bianchini et al., 2021; Pinheiro et al., 2022). Assim, a técnica de raios X, classificada como teste físico, permite fazer correlações entre os resultados obtidos em testes fisiológicos tradicionais e as características físicas que são avaliadas por meio do método, visto que sementes de alta qualidade são sementes integras, que apresentam alta densidade interna caracterizada por uma maior concentração de reservas e pela ausência de danos ou sinais de deterioração, podendo vir a ser um modo alternativo para caracterizar a qualidade das sementes de forma rápida e eficiente.

2.5. Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR) em sementes

A espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) é um método que utiliza valores de referência para que sejam desenvolvidos modelos de calibração. Essa técnica é considerada igualmente significativa dentre todas as outras tecnologias analíticas e químicas convencionais importantes (a exemplo: cromatografia gasosa e líquida de alta eficiência e métodos de Kjeldahl e Soxhlet). Isso se deve ao fato de esse método ser rápido, livre de produtos químicos e tóxicos,

fácil de usar (uma vez desenvolvidos os modelos de calibrações) e não destrutivo (Manley, 2014).

Dentro das diferentes regiões do espectro eletromagnético, o infravermelho próximo representa a absorção da radiação em comprimentos de ondas na faixa de 750 a 2.500 nm (Pasquini, 2018). A interação da radiação eletromagnética na faixa espectral NIR com uma substância é caracterizada principalmente por bandas de absorção associadas a sobretons excitantes, combinações e ressonâncias de modos vibracionais fundamentais de ligações. Esses modos ativos NIR são comumente associados a modos vibracionais altamente anarmônicos de grupos funcionais moleculares como C-H, N-H, O-H e S-H. Além disso, vibrações como C=O que são ligações fortes entre átomos mais pesados também podem ser detectadas pelo NIR (Williams; Norris, 2001; Pasquini, 2003).

Na área de sementes, a técnica de espectroscopia do infravermelho próximo (NIR) já foi estudada com resultados positivos para verificação da viabilidade e detecção do vigor de sementes de milho doce (Wang et al., 2020). Quando combinada com a transformada de Fourier, a técnica de FT-NIR atrelada ao método PLS-DA foi capaz de prever a viabilidade de sementes de soja com alta acurácia (Kusumaningrum et al., 2018). Ainda para a cultura da soja, o NIR foi usado para distinguir sementes saudáveis de sementes contaminadas com *Phomopsis*, *Cercospora kikuchii*, vírus do mosaico da soja (SMV) e sementes danificadas por míldio, apresentando acurácias acima de 90% (Wang et al., 2004).

Além disso, o método NIR também é utilizado para determinações de proteína, óleo e carboidrato em diferentes tipos de sementes (Choung et al., 2001; Lee; Choung., 2009; Hacisalihoglu et al., 2010; Weng et al., 2017). Desse modo, levando em consideração que a técnica de espectroscopia no infravermelho próximo possibilita diferenciar a composição bioquímica desses compostos citados e com os conhecimentos bases em sementes, sabe-se que quando o processo de deterioração é iniciado, a composição da semente é alterada, logo o método analítico NIR pode se tornar uma ferramenta eficiente e de fácil reprodução para avaliação e classificação do potencial fisiológico de lotes de sementes.

A exatidão do método NIR depende em grande parte da exatidão e precisão do método de referência, a fim de que as medições e previsões NIR posteriores se tornem mais reprodutíveis (Manley, 2014). Logo, desenvolver a metodologia adequada para classificação de cada espécie de semente no NIR é fundamental para o sucesso desse método na indústria sementeira, visto que as espécies apresentam estruturas, características e compostos diversos.

2.6. Análise de Imagens Multiespectrais

A evolução contínua da ciência e da investigação na área de sementes também indica a procura por parte da indústria de sementes e dos agricultores por novas tecnologias. McDonald (1998) demonstrava que os testes de sementes normalmente são baseados na detecção de uma gama de marcadores físicos, fisiológicos, bioquímicos e, recentemente, biomoleculares que apresentam boa correlação com os componentes da qualidade das sementes, a exemplo de pureza genética, física, germinação e vigor, além da sanidade das sementes. No entanto, para a aceitação do resultado de tais testes, a ISTA (2005) e AOSA (2000) estabeleceram que esses precisariam ser reproduzíveis e interpretáveis de maneira uniforme. Apesar do uso e aceitação mundial do teste de germinação, uma limitação apresentada por ele é o tempo dispensado pelos analistas e a demora para obter seus resultados.

A análise de imagens multiespectrais se apresenta como ferramenta valiosa e mais uma fonte alternativa de classificação da qualidade física e do potencial fisiológico de lotes de sementes, pois não exige pré-tratamento das amostras e apresenta potencialidade para determinar diversos componentes relacionados aos atributos físicos, fisiológicos, químicos e genéticos de sementes e plântulas. Seus resultados quando comprovados permitem a estratificação de lotes de sementes em classes de qualidade e vigor em minutos por meio da aquisição e processamento de imagens combinados com modelos de classificação. Quando se integra a análise de imagens multiespectrais com modelos de classificação é possível obter imagens convencionais e extrair de seus pixels dados de espectroscopia (Olsen et al., 2015). Uma imagem multiespectral, por fornecer tais informações, permite que se relacione esses dados com diferentes características de qualidade de sementes, como estrutura da superfície, textura e composição química da amostra que está sendo analisada (Huang et al., 2015).

A técnica de obtenção de imagem multiespectral se baseia na exposição sequencial de um determinado objeto ou amostra a diferentes comprimentos de onda da luz. Por meio da obtenção de modelos de classificação, é possível identificar parâmetros físico-químicos de amostras biológicas (Bianchini et al., 2021). Assim, a relação desses parâmetros com dados obtidos pelos testes tradicionais em sementes pode apontar para o potencial do uso de imagens computadorizadas para geração de novos marcadores de germinação e vigor com fins de classificação (Dell' Aquila, 2007).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local de condução do experimento

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Pesquisa de Sementes, localizado no Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa, *campus* Viçosa, MG. Foram utilizadas sementes de quatro linhagens de crambe (FMS CR 1101, FMS CR 1106, FMS CR 1312 e FMS CR 1326), fornecidas pela Fundação Mato Grosso do Sul (FMS) e produzidas no município de Maracaju, MS, na safra 2022/2023. As sementes foram acondicionadas em sacos de papel kraft e mantidas em câmara fria a 10 ± 2 °C e 50% de umidade relativa até o início do experimento.

3.2. Formação dos lotes – Envelhecimento artificial

Para a formação de 12 lotes com diferentes níveis de potencial fisiológico, foram retiradas dos sacos de papel kraft três amostras de 10 g de sementes de cada uma das linhagens (FMS CR 1101, FMS CR 1106, FMS CR 1312 e FMS CR 1326), totalizando mais de mil sementes por amostra. Sementes de duas amostras de cada linhagem foram submetidas ao envelhecimento artificial por 48 e 96 horas, enquanto sementes não envelhecidas foram utilizadas como controle (lote de maior vigor). O envelhecimento artificial consistiu em distribuir as sementes em camada única sobre bandejas de tela metálica acopladas a caixas gerbox, no fundo das quais foram colocados 40 mL de água destilada. As caixas foram tampadas para obter 100% de umidade relativa no interior e mantidas em BOD a 42 °C (Cruz et al., 2013). Dessa forma, foram obtidos 12 lotes de sementes provenientes de quatro linhagens, com três lotes de cada uma.

3.3. Determinação do grau de umidade

O grau de umidade foi determinado pelo método da estufa a 105 °C durante 24h, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Foram utilizadas duas repetições de 50 sementes para cada lote. Os resultados foram expressos em porcentagem de umidade em base úmida.

3.4. Obtenção dos espectros NIR

Os espectros das amostras de sementes foram obtidos utilizando-se o espectrofotômetro infravermelho com transformada de Fourier (Antaris II FT-NIR Analyzer; Thermo Scientific Co., Waltham, MA, EUA). Amostras de 200 sementes dos 12 lotes foram

selecionadas e divididas em quatro repetições de 50 sementes, pois desse modo era possível cobrir toda a superfície da cubeta de quartzo com anel no equipamento para a emissão do feixe de luz. Além disso, para que não ocorresse interferência dos feixes de luz externos do ambiente, o suporte com as sementes foi sobreposto com cilindro metálico. As leituras foram realizadas em triplicata, totalizando 144 leituras para os 12 lotes na faixa espectral de 1.000 a 2.500 nm, com 3.112 pontos por espectro para cada amostra. Para leitura e registro dos espectros, foi utilizado o *software* de suporte do espectrômetro TQ *Analysis*.

3.5. Obtenção das imagens radiográficas e teste de raios X

Para a análise da morfologia interna das sementes (caracterização física), foram utilizadas oito repetições de 25 sementes por lote. As sementes foram mapeadas, sendo organizadas de forma ordenada sobre papel adesivo, permitindo a identificação individual nas análises subsequentes. As sementes foram então colocadas no interior do equipamento de raios X digital Faxitron, modelo MX-20 (Faxitron X-ray Corp., Wheeling, IL, EUA). Para obtenção das imagens radiográficas, o equipamento foi configurado com um tempo de exposição de 10 segundos, tensão de 23 kV, distância focal de 41,6 cm e contraste da imagem calibrado em 3536 (*width*) x 1105 (*center*). As imagens digitais obtidas foram salvas em formato TIFF. A avaliação das imagens radiográficas foi feita por meio da utilização da macro IJCropSeed (Medeiros et al., 2020), no software ImageJ, onde foi possível obter os parâmetros de área, perímetro, circularidade, solidez, densidade relativa e densidade integrada das sementes.

3.6. Obtenção das imagens multiespectrais

A obtenção das imagens multiespectrais foi realizada com o protótipo CromaSeed (Silva Brochado et al., 2024), desenvolvido na UFV, que gera imagens nos espectros UV-VIS-NIR. As imagens dos lotes de sementes foram capturadas utilizando as mesmas sementes mapeadas no teste de raios X, com 8 repetições de 25 sementes por lote. As sementes foram dispostas na base do equipamento, e para cada repetição foram capturadas nove imagens: oito em comprimentos de onda de 395, 460, 520, 585, 620, 740, 850 e 940 nm, e uma em RGB (Figura 1), totalizando 768 imagens multiespectrais. Posteriormente, as sementes foram submetidas aos testes de germinação e crescimento de plântulas, visando à correlação entre as variáveis espectrais extraídas das imagens e o potencial fisiológico dos lotes, conforme os testes laboratoriais.

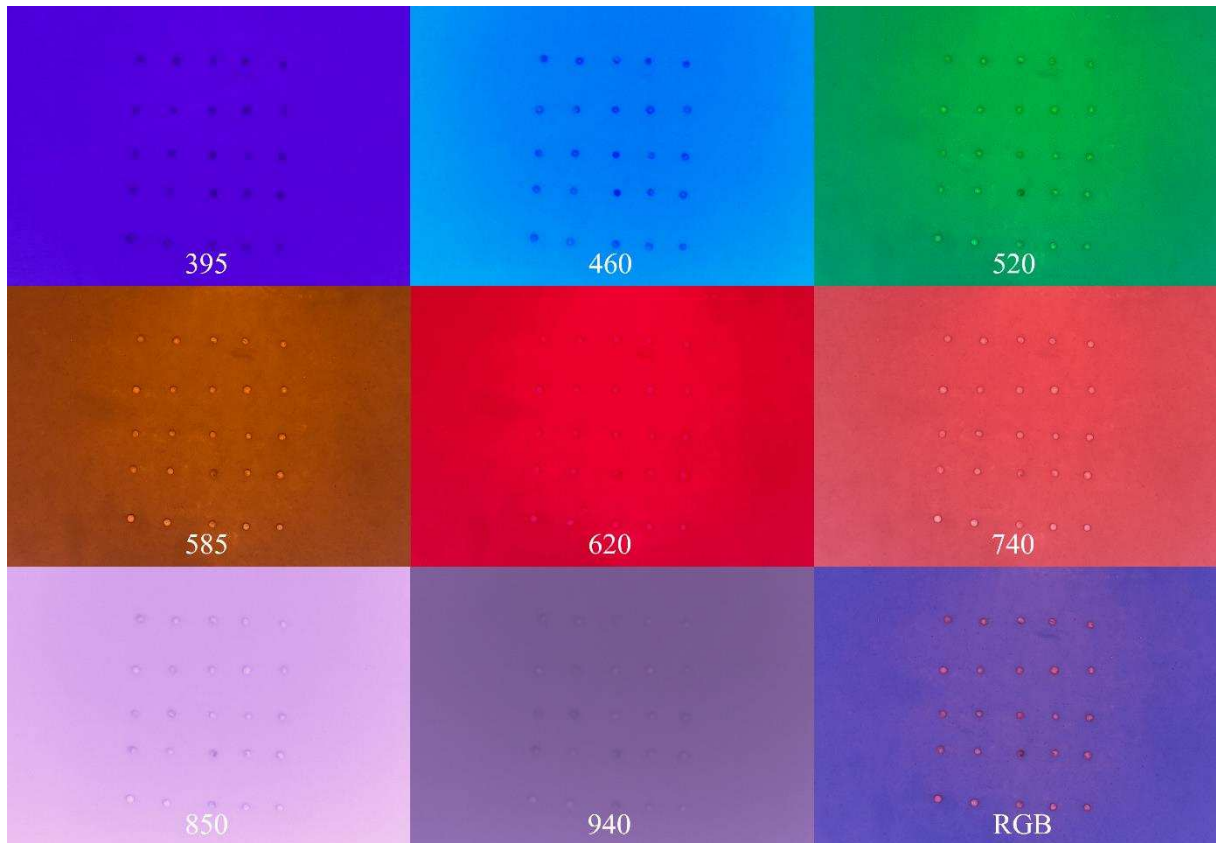


Figura 1. Imagens das sementes de crambe linhagem FMS 1101 nos oito comprimentos de onda geradas utilizando o protótipo CromoSeed.

3.7. Teste de germinação e crescimento de plântulas

O teste de crescimento de plântulas foi conduzido em conjunto com o teste de germinação, garantindo que as sementes mapeadas permanecessem na mesma ordem de obtenção das imagens radiográficas e multiespectrais, possibilitando posteriores correlações. O teste foi realizado com oito repetições de 25 sementes, totalizando 200 sementes para cada lote. Para o teste, utilizou-se papel germitest e caixas gerbox. Considerando que as sementes de crambe apresentaram dormência pós-colheita, foi utilizada uma solução concentrada de ácido giberélico (GA_3) a 500 mg L^{-1} para a quebra de dormência (Silva de Aquino et al., 2018). As sementes foram distribuídas sobre duas folhas de papel umedecido com a solução de GA_3 na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. As caixas gerbox foram mantidas inclinadas em germinador a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais, avaliadas no quarto e sétimo dia após a semeadura, conforme as Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009).

Protrusão radicular

O teste para contabilização da protrusão radicular foi conduzido em conjunto com o teste de germinação. Após a instalação do teste, diariamente foram contabilizadas as sementes que emitiram raiz primária (comprimento ≥ 2 mm) e posteriormente calculou-se a porcentagem média.

Índice de velocidade de protrusão radicular

O índice de velocidade de protrusão radicular (IVPR) foi obtido por meio das contagens diárias do número de sementes que emitiram raiz primária (comprimento ≥ 2 mm). Sendo calculado pela fórmula proposta por Maguire (1962):

$$IVPR = \frac{PR_1}{N_1} + \frac{PR_2}{N_2} + \dots + \frac{PR_n}{N_n} = \sum_{i=1}^n \frac{PR_i}{N_i}$$

em que PR_1, PR_2, \dots, PR_n – Número de sementes que emitiram raiz primária (≥ 2 mm) na primeira, segunda, ..., e última contagem;

N_1, N_2, \dots, N_n – Número de dias decorridos da semente até a primeira, segunda, ..., e última contagem;

Primeira contagem de germinação

O teste de primeira contagem da germinação foi conduzido em conjunto ao teste de germinação. Seu resultado foi expresso em porcentagem de plântulas normais obtidas no quarto dia após a semente.

Índice de velocidade de germinação

Os dados obtidos por meio das contagens diárias do teste de germinação foram utilizados para o cálculo do índice de velocidade de germinação (IVG), calculado de acordo com a fórmula proposta por Maguire (1962):

$$IVG = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \dots + \frac{G_n}{N_n} = \sum_{i=1}^n \frac{G_i}{N_i}$$

em que G_1, G_2, \dots, G_n – Número de plântulas normais contabilizadas na primeira, segunda, ..., e última contagem;

N_1, N_2, \dots, N_n – Número de dias decorridos da sementeira até a primeira, segunda, ..., e última contagem;

Crescimento de plântulas e Índices de vigor

Ao quarto dia do teste de germinação e crescimento de plântulas foram obtidas imagens digitais das plântulas normais com auxílio de um escâner (modelo Epson Perfection v700 photo). A avaliação das imagens foi feita utilizando-se o software ImageJ para obtenção dos parâmetros: comprimento de parte aérea (cm), comprimento da raiz (cm) e comprimento total (cm). Os dados de comprimento de plântulas foram processados por meio do pacote SeedCalc (SILVA et al., 2019) no *software* R, para obtenção do índice de crescimento, uniformidade e vigor (Sako et al., 2001).

Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, utilizando-se quatro linhagens e três lotes de cada, com oito repetições. Os dados foram preliminarmente submetidos à testes de normalidade e de homogeneidade de variância e, posteriormente, à análise de variância (ANOVA). Para cada linhagem, as médias dos lotes obtidas nos testes de raios X, germinação e crescimento de plântulas foram comparadas pelo teste de Tukey à 0,05 de probabilidade. O *software* utilizado nas análises estatísticas foi o R 4.4.0 (R Core Team, 2024).

Experimento I – Espectroscopia no Infravermelho Próximo – NIR para classificação das sementes quando ao potencial fisiológico

Pré-processamento dos espectros

Após a obtenção dos espectros NIR, foi feito o pré-processamento dos dados espectrais originais utilizando métodos de correção da dispersão, sendo eles *Standard Normal Variate* (SNV); 1ª derivada; 2ª derivada; 1ª e 2ª derivada de Savitzky-Golay (SG), além das combinações entre SNV com a 1ª e 2ª derivada de SG. Os espectros originais e os pré-processados foram utilizados para obtenção de modelos de classificação.

Desenvolvimento de modelos para classificação

Classes: Os lotes de sementes foram subdivididos em duas classes de acordo com os resultados obtidos com o teste de germinação. A primeira classe foi formada pelos lotes que apresentaram potencial de germinação igual ou superior a 85%, sendo denominada de classe de maior potencial fisiológico. A segunda classe foi formada pelos lotes com germinação abaixo de 85%, sendo denominada de classe de menor potencial fisiológico. No total, 64,6% (n = 93 leituras espectrais) dos lotes foram alocados na classe I e 35,4% (n = 51 leituras espectrais) na classe II.

Método de classificação: Para classificação e predição da qualidade fisiológica das sementes de crambe por meio dos espectros obtidos foi utilizada a modelagem *Partial Least Squares - Discriminant Analysis* (PLS-DA) com os espectros pré-processados por meio das diferentes técnicas anteriormente descritas. O treinamento do modelo foi realizado utilizando-se o pacote *caret* (Kuhn, 2011), desenvolvido para o *software* R (R Core Team, 2024). O modelo PLS-DA é expresso como:

$$Y = XB + e$$

Em que Y é uma matriz das variáveis-resposta que estão relacionadas às categorias de amostra medidas, X é uma matriz $n \times p$ das variáveis espectrais para cada categoria de amostra medida (n é o número de objetos de amostra e p é o número de variáveis), B é o coeficiente de regressão matricial para as variáveis espectrais e e é a matriz de resíduos.

Validação do modelo: O modelo obtido por meio do algoritmo PLS-DA foi construído utilizando-se 80% dos dados para treinamento (calibração) e os 20% restantes para validação. Realizou-se a validação cruzada com 5 partições (*folds*) no conjunto de treinamento. Os modelos obtidos via PLS-DA foram avaliados quanto a acurácia, dada pela razão entre o número de previsões feitas corretamente pelo modelo e o número total de previsões, dada pela fórmula:

$$\text{Acurácia} = \frac{\text{Número de previsões corretas}}{\text{Número total de previsões}}$$

e pelo coeficiente Kappa de Cohen (1960), que é uma medida de concordância ajustada pela chance de concordância ao acaso:

$$\text{Kappa} = \frac{P_o - P_e}{1 - P_e}$$

Em que P_o é a proporção de concordâncias observadas e P_e é a proporção de concordâncias esperadas sob a suposição de concordância ao acaso.

Além disso, foram identificadas as faixas de comprimento de onda que foram mais importantes na construção do modelo de classificação.

Experimento II – Análise de imagens multiespectrais para classificação da qualidade fisiológica das sementes

Extração das variáveis

Para obtenção dos valores de reflectância de cada semente, referente às oito bandas espectrais nas imagens, foi utilizado o *software* ImageJ. As imagens geradas foram abertas e para delimitação da região de interesse, área da semente, foi feito o uso da função *threshold* e extraídos os valores médios de cinza dos pixels para cada banda espectral, conforme a

metodologia proposta por Da Silva Brochado et al. (2024). A seguinte equação foi utilizada para conversão desses valores em reflectância:

$$R(\%) = (((PVi * 100)/Bi) - P)/((Bi - P)) * 100$$

Em que: $R(\%)$ é a reflectância estimada em porcentagem; PVi é o valor da média de pixel de cada banda espectral i ; Bi é o valor do branco de referência; P é o valor do preto de referência.

Pré-processamento dos espectros

Após a obtenção das imagens multiespectrais e transformação dos valores de pixel em reflectância foi feito o pré-processamento dos dados espectrais brutos utilizando métodos de correção da dispersão, sendo eles *Standard Normal Variate* (SNV); *Multiplicative Scatter Correction* (MSC); 2ª derivada; e 1ª derivada de Savitzky-Golay (SG). Os dados originais e pré-processados foram utilizados para obtenção de modelos de classificação.

Desenvolvimento de modelos para classificação

Classes: Os lotes de sementes de crambe foram subdivididos em duas classes de acordo com os resultados obtidos pelo teste de germinação. A primeira classe foi formada pelos lotes que apresentaram germinação igual ou acima de 85%, sendo denominada de classe de maior potencial fisiológico. A segunda classe foi formada pelos lotes com germinação abaixo de 85%, sendo denominada de classe de menor potencial fisiológico. No total, 74,1% ($n = 1374$ leituras espectrais) dos lotes foram alocados na classe I e 25,9% ($n = 479$ leituras espectrais) na classe II.

Método de classificação: Para classificação e predição da qualidade fisiológica das sementes por meio dos espectros obtidos pelo protótipo UV-VIS-NIR foi utilizada a técnica de modelagem *Random Forest* (RF) com os espectros pré-processados por meio das diferentes técnicas anteriormente descritas. A classificação foi realizada utilizando-se o *software* R 4.4.0 (R Core Team, 2024).

Validação do modelo: O modelo obtido por meio do algoritmo RF foi validado utilizando-se as mesmas métricas estatísticas empregadas na construção do modelo obtido via PLS-DA para os dados NIR. Após o seu processamento, foram avaliados a acurácia e o coeficiente Kappa dos modelos RF. Além disso, foram identificados os comprimentos de onda que mais contribuíram para as variáveis na construção do modelo de classificação.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização da qualidade física dos lotes de acordo com as imagens radiográficas

Para caracterizar a morfologia interna das sementes foram realizadas análises de raios X nos 12 lotes avaliados. Essa técnica permitiu a visualização detalhada do preenchimento das sementes (Figura 2). A partir das imagens radiográficas obtidas foram extraídos parâmetros como área, perímetro e densidade, para avaliar a integridade e características físicas dos lotes de sementes. Essas informações são importantes e podem ser associadas ao potencial fisiológico das sementes, contribuindo para melhor compreensão dos resultados observados em cada lote.

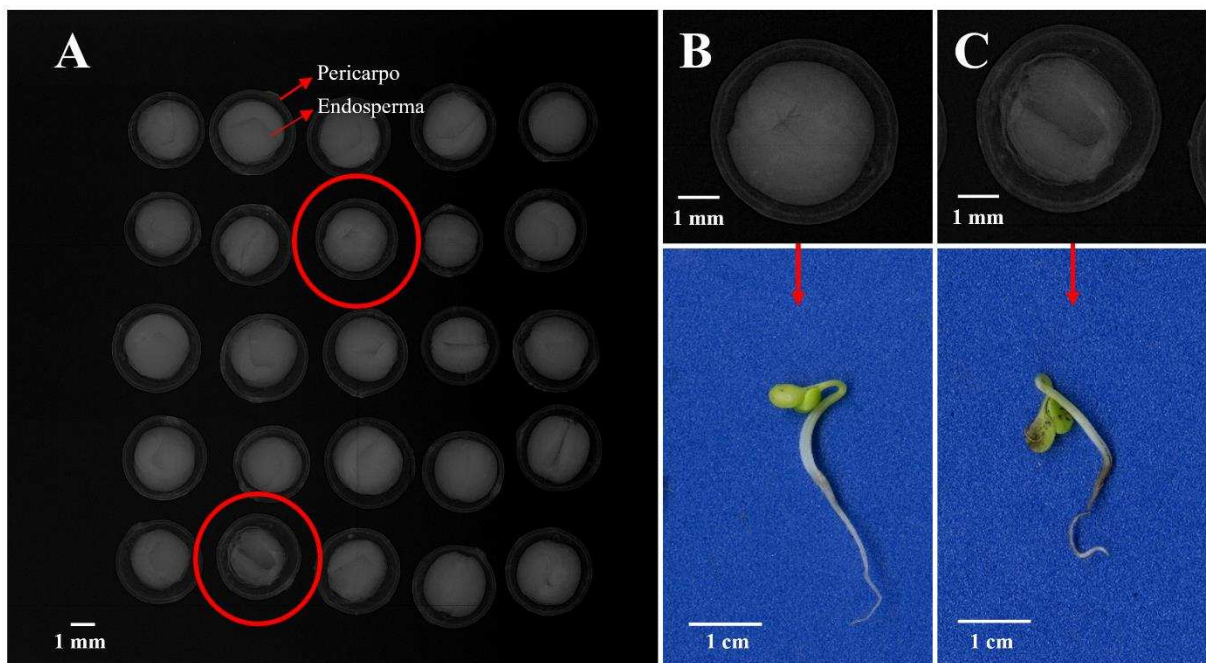


Figura 2. A: Imagem radiográfica das sementes de crambe. B: Semente preenchida com sua respectiva plântula normal. C: Semente com espaço vazio e sua respectiva plântula anormal.

Na Figura 2A podem ser observadas as estruturas fundamentais das sementes, em que o pericarpo constitui o revestimento externo e o endosperma constitui o tecido interno. Na Figura 2B é apresentada uma semente completamente preenchida que resultou em uma plântula bem formada e saudável. Já na figura 2C, nota-se uma plântula anormal que se originou de uma semente com espaços vazios internos mais pronunciados. No entanto, apesar da alta qualidade das imagens radiográficas obtidas, não foi possível visualizar com precisão o eixo embrionário das sementes. Ribeiro et al. (2021) também não conseguiram fazer essa visualização ao obter imagens radiográficas de sementes de crambe. Eles relataram que, como demonstrado em estudos anteriores com sementes oleaginosas, o teor de óleo das sementes influencia na nitidez das estruturas internas visualizadas nas imagens, dificultando por vezes a identificação de tecidos importantes como o eixo embrionário. Os autores ressaltaram que o formato esférico das sementes, aliado ao alto teor de óleo, variando entre 36% e 38%, pode ter dificultado a visualização detalhada de suas estruturas internas.

Além da composição da semente, sabe-se que sua espessura, densidade e o próprio comprimento de onda da radiação influenciam na qualidade das imagens radiográficas obtidas dificultando por vez a identificação do eixo embrionário ou demais estruturas internas (ISTA, 2005). No caso do crambe, a intensidade da radiação utilizada pode não ter sido eficiente para essa identificação, devido ao fato de que o embrião das sementes e seu tecido de reserva (endosperma) podem ter apresentado densidade similar, fazendo com que a radiação que ultrapassou as sementes fosse absorvida por ambos tecidos de modo semelhante.

Na Tabela 1, observa-se que as variáveis área e perímetro das sementes não apresentaram diferenças significativas entre os lotes de cada linhagem. Para as variáveis circularidade e solidez, apenas o lote 2 foi inferior aos demais lotes para linhagem FMS CR 1101, enquanto para as outras linhagens não houve diferença significativa entre os lotes. Em relação à circularidade, valores iguais a 1 indicam um círculo perfeito, enquanto valores próximos de 0 representam formas mais alongadas. Quanto à solidez, valores próximos a 1 indicam uma semente sólida, enquanto valores tendendo a 0 sugerem bordas irregulares ou presença de furos (Medeiros et al., 2020). No caso da linhagem FMS CR 1101, o lote 2 pode ter apresentado maior número de sementes com padrões irregulares e/ou danos no pericarpo, o que pode justificar a diferença estatística entre os demais lotes dessa linhagem e refletir posteriormente em um menor potencial fisiológico desse lote.

Quanto as variáveis densidade relativa (DR) e integrada (DI), o lote 3 da linhagem FMS CR 1312 foi superior aos lotes 1 e 2. A densidade relativa é a média dos valores de cinza

de todos os pixels da área selecionada na imagem (sementes), enquanto a densidade integrada é soma dos valores de cinza dos pixels da imagem ou seleção (Medeiros et al., 2020). São variáveis que podem ser relacionadas com o potencial fisiológico de sementes, visto que a presença de maiores espaços vazios entre o tegumento (no caso do crambe, pericarpo) e o embrião podem resultar em plântulas anormais. No entanto, nem sempre é possível afirmar que uma semente que apresenta uma área interna com maior preenchimento pelo embrião resultará em plântulas maiores ou vigorosas (Gomes-Junior, 2010).

O lote 3 da linhagem FMS CR 1312 foi o lote submetido ao maior tempo de envelhecimento artificial, logo se esperava que sua área interna estivesse menos preenchida pelo endosperma devido ao estresse por alta umidade e temperatura, o que pode resultar no consumo de reservas pelo embrião. No entanto, como observado anteriormente, esse lote apresentou os maiores valores de DI e DR. Uma possível explicação para isso é que, após 96 horas de envelhecimento, o processo de umedecimento fez com que o embrião e os tecidos de reserva aumentassem de tamanho, similar ao que ocorre na embebição. Embora o lote tenha passado por um processo de secagem natural para retornar à umidade inicial, as alterações causadas durante o envelhecimento, como o umedecimento da semente e expansão dos tecidos, podem ter contribuído para danos irreversíveis no seu sistema de reparação celular fazendo com que a semente não voltasse a sua conformidade inicial, resultando em valores de DR e DI superiores aos do lote 1, que possui maior vigor.

De modo similar, o mesmo processo de danos internos pode ter ocorrido para os lotes 2 das linhagens FMS CR 1326 e 1106, submetidos ao envelhecimento artificial por 48h, que apresentaram valores superiores para as variáveis DR e DI em relação ao lote 1 de suas respectivas linhagens. Para a linhagem FMS CR 1101, as médias das variáveis DR e DI apresentaram os mesmos valores para lote 1 e 3, então provavelmente as sementes do lote envelhecido retornaram ao tamanho original após o tempo de secagem natural. Enquanto o lote 2 dessa mesma linhagem, que já havia apresentado menores valores para circularidade e solidez, diferindo dos demais, foi inferior para DI e DR.

Tabela 1. Médias dos parâmetros físicos das sementes de crambe obtidos por meio da análise das imagens radiográficas.

Linhagem	Lotes	Área	Perímetro	Circularidade	Solidez	DR	DI
		mm²	mm	mm	-	cinza.pixel⁻¹	cinza.mm².pixel⁻¹
FMS CR 1312	L1	7,05 a	10,02 a	0,88 a	0,98 a	33,21 b	232,68 ab
	L2	7,05 a	10,01 a	0,89 a	0,99 a	30,17 b	210,03 b
	L3	7,07 a	9,97 a	0,89 a	0,99 a	41,57 a	278,51 a
	CV (%)	6,25	2,97	1,15	0,31	10,21	13,2
FMS CR 1101	L1	7,05 a	9,92 a	0,897 a	0,991 a	42,99 a	293,35 a
	L2	6,76 a	9,91 a	0,818 b	0,990 b	26,75 b	179,8 b
	L3	7,05 a	9,92 a	0,897 a	0,991 a	42,99 a	293,35 a
	CV (%)	4,19	1,98	0,12	0,08	2,54	8,94
FMS CR 1326	L1	6,77 a	9,8 a	0,89 a	0,98 a	28,79 b	195,41 b
	L2	7,01 a	9,92 a	0,89 a	0,99 a	45,10 a	308,93 a
	L3	6,63 a	9,66 a	0,89 a	0,99 a	34,38 b	213,59 b
	CV (%)	7,43	3,85	0,58	0,14	13,28	17,84
FMS CR 1106	L1	6,92 a	9,84 a	0,89 a	0,99 a	45,75 b	314,35 ab
	L2	6,77 a	9,74 a	0,89 a	0,99 a	48,91 a	329,04 a
	L3	6,64 a	9,64 a	0,89 a	0,99 a	44,95 b	292,81 b
	CV (%)	4,63	2,31	0,15	0,04	2,86	5,94

Densidade Relativa (DR); Densidade Integrada (DI). Médias seguidas pela mesma letra em cada coluna e para cada linhagem não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0,05 de probabilidade. Coeficiente de variação (CV).

4.2. Caracterização da qualidade fisiológica dos lotes de sementes

Na Tabela 2, observa-se que os graus de umidade dos diferentes lotes de sementes foram uniformes, não variando mais que 1,7% para os lotes de nenhuma das linhagens estudadas. A uniformidade no grau de umidade é uma característica fundamental para que as avaliações sejam padronizadas e seus resultados sejam consistentes (Marcos-Filho et al., 2015). Além disso, é importante que o grau de umidade não apresente uma variação que ultrapasse dois pontos percentuais, a fim de que os processos metabólicos, bem como o processo de deterioração das sementes, ocorram em intensidades semelhantes (Silva e Vieira, 2010).

Tabela 2. Médias de umidade e dos parâmetros avaliados no teste de germinação para os 12 lotes de sementes de crambe.

Linhagem	Lotes	GU	G	PCG	IVG	PR	IVPR
		%	%	%		%	
FMS CR 1312	L1	5,4	94,0 a	94,0 a	5,87 a	99,5 a	11,64 a
	L2	7,1	86,5 a	86,5 a	5,40 a	97,0 a	9,70 b
	L3	5,8	88,0 a	88,0 a	5,50 a	97,0 a	9,06 b
	CV (%)	-	9,14	9,14	9,14	3,32	7,46
FMS CR 1101	L1	6,4	93,0 a	93,0 a	5,81 a	99,5 a	11,14 a
	L2	5,9	88,0 a	88,0 a	5,50 a	99,4 a	9,66 b
	L3	5,6	79,5 b	79,5 b	4,96 b	96,0 b	9,04 b
	CV (%)	-	6,38	6,38	6,38	2,18	6,69
FMS CR 1326	L1	6,3	92,0 a	90,5 a	5,70 a	99,5 a	9,18 a
	L2	5,7	93,0 a	90,0 a	5,73 a	98,5 a	8,54 a
	L3	5,6	78,0 b	67,5 b	4,59 b	90,5 b	7,54 b
	CV (%)	-	9,21	13,72	10,59	5,18	6,82
FMS CR 1106	L1	6,2	92,0 a	90,0 a	5,69 a	98,5 a	8,95 a
	L2	5,9	88,0 a	87,42 a	5,48 a	96,0 a	8,02 a
	L3	5,9	73,5 b	51,5 b	4,00 b	81,5 b	6,58 b
	CV (%)	-	11,22	16,92	11,53	8,81	9,21

Grau de umidade (GU); Germinação (G); Primeira contagem de germinação (PCG); Índice de velocidade de germinação (IVG); Protrusão radicular (PR); e Índice de velocidade de protrusão radicular (IVPR). Médias seguidas pela mesma letra em cada coluna e para cada linhagem não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Coeficiente de variação (CV).

Quanto as variáveis germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), índice de velocidade de germinação (IVG) e protrusão radicular (PR), é possível observar que os tempos de envelhecimento artificial (48 e 96 h) não foram capazes de diferenciar em classes de vigor nenhum dos três lotes estudados para a linhagem FMS CR 1312. O envelhecimento

artificial ao qual as sementes foram submetidas foi conduzido sob condições de alta temperatura e umidade, seguindo os princípios do envelhecimento acelerado, que considera que lotes de sementes de alto vigor mantêm sua viabilidade quando submetidos a curtos períodos de condições adversas severas de temperatura e umidade relativa (Matera et al., 2019). Esse estresse causado pelo teste resulta no aumento da respiração pelas sementes e no consumo de reservas pelo embrião, o que pode interferir na reparação de suas células internas ou mesmo causar danos irreversíveis para a formação de uma plântula normal. Assim essa linhagem se mostrou a mais vigorosa dentre as linhagens estudadas, pois mesmo após os períodos de envelhecimento artificial, os lotes mantiveram elevada porcentagem de germinação e vigor.

Para as linhagens FMS CR 1101, 1326 e 1106, as variáveis G, PCG, IVG e PR apresentaram a mesma segmentação dentre os três lotes estudados para cada linhagem, sendo que o lote 3 se diferenciou dos demais obtendo as menores médias. O teste de germinação é conduzido sob condições ideais para cada espécie, assim seu princípio é expressar o máximo potencial de germinação nessas condições (Brasil, 2009). Percebe-se que todos os lotes de cada linhagem apresentaram germinação/viabilidade superior a 60%, que é o valor mínimo estabelecido pela legislação para comercialização de sementes básicas de crame no Brasil (Brasil, 2013).

Já os testes de primeira contagem de germinação, índice de velocidade de germinação e protrusão radicular são testes de vigor. O teste de primeira contagem de germinação tem como princípio o fato de que lotes mais vigorosos apresentam maior porcentagem de plântulas normais por ocasião da primeira contagem (Carvalho; Nakagawa, 2000). O índice de velocidade de germinação é um teste que possui como princípio que sementes de alto potencial fisiológico germinam e se desenvolvem mais rapidamente do que as de menor vigor, e assim as plântulas provenientes dessas sementes resultarão em maior possibilidade de desenvolvimento (Cruz et al., 2022). E o de protrusão radicular é contabilizado para que se saiba quais sementes emitem raiz primária mais precocemente e, por consequência, são mais vigorosas, sendo esse o princípio do teste (Oliveira et al., 2019). Assim os lotes que foram envelhecidos por 96 h para as linhagens FMS CR 1101, 1326 e 1106 podem ser classificados como de menor vigor.

Quanto à variável índice de velocidade de protrusão radicular (IVPR), podemos perceber que foi o único teste capaz de indicar uma possível redução no potencial fisiológico dos lotes de sementes ocasionado pelos tempos de envelhecimento artificial para a linhagem FMS CR 1312. Observa-se que essa variável evidenciou a superioridade do lote 1 (não envelhecido) para as linhagens FMS CR 1312 e 1101. Enquanto para as linhagens FMS CR

1326 e 1106 essa variável permitiu a segmentação do lote 3 de cada uma como sendo o menos vigoroso. No entanto, podemos observar pelas médias obtidas que naturalmente essas linhagens já apresentavam uma protrusão radicular mais lenta até para o lote não envelhecido.

Na Tabela 3, observa-se que, para as variáveis comprimento da parte aérea (CPA), comprimento da raiz (CR), comprimento total (CT), razão entre o comprimento da raiz/comprimento da parte aérea (RRA), índice de crescimento (IC) e índice de uniformidade (IU), para a linhagem FMS CR 1312 não foram observadas variações significativas entre as médias dos lotes analisados. Para a linhagem FMS CR 1101, observou-se menores médias do CPA e maiores médias do CR e CT para o lote 1, sugerindo que as plântulas desse lote apresentaram um sistema radicular mais profundo. Isso pode resultar em melhor estabelecimento do estande em campo, possivelmente associado a plântulas mais vigorosas, como era esperado para o lote não envelhecido artificialmente. Já para a linhagem FMS CR 1326, os lotes 1 e 2 apresentaram as maiores médias para CPA, CR e CT, diferindo do lote 3 (envelhecido artificialmente por 96 horas), também indicando que as plântulas dos primeiros lotes eram mais vigorosas. Quanto à FMS CR 1106, o lote 1 também diferiu dos demais, apresentando maiores médias para CPA, CR e CT, evidenciando um bom crescimento das plântulas e corroborando que o lote não envelhecido foi o mais vigoroso dessa linhagem.

Tabela 3. Médias dos parâmetros avaliados no teste de crescimento de plântulas de 12 lotes de sementes de crambe.

Linhagem	Lotes	CPA	CR	CT	RRA	IC	IU	IV
FMS CR 1312	L1	1,19 a	2,11 a	3,30 a	1,89 a	201,84 a	950,52 a	357,93 a
	L2	1,35 a	1,88 a	3,24 a	1,40 a	183,57 a	965,76 a	338,49 a
	L3	1,32 a	2,11 a	3,44 a	1,60 a	203,46 a	957,16 a	356,77 a
	CV (%)	17,11	17,32	12,87	25,82	16,29	1,65	7,38
FMS CR 1101	L1	0,81 b	2,33 a	3,14 a	2,85 a	218,01 a	934,91 b	383,11 a
	L2	1,02 a	1,99 a	3,02 ab	1,98 b	189,67 a	956,51 a	352,32 a
	L3	1,11 a	1,50 b	2,62 b	1,37 c	147,01 b	962,52 a	306,58 b
	CV (%)	13,36	16,42	12	18,41	15,6	1,38	8,18
FMS CR 1326	L1	1,16 a	1,56 a	2,73 a	1,33 b	152,47 a	967,70 ab	339,99 a
	L2	1,13 a	1,82 a	2,95 a	1,60 a	175,42 a	961,42 b	359,34 a
	L3	0,78 b	0,97 b	1,76 b	1,24 b	95,48 b	972,06 a	274,79 b
	CV (%)	9,13	15,68	11,44	13,7	14,86	0,66	7,31
FMS CR 1106	L1	0,93 a	1,38 a	2,31 a	1,47 a	133,84 a	966,44 b	301,49 a
	L2	0,67 b	0,66 b	1,33 b	0,97 b	66,30 b	981,78 a	270,12 b

L3	0,50 b	0,59 b	1,10 b	1,17 b	59,04 b	980,60a	256,53 b
CV (%)	20,39	27,92	23,55	14,95	27,03	0,48	8,73

Comprimento de parte aérea (CPA); Comprimento da raiz (CR); Comprimento total (CT); Razão entre o comprimento da raiz/comprimento da parte aérea (RRA); Índice de crescimento (IC); Índice de uniformidade (IU); e Índice de vigor (IV). Médias seguidas pela mesma letra em cada coluna e para cada linhagem não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Coeficiente de variação (CV).

Para a linhagem FMS CR 1101, a variável RRA foi a única que diferenciou os três lotes em três níveis de qualidade, sendo o lote 1 superior e mostrando que esse lote investiu mais em crescimento da parte radicular quando comparado aos demais para essa linhagem. Quanto ao IC e IV, os lotes 1 e 2 apresentaram médias superiores para a FMS CR 1101. O índice de crescimento tem relação com o vigor das plântulas calculado com base nas médias aritméticas entre o comprimento da parte aérea e da raiz, sendo que quanto maior o valor do índice, maior é o vigor das plântulas (Sako et al., 2001). Já o índice de vigor pondera o crescimento e a uniformidade, sendo que seus valores podem variar de 0 a 1000. Altos valores para esse índice mostram a superioridade de lotes mais vigorosos em detrimento dos menos vigorosos (Sako et al., 2001). Assim, mais uma vez, o lote não envelhecido e o envelhecido por 48 h foram mais vigorosos que o lote envelhecido por 96 h. Para a variável IU, os lotes 2 e 3 foram os que apresentaram médias superiores, porém esses lotes também foram os que apresentaram as menores médias de CPA, CR e CT, indicando apenas que dentre os lotes analisados suas plântulas eram uniformemente pequenas.

Para a linhagem FMS CR 1326, de acordo com a variável RRA, observa-se que o lote 2 foi o que mais investiu em crescimento radicular. Os lotes 1 e 2 apresentaram maiores médias de IC e IV, e o lote 2 apresentou maior variação no comprimento de plântulas para essa linhagem, ou seja, menor IU. Quanto a FMS 1106, a média da RRA indicou que o lote 1 foi o lote que apresentou maior proporção de sistema radicular. De acordo com o IC e o IV, observa-se que o lote 1 apresentou as maiores plântulas e era o mais vigoroso, apesar de apresentar menor uniformidade de plântulas, dentre os lotes dessa linhagem.

Assim, podemos observar que para a maioria das linhagens os lotes 1 e 2, não envelhecido e envelhecido artificialmente por 48 horas, respectivamente, foram os mais vigorosos. Desse modo, os lotes foram segmentados de acordo com seu potencial fisiológico. Sendo a variável germinação (tabela 2) escolhida para a separação dos lotes em classes de maior e menor potencial fisiológico, sendo estabelecido o valor de germinação igual ou superior a 85% para a primeira classe e abaixo de 85% de germinação para a segunda (Tabela 4).

Tabela 4. Divisão de classes de acordo com potencial fisiológico das sementes de crambe. Maior potencial fisiológico: maior ou igual a 85% de germinação. Menor potencial fisiológico: menor que 85% de germinação.

Cultivar	Lotes	Classes
FMS 1312	L1	Maior potencial fisiológico
	L2	Maior potencial fisiológico
	L3	Maior potencial fisiológico
FMS 1101	L1	Maior potencial fisiológico
	L2	Maior potencial fisiológico
	L3	Menor potencial fisiológico
FMS 1326	L1	Maior potencial fisiológico
	L2	Maior potencial fisiológico
	L3	Menor potencial fisiológico
FMS 1106	L1	Maior potencial fisiológico
	L2	Maior potencial fisiológico
	L3	Menor potencial fisiológico

Experimento I – Espectroscopia no Infravermelho Próximo – NIR para classificação das sementes em classes de potencial fisiológico

Para a obtenção dos modelos de classificação das sementes de acordo com seu potencial fisiológico, os espectros foram coletados em todo domínio espectral da faixa NIR de 1000 a 2500 nm (Figura 3). Os 12 lotes de sementes foram divididos em duas classes de acordo com seu potencial fisiológico. A primeira classe correspondeu aos lotes que apresentaram germinação superior ou igual a 85% (maior potencial fisiológico) e a segunda classe inferior a 85% de germinação (menor potencial fisiológico). Dos 12 lotes, nove foram agrupados na primeira classe e três na segunda.

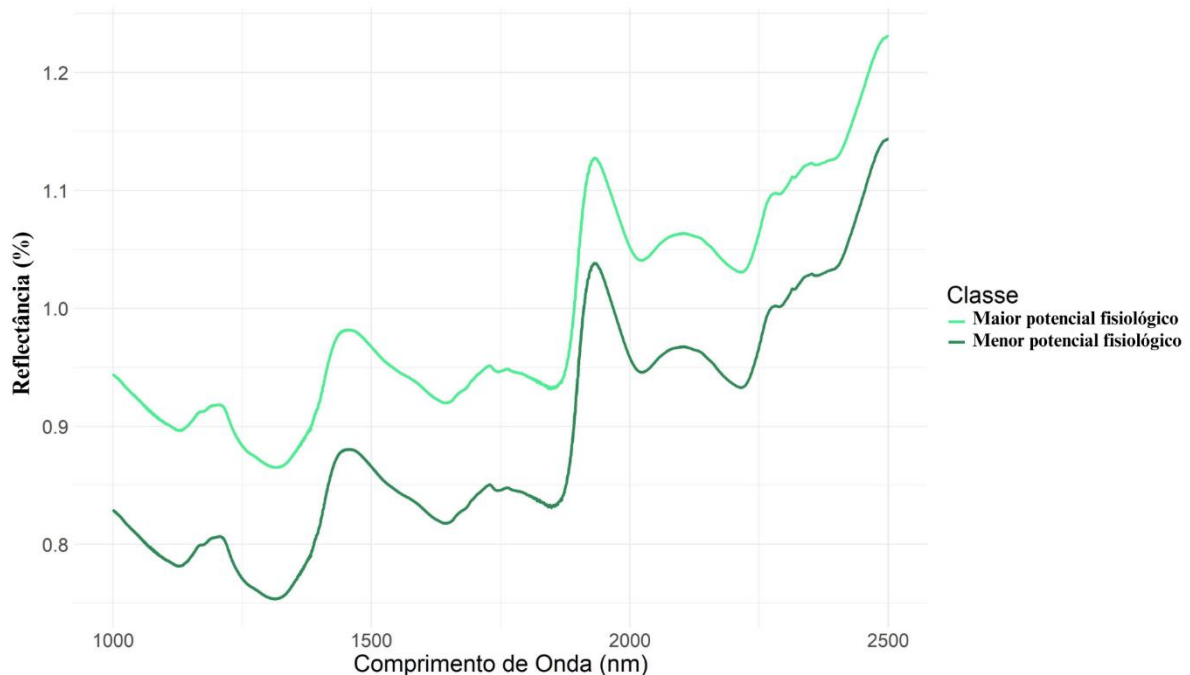


Figura 3. Espectros brutos médios de amostras de sementes de *Crambe abyssinica* em duas classes de acordo com o potencial fisiológico.

Foi possível observar que os padrões espectrais de todas as amostras foram semelhantes para as duas classes ao longo de toda a faixa de comprimento de onda. No entanto, a reflectância foi maior para a classe de maior potencial fisiológico (Figura 3). Geralmente as características físicas das amostras são observadas como fundo e ruído no espectro NIR, assim um espectro não depende apenas da composição química das amostras, mas também das características físicas (Chen et al., 2007). Em alguns trabalhos, maior reflectância foi associada a sementes menos vigorosas e viáveis, sendo que alguns autores afirmam que os tecidos mais

saudáveis são metabolicamente mais ativos; logo, absorvem mais energia luminosa e refletem menos (Shetty et al., 2011; Olesen et al., 2015; Bianchini et al., 2021). No entanto, esse padrão não foi observado nas sementes avaliadas nesse estudo, pois as amostras que apresentaram maior reflectância corresponderam a classe de sementes com maior potencial germinativo. Soares et al. (2024) observaram o mesmo padrão em sementes de soja, onde a classe mais vigorosa também possuía a maior refletância.

Para calibração e validação do modelo obtido por meio da PLS-DA foram testados diferentes tipos de pré-processamentos para classificação dos lotes de acordo com as duas classes de potencial fisiológico das sementes. Esses modelos obtidos com os espectros pré-processados apresentaram diferenças na eficiência de classificação, com acurácias que variaram de 0,60 a 0,96 (Tabela 5).

Tabela 5. Valores de acurácia e coeficiente Kappa para os dados de validação dos modelos de classificação obtidos por meio da PLS-DA, com diferentes técnicas de pré-processamento, para avaliação dos lotes de sementes de crambe de acordo com suas classes de potencial fisiológico

Modelo	Pré-processamento	Validação (n = 28)	
		Acurácia	Kappa
PLS-DA	Dados originais	0,78	0,51
	SNV	0,93	0,84
	1ª derivada	0,71	0,37
	2ª derivada	0,78	0,51
	1ª derivada de Savitzky-Golay	0,96	0,92
	2ª derivada de Savitzky-Golay	0,60	0,16
	SNV + SG 1ª derivada	0,68	0,35
	SNV + SG 2ª derivada	0,68	0,34

A técnica de análise multivariada PLS-DA é um método supervisionado eficaz para avaliação de dados espectrais. Esse método supervisionado baseia-se em duas etapas consecutivas: primeiro, um conjunto de dados com amostras cuja classe é conhecida é utilizado para construir um modelo com parâmetros adequados que irão otimizar a discriminação entre os dados de diferentes classes; em seguida, amostras cujas classes são desconhecidas são atribuídas a uma classe adequada usando os parâmetros otimizados durante a primeira etapa (Varmuza; Filzmoser., 2016).

Existem diversos estudos que utilizam a modelagem PLS-DA direcionada a espectroscopia no infravermelho próximo a fim de classificar e selecionar lotes de sementes de

acordo com seu potencial fisiológico. Recentemente, alguns deles alcançaram bons resultados com altos valores de acurácia utilizando a modelagem PLS-DA para discriminar sementes de pinheiro (Khouja et al., 2022), soja (Saputri et al, 2022; Soares et al., 2024) e arroz (Wang et al., 2024).

Dentre os pré-processamentos utilizados, apenas os pré-processamentos SNV e 1ª derivada de SG foram superiores para a classificação dos lotes com acurácia e Kappa elevados ($> 0,80$) (Tabela 5). O modelo PLS-DA em que utilizamos o pré-processamento 1ª derivada de SG, com janela de 17 pontos, obteve valores de acurácia de 0,96 e coeficiente Kappa de 0,92 para os dados de validação, respectivamente, sendo esse o melhor modelo obtido.

A técnica de pré-processamento SNV é normalmente usada como uma correção a fim de remover a variação de dispersão da fonte de luz nos dados espectrais, excluindo interferências multiplicativas (Buddenbaum e Steffens, 2012). O filtro Savitzky-Golay, por sua vez, é utilizado a fim de reduzir o ruído de alta frequência em um sinal, devido a suas propriedades de suavização, além de reduzir o sinal de baixa frequência usando diferenciação. Essas são as razões pelas quais o filtro SG é uma das ferramentas de processamento de sinal mais popular em espectroscopia (Gallagher, 2020).

Para avaliar o desempenho do melhor modelo de classificação, ou seja, o modelo obtido utilizando-se os espectros pré-processados com o filtro da primeira derivada de Savitzky-Golay, também foi feita uma matriz de confusão, que exhibe a distribuição das duas classes de sementes de acordo com a sua classe original e a classe prevista indicando a eficiência e qualidade do modelo (Figura 4). Khatri et al. (2022) utilizaram a matriz de confusão para o mesmo fim, medir a eficiência do modelo de classificação, baseado no princípio de que a matriz é necessária para fornecer o número de previsões corretas e erradas com base em valores verdadeiros conhecidos.

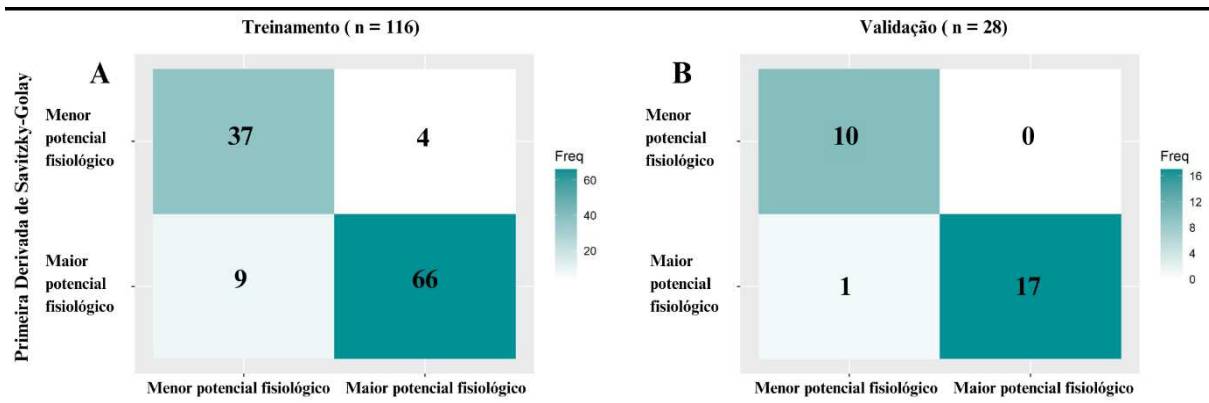


Figura 4. Matriz de confusão da classificação dos lotes de sementes de crambe de acordo com as duas classes de potencial fisiológico por meio do modelo PLS-DA utilizando-se os espectros pré-processados com o filtro da primeira derivada de Savitzky-Golay.

A matriz de confusão do modelo obtido a partir dos dados pré-processados pelo filtro da 1ª derivada de Savitzky-Golay indica que os erros foram majoritariamente associados a classe de maior potencial fisiológico ($\geq 85\%$ de germinação), sendo observado tal comportamento tanto nos dados de treinamento, como nos de validação. Para os dados de treinamento, quatro amostras da classe de menor potencial fisiológico ($< 85\%$ de germinação) foram erroneamente alocadas na classe de maior potencial fisiológico, enquanto nove amostras da classe de maior potencial fisiológico foram preditas como classe de menor potencial fisiológico. Já para os dados de validação do modelo, apenas um espectro da classe de maior potencial fisiológico foi predito de forma incorreta, enquanto todos os espectros da classe de menor potencial fisiológico foram preditos corretamente, não sendo observados assim erros na classificação da classe de menor potencial fisiológico.

Com base no melhor modelo obtido, construiu-se um gráfico de importância geral das variáveis para a classificação das sementes de acordo com as duas classes de potencial fisiológico (Figura 5). Os comprimentos de onda que mais contribuíram para a separação das classes de acordo com o potencial fisiológico das sementes representam quatro regiões (I: 1300 – 1400 nm; II: 1800 – 1900 nm; III: 2000 – 2100 nm, IV: 2250 – 2300 nm). Dessas quatro regiões, a região de comprimento de onda de 1800 – 1900 nm foi a que obteve maior importância, sendo provavelmente essa região relacionada a maior diferenciação do potencial fisiológico das sementes.

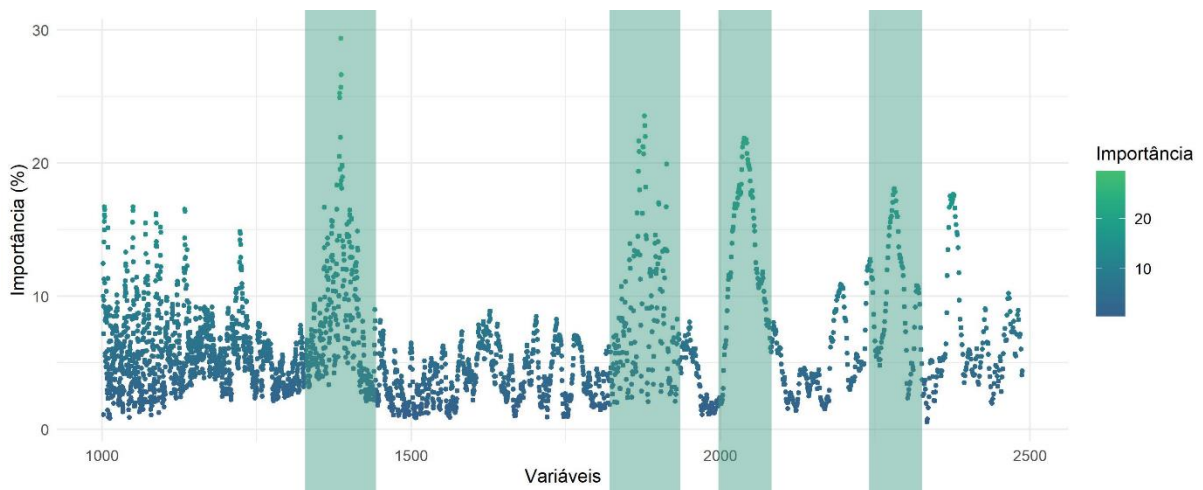


Figura 5. Importância das faixas de comprimento de onda para classificação dos lotes de sementes de *Crambe abyssinica* de acordo com o potencial fisiológico.

A faixa de comprimento de onda entre 1300 e 1400 nm pode estar associada a presença de lipídios na semente. Hourant et al. (2000) afirmaram que a faixa entre 1350 e 1430 nm é representada por combinações de bandas que possuem ligações com a molécula de CH_2 características de C-H, e os picos de 1392 a 1414 nm se associam às bandas de combinação provenientes da vibração de C-H associadas aos lipídios. Sabe-se que o conteúdo de óleo nas sementes de crambe é alto, com teores entre 30 e 51% (Santos et al., 2015; Tavares et al., 2017), composto predominantemente de ácidos graxos monoinsaturados como o ácido erúico ($\text{C}_{22}\text{H}_{42}\text{O}_2$). Assim, essa região do comprimento de onda pode estar indicando a interação entre esses compostos com a radiação na região do infravermelho próximo.

Para a faixa de comprimento de onda entre 1800 e 1900 nm, estudos com sementes comumente as relacionam com a interação entre a radiação do infravermelho próximo e moléculas associadas a proteína. Como é o caso de um estudo com soja que associou a absorção em 1860 nm com esse composto (Kusumaningrum et al., 2018). A absorção em 2000 – 2100 nm também pode estar associada a interação das moléculas de proteína, como afirma Shenk et al. (2007), que relataram que a região em torno de 2058 nm pode ser relacionada a molécula de N-H (proteína) e a região de 2155 nm ao estiramento C-H proveniente da interação entre o infravermelho com teores de óleo.

A faixa de comprimento de onda na região de 2250 a 2300 nm também contribuiu para a separação de classes de sementes de acordo com seu potencial fisiológico, porém de modo mais sutil que as faixas nas regiões II, III e IV. Autores associam os picos de 2.282 e 2.330 nm

a presença de carboidratos nas amostras avaliadas, enquanto o pico de 2.300 se relaciona à banda de absorvância de proteínas (Xu et al., 2019).

Sabe-se que o processo de envelhecimento artificial ao qual as sementes foram submetidas altera seus compostos internos e leva à redução do seu potencial fisiológico. No entanto, lotes de sementes que apresentam alto vigor costumam manter sua viabilidade quando submetidos as condições de umidade e temperatura elevada, características do envelhecimento acelerado, enquanto os de baixo vigor apresentam redução em sua viabilidade (AOSA, 2000). Nesse sentido, os lotes de sementes da linhagem FMS CR 1312 foram os mais vigorosos dentre os estudados.

Além disso, as sementes se deterioram naturalmente com o passar do tempo ao longo do armazenamento, no entanto quando são submetidas ao envelhecimento artificial esse processo que seria natural é simulado e acelerado pelo teste. O embrião das sementes nesse processo continua a consumir nutrientes armazenados para produzir energia, mantendo assim o metabolismo ativo durante o estresse (Matthews et al., 2012). Isso resulta em alterações de qualidade relacionadas ao metabolismo, ocasionando desorganização interna das membranas, relaxamento das estruturas dos tecidos, consumo de reservas e redução das atividades enzimáticas, o que leva à deterioração fisiológica do embrião e à redução da viabilidade das sementes, refletindo no seu potencial fisiológico (Marshall; Lewis, 2004; Rajaramanna et al., 2010; Spanò et al., 2011).

A taxa de deterioração das sementes em espécies oleaginosas, como é o caso do crambe, depende das condições do ambiente e do armazenamento, além das particularidades da semente, que abrange sua composição química (Abreu et al., 2013). Logo, outra causa frequente de deterioração e perda da viabilidade dessas sementes está associada à peroxidação de lipídios. Esse processo é ativado pela ação do oxigênio sobre determinado ácido graxo poliinsaturado que se localiza nas membranas das sementes. O aumento da peroxidação de lipídios ocasiona danos à membrana celular e, conseqüentemente, gera subprodutos tóxicos (Schwember e Bradford, 2010). Essas alterações internas influenciam nos teores de óleo, proteína e carboidratos pertencentes à composição das sementes. Essas alterações internas estão relacionadas às diferenças observadas na reflectância ao se analisar os espectros NIR, sendo que os compostos interagem de modo diferente com a radiação infravermelha de acordo com sua concentração nas sementes, visto que temos a classe de sementes de maior potencial fisiológico, que não foi submetida ao envelhecimento artificial, e a classe de menor potencial

fisiológico, que foi submetida ao envelhecimento. Provavelmente, nas sementes envelhecidas esses compostos sofreram reduções e isso influenciou no padrão espectral observado.

Desse modo, embora a técnica de espectroscopia NIR não consiga quantificar esses compostos específicos, o modelo obtido via PLS-DA após o pré-processamento com o filtro 1ª derivada do SG permitiu classificar os lotes de sementes de crambe com base em seu potencial fisiológico. Os picos e vales observados nos espectros que são gerados pela excitação dos sobretons de compostos e ligações químicas interagindo com a radiação do infravermelho próximo são capazes de permitir a identificação de regiões da faixa espectral que possuem maior importância para distinção dos níveis de qualidade das sementes. Assim, a espectroscopia NIR tem potencial para ser utilizada como ferramenta auxiliar para classificação de lotes de sementes de crambe quanto ao potencial fisiológico. O espectrômetro infravermelho com transformada de Fourier pode ser calibrado para prever o potencial fisiológico de sementes da espécie, sendo mais uma metodologia para avaliação da qualidade na indústria de sementes, possibilitando uma rápida pré-seleção dos lotes, além de economizar tempo e recursos.

Experimento II – Análise de imagens multiespectrais para classificação de sementes de crambe quanto ao potencial fisiológico

A utilização de imagens multiespectrais é uma tecnologia que vem apresentando sucesso como método não-invasivo para discriminar lotes de sementes com diferentes níveis de qualidade. Os modelos de classificação das sementes de acordo com seu potencial fisiológico foram obtidos pelo processamento dos valores de pixel extraídos das imagens multiespectrais que foram convertidos em reflectância dos espectros, abrangendo os comprimentos de onda da faixa UV-VIS-NIR de 395 a 940 nm (Figura 6). Cada semente individual foi classificada, de acordo com o lote que pertencia, em uma das duas classes de acordo com o potencial fisiológico. A primeira classe correspondeu aos lotes que apresentaram germinação superior ou igual a 85% (maior potencial fisiológico) e a segunda classe lotes com germinação menor que 85% de germinação (menor potencial fisiológico).

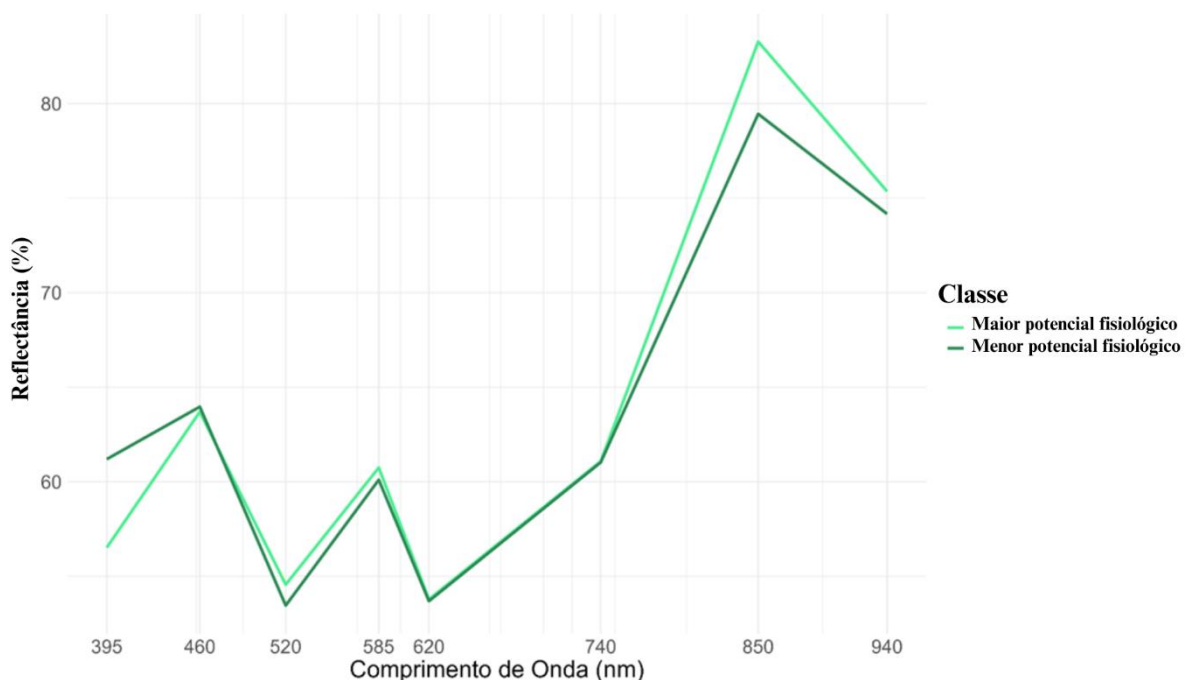


Figura 6. Espectros brutos médios das sementes de *Crambe abyssinica* obtidos por meio da análise de imagens multiespectrais de duas classes de acordo com o potencial fisiológico.

Nota-se no presente estudo que os padrões espectrais (picos e vales) foram similares para as duas classes ao longo da faixa de comprimento de onda. Quanto à reflectância, percebe-se que ela permitiu a separação das duas classes de acordo com o potencial fisiológico dos lotes de sementes. Podemos observar que a classe com maior potencial fisiológico apresentou

maiores valores de reflectância nos seguintes comprimentos de onda: 490, 520, 740 e 940 nm. A classe de menor potencial de germinação, apresentou maiores valores de reflectância apenas para os comprimentos de onda 395 e 460 nm (Figura 6). Segundo Hansen et al. (2016), uma imagem multiespectral apresenta valores de pixel que se sobrepõem à semente, representando a química tanto na superfície quanto no interior da semente, na pequena área coberta pelo pixel. Dessa forma, os valores de reflectância, sejam eles maiores ou menores, podem estar associados à qualidade e viabilidade das sementes por terem relação com sua composição. Wang et al. (2021a) também observaram que suas classes de sementes vigorosas e envelhecidas apresentaram comportamentos distintos ao longo da faixa de comprimento de onda do UV (365 nm) ao NIR (970 nm) em relação à reflectância. Os autores notaram que as sementes envelhecidas apresentaram maiores intensidades de reflectância na região NIR (850 a 970 nm), enquanto a classe de sementes vigorosas mostrou maior reflectância espectral na faixa de 450 a 690 nm em sementes de alfafa.

Para calibração e validação do modelo obtido por meio do *Random Forest* – RF, diferentes métodos de pré-processamentos foram testados para a classificação dos lotes de acordo com o potencial fisiológico das sementes. Os modelos obtidos com os pré-processamentos dos espectros apresentaram diferenças na eficiência de classificação, com acurácias que variaram de 0,70 a 0,81 (Tabela 6). A validação cruzada dos modelos via RF foi feita utilizando 5 *folds* para evitar o viés e sobreajuste do modelo.

Tabela 6. Valores de acurácia e coeficiente Kappa para os dados de validação do modelo Random Forest (RF) com diferentes técnicas de pré-processamento, para classificação dos lotes de sementes de crambe de acordo com seu potencial fisiológico.

Modelo	Pré-processamento	Validação (n = 238)	
		Acurácia	Kappa
RF	Dados originais	0,74	0,49
	SNV	0,77	0,54
	MSC	0,81	0,62
	1ª derivada de Savitzky-Golay	0,70	0,40
	2ª derivada	0,74	0,48

O método de classificação RF se baseia em árvores de decisão que utiliza regras para dividir dados em binário. Na estrutura da árvore, a representação das folhas corresponde aos rótulos de classe, enquanto os nós representam as regras de decisão que irão resultar na destinação das amostras a uma classe específica (Santana; Neto; Poppi, 2019). O método RF de

classificação também é baseado em um tipo de estratégia de aprendizado chamada “*ensemble learning*”, onde se geram muitos classificadores e posteriormente se agregam seus resultados (Liu et al., 2013). O modelo de classificação RF possibilita interpretações valiosas para avaliar parâmetros de qualidade de sementes, como teor de óleo e proteína, podendo também revelar a importância de diferentes características (Rajković et al., 2021).

A utilização do modelo de classificação RF destinado para discriminar lotes de sementes com base em seu potencial fisiológico por meio de espectros obtidos utilizando imagens multiespectrais está presente na literatura em alguns artigos. Acurácias em torno de 90% foram encontradas para discriminar sementes de alta e baixa qualidade em melancia por meio de imagens multiespectrais com o modelo de classificação RF (Liu et al., 2019). Em sementes de tomate e cenoura, o modelo RF atingiu 95% e 97% de acurácia, respectivamente, para classificar lotes de sementes de alto e baixo vigor utilizando imagens multiespectrais (Galletti et al., 2020). Já em sementes de colza, espécie da mesma família do crambe, há um estudo onde foi possível fazer a predição de rendimento e qualidade das sementes por meio do RF. Contudo, essa predição não envolveu a classificação por meio de imagens multiespectrais. O experimento foi realizado em campo com 40 genótipos de colza, e o modelo foi aplicado para prever os seguintes componentes: rendimento de sementes, rendimento de óleo e proteína, teor de óleo e proteína, e peso de 1000 sementes. As predições foram baseadas nos dados de genótipo e clima do ano de produção, destacando a eficácia do uso dessas variáveis na estimativa dos componentes de rendimento e qualidade das sementes (Rajković et al., 2021).

Com base nos pré-processamentos utilizados, a 2ª derivada apresentou os mesmos valores de acurácia que os dados originais e um coeficiente Kappa de 0,48 (Tabela 6). O pré-processamento 1ª derivada de SG foi o único inferior para a classificação dos lotes de sementes com acurácia e Kappa abaixo dos valores obtidos para os dados originais, sendo 0,70 e 0,40, respectivamente. Para o modelo obtido com os dados pré-processados utilizando o método *Multiplicative Scatter Correction* (MSC), foram obtidos valores de acurácia de 0,81 e coeficiente Kappa 0,62 para o conjunto de dados de validação, sendo o melhor modelo de classificação obtido para o protótipo UV-VIS-NIR.

A técnica de pré-processamento MSC é utilizada para correção de dispersão multiplicativa sendo necessário para esse fim um espectro de referência. Normalmente se considera para isso o espectro médio de todo o conjunto de calibração. O pré-processamento MSC corrige fatores com o objetivo de remover efeitos aditivos e multiplicativos. Assim, cada

espectro individual é regredido no espectro médio e os coeficientes de regressão linear fornecem estimativas desses fatores (Dhanoa et al., 1994).

Uma matriz de confusão foi elaborada para se observar o padrão de classificação do modelo obtido e avaliar seu desempenho, exibindo a distribuição das classes de sementes com base em sua classe original e a classe predita, e indicando o quão preciso e eficiente o modelo é em discriminar as duas classes de sementes (Figura 7). É comum em trabalhos de aprendizado de máquina e avaliação da eficiência de modelos de classificação a utilização da matriz de confusão, pois a matriz fornece informações sobre a classificação prevista, onde os elementos da diagonal principal fornecem os dados classificados corretamente e os elementos fora da diagonal informam os dados classificados de modo incorreto (Kiratiratanapruk et al., 2020; Satoto et al., 2022; Madhavan et al., 2023).

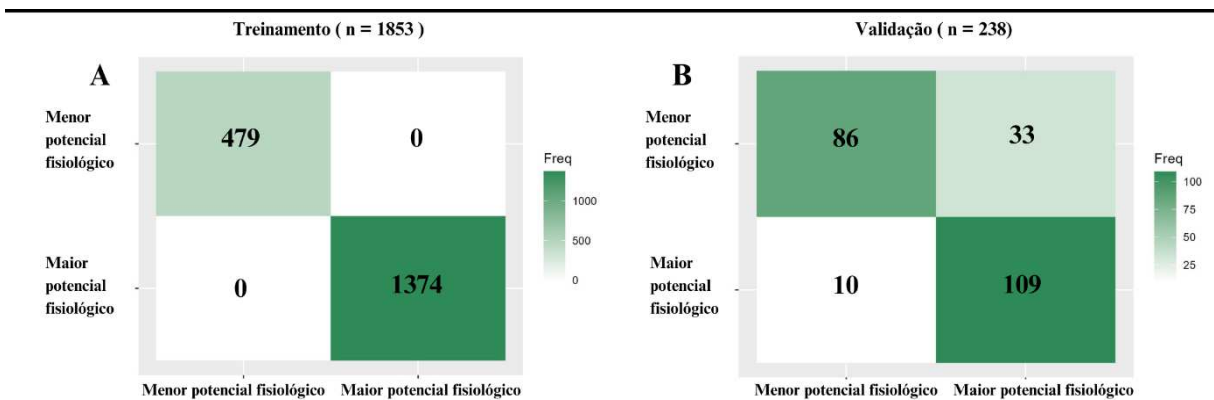


Figura 7. Matriz de confusão da classificação dos lotes de sementes de crambe em duas classes de acordo com o potencial fisiológico por meio do modelo RF utilizando-se os espectros pré-processados com a técnica *Multiplicative Scatter Correction*.

A matriz de confusão do modelo obtido com o pré-processamento dos dados pela técnica MSC demonstra que para os dados de treinamento não houve erros de classificação para a classe de maior potencial fisiológico ($\geq 85\%$ de germinação) e nem para a classe de menor potencial fisiológico ($< 85\%$ de germinação), sendo os 1853 espectros obtidos no protótipo UV-VIS-NIR e segmentados para o treinamento do modelo classificados corretamente. Já para os dados de validação, na classe de maior potencial fisiológico, dos 119 espectros pertencentes a essa classe, 10 foram preditos de forma incorreta, enquanto para os 119 espectros da classe de menor potencial fisiológico, 33 foram preditos incorretamente.

Desse modo, com os resultados obtidos por meio do modelo de classificação RF para os espectros do protótipo UV-VIS-NIR construiu-se o gráfico de importância geral das variáveis

para classificação dos lotes de sementes, de acordo com as duas classes (Figura 8). Dentre os oito comprimentos de onda avaliados e obtidos com o protótipo para o modelo de classificação RF após o pré-processamento MSC, os que apresentaram maior importância para a construção do modelo e classificação do potencial fisiológico das sementes foram os comprimentos de onda: I: 385 nm; II: 740 nm; III: 850 nm; IV: 940 nm. Esses comprimentos apresentaram importância superior a 75% para a classificação dos lotes em duas classes de acordo com o potencial fisiológico.

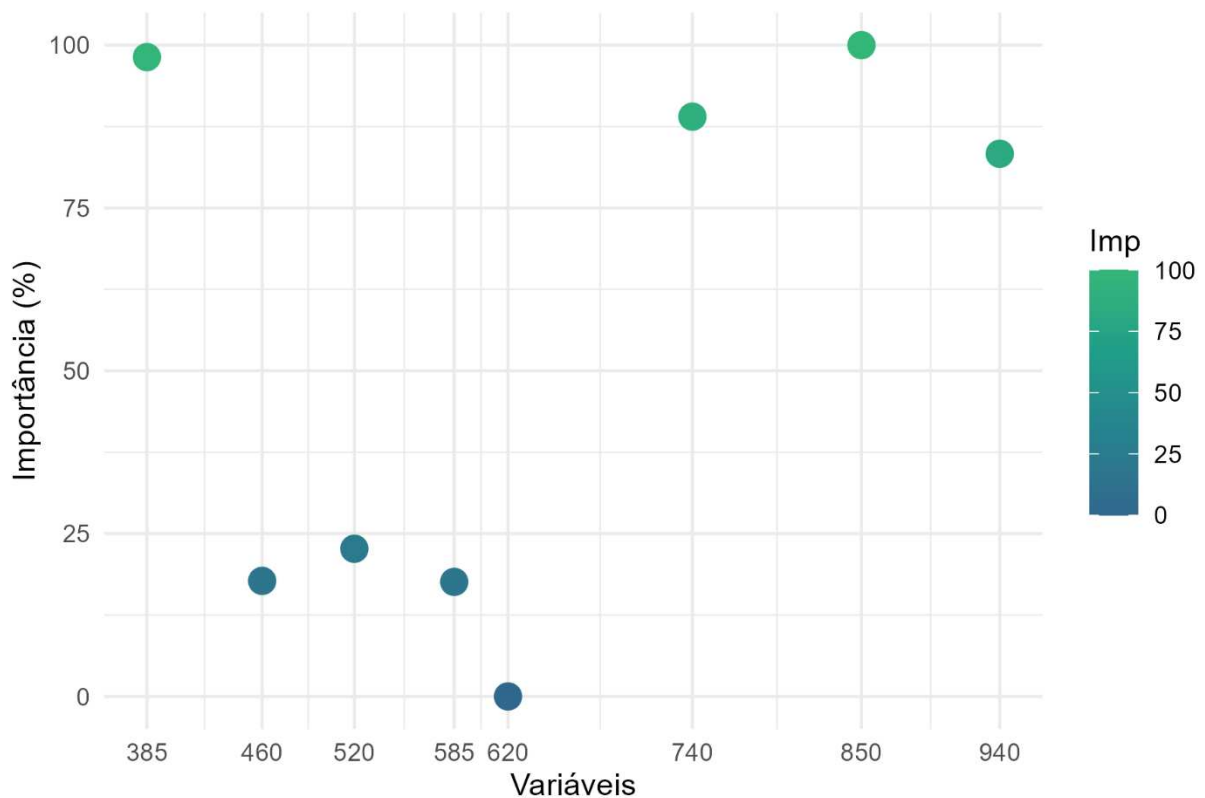


Figura 8. Importância dos comprimentos de onda para o modelo de classificação RF quanto ao potencial fisiológico de sementes de *Crambe abyssinica*.

O pico de refletância do comprimento de onda I (385 nm) para imagens multiespectrais de sementes é um comprimento de onda na região do ultravioleta. Sabe-se que a região de comprimento de onda onde a luz possui de 320–500 nm, referente a luz UV e azul, se caracteriza como uma região que pode ser absorvida por fitocromos, criptocromos e fototropinas, sendo estes fotorreceptores responsáveis por modular vários processos fisiológicos das sementes, como germinação, desenvolvimento do embrião e realocação de cloroplastos (Jones, 2018). Em um estudo com sementes de soja e sua correlação com imagens multiespectrais para

classificação da qualidade fisiológica, o comprimento de onda de 365 a 400 nm possibilitou maiores sinais espectrais de autofluorescência nas sementes que eram viáveis se correlacionando fortemente com os fenóis totais do embrião (Barboza da Silva et al., 2021). Se atribui a natureza da intensidade de autofluorescência na faixa de 365 a 660 nm predominantemente a clorofilas, que conseguem absorver uma faixa mais ampla do espectro de luz. Além das clorofilas, essa região também excita compostos como a lignina e o ácido ferúlico constituinte da parede celular (Buschmann et al., 2000; Donaldson e Williams, 2018; Galletti et al., 2020).

O comprimento de onda de 740 nm se encontra na região de comprimento de luz conhecida como vermelha e vermelha distante (600–750 nm), sendo detectado esse pico de reflectância principalmente pelo fitocromo nas plantas (Rockwell et al., 2006). Em sementes de colza, espécie pertencente à mesma família do crambe, regiões do comprimento de onda que vão de 728 a 749 nm foram associadas com a determinação de lipídios que determinavam significativamente a qualidade das sementes (Wojciechowski et al., 2016).

Já os comprimentos de onda de 850 e 940 nm se localizam na região do infravermelho, sendo o primeiro o de maior absorção pelas amostras de sementes (Figura 6). O pico de absorção em faixas de comprimento de onda na região de 900 a 940 nm podem ser causados pela interação entre a água contida nas sementes e a luz irradiada. Em um estudo com sementes de milho, foi possível observar um pico agudo na região em torno de 932 nm causado pela forte absorção de água contida nas sementes (Wang et al., 2021b).

O envelhecimento artificial das sementes de crambe resulta na deterioração de seus compostos internos, ocasionando alterações no potencial fisiológico das amostras de sementes. Essas alterações internas são refletidas pelas sementes ao entrarem em contato com a luz por meio dos espectros, pois sabe-se que uma semente vigorosa não apresentará os mesmos compostos que uma semente deteriorada, gerando diferentes respostas aos comprimentos de onda. Assim como para a técnica de espectroscopia NIR, a utilização de imagens multiespectrais não é capaz de possibilitar a quantificação dos compostos alterados de modo específico, mas permite fazer a correlação entre os picos de reflectância mais importantes e os compostos excitados a fim de classificar os lotes com base no seu potencial fisiológico. Desse modo, o modelo obtido via RF após o pré-processamento MSC para o protótipo UV-VIS-NIR foi eficiente ao segmentar os lotes de sementes de crambe em duas classes. Desse modo, a técnica apresenta potencial de utilização na indústria de sementes tanto para classificar os lotes

de acordo com seu potencial fisiológico durante o processo de produção, como para monitorar a qualidade das sementes durante o armazenamento.

5. CONCLUSÃO

A espectroscopia NIR e a análise de imagens multiespectrais são ferramentas promissoras que podem ser utilizadas para classificação de lotes de sementes de crambe quanto ao potencial fisiológico.

REFERÊNCIAS

- ABREU, L. A. DE S., CARVALHO, M. L. M. DE ., PINTO, C. A. G., KATAOKA, V. Y., & SILVA, T. T. DE A. Deterioration of sunflower seeds during storage. *Journal of Seed Science*, 35(2), 240–247, 2013.
- AOSA - Association of Official Seed Analysts (2000) Seed vigor testing handbook.
- AQUINO, G. S., VENTURA, M. U., ALEXANDRINO, R. P., MICHELON, T. A., DE ARAUJO PESCADOR, P. G., NICIO, T. T., HATA, F. T. Plant-promoting rhizobacteria *Methylobacterium komagatae* increases crambe yields, root system and plant height. *Industrial crops and products*, v. 121, p. 277-281, 2018.
- BARBOZA DA SILVA, C., OLIVEIRA, N. M., DE CARVALHO, M. E. A., DE MEDEIROS, A. D., DE LIMA NOGUEIRA, M., & DOS REIS, A. R. (2021). Autofluorescence-spectral imaging as an innovative method for rapid, non-destructive and reliable assessing of soybean seed quality. *Scientific reports*, 11(1), 17834.
- BIANCHINI, V. D. J. M., MASCARIN, G. M., SILVA, L. C. A. S., ARTHUR, V., CARSTENSEN, J. M., BOELT, B., & BARBOZA DA SILVA, C. (2021). Multispectral and X-ray images for characterization of *Jatropha curcas* L. seed quality. *Plant Methods*, 17(1), 1-13.
- BRASIL. Portaria SDA nº 16, de 25 de janeiro de 2013. Projeto de Instrução Normativa e Anexos que aprovam normas e padrões de identidade e de qualidade para produção e comercialização de sementes das espécies de gramíneas (Poaceae) forrageiras, espécies de leguminosas (Fabaceae) forrageiras e outras espécies de forrageiras. *Diário Oficial da União*, Brasília, 28 de janeiro de 2013. Seção 1. https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/30034279/do1-2013-01-28-portaria-n-16-de-25-de-janeiro-de-2013-30034267.
- BUDDENBAUM, H; STEFFENS, M. The effects of spectral pretreatmentson chemometric analyses of soil profiles using laboratory imaging spectroscopy. *Appl Environ Soil Sci* 2012:1–12 (2012).
- BUSCHMANN, C., LANGSDORF, G. & LICHTENTHALER, H. K. Imaging of the blue, green, and red fluorescence emission of plants: An overview. *Photosynthetica* 38, 483–491. <https://doi.org/10.1023/A:1012440903014> (2000).
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 4. ed. Jaboticabal: Funep, 2000.
- CAVALHEIRO, L. F., PRADO, E. R. L., de FREITAS, O. N., NAZÁRIO, C. E. D., RIAL, R. C., & VIANA, L. H. Biofuels obtained from the crambe (*Crambe abyssinica*) oil. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 175, 106214, 2023.
- CHEN D., CAI W., SHAO X. (2007): An adaptive strategy for selecting representative calibration samples in the continuous wavelet domain for near-infrared spectral analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387: 1041–1048.
- CHOUNG, M. G., BAEK, I. Y., KANG, S. T., HAN, W. Y., SHIN, D. C., MOON, H. P., KANG, K. H. Determination of protein and oil contents in soybean seed by near infrared reflectance spectroscopy. *Korean Journal of Crop Science*, 46(2), 106-111, 2001.
- COSTA, C. J., MENEGHELLO, G. E., JORGE, M. H. A., & COSTA, E. The importance of physiological quality of seeds for agriculture. In *Colloquium Agrariae*. ISSN: 1809-8215 (Vol. 17, No. 4, pp. 102-119), 2021.
- COSTA, E., ALMEIDA, M. F., ALVIM-FERRAZ, C., DIAS, J. M. The cycle of biodiesel production from *Crambe abyssinica* in Portugal. *Industrial Crops and Products*, 129, 51-58, 2019.

- CRUZ, M. S. F. V., DE MATOS MALAVASI, M., RISTAU, A. C. P., MALAVASI, U. C., DRANSKI, J. A. L., & BRAZ, H. (2022). Seed and seedlings quality of *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan harvested in Paraná State, Brazil. *Scientia Agraria Paranaensis*, 286-294.
- DA SILVA BROCHADO, MAURA GABRIELA; DE NORONHA, B. G; DA COSTA LIMA, A; GUEDES, A. G; DA SILVA, R. C; DOS SANTOS DIAS, D. C. F; MENDES, K. F. What is the most effective analytical method for quantification and identification of microplastics in contaminated soils?. *Environmental Geochemistry and Health*, v. 46, n. 7, p. 260, 2024.
- de MARINS, A. C., REICHERT, J. M., SECCO, D., ROSA, H. A., VELOSO, G. Crambe grain yield and oil content affected by spatial variability in soil physical properties. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 81, 464-472, 2018.
- DE SANTANA, FELIPE BACHION; NETO, WALDOMIRO BORGES; POPPI, RONEI J. Random Forest as one-class classifier and infrared spectroscopy for food adulteration detection. *Food chemistry*, v. 293, p. 323-332, 2019.
- DELL'AQUILA, A. (2007). Towards new computer imaging techniques applied to seed quality testing and sorting. *Seed Science and Technology*, 35(3), 519–538. doi:10.15258/sst.2007.35.3.01 10.15258/sst.2007.35.3.01.
- DHANOVA, M. S. et al. The Link between Multiplicative Scatter Correction (MSC) and Standard Normal Variate (SNV) Transformations of NIR Spectra. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, v. 2, n. 1, p. 43–47, jan. 1994. <https://doi.org/10.1255/jnirs.30>.
- DONALDSON, L. & WILLIAMS, N. Imaging and spectroscopy of natural fluorophores in pine needles. *Plants* 7, 10. <https://doi.org/10.3390/plants7010010> (2018).
- ELIAS, Sabry G. The importance of using high quality seeds in agriculture systems. *Agricultural Research & Technology: Open Access Journal*, v. 15, n. 4, p. 1-2, 2018.
- ELMASRY, G., MANDOUR, N., AL-REJAIE, S., BELIN, E., ROUSSEAU, D. Recent applications of multispectral imaging in seed phenotyping and quality monitoring—An overview. *Sensors*, v. 19, n. 5, p. 1090, 2019a.
- ELMASRY, G., MANDOUR, N., WAGNER, M. H., DEMILLY, D., VERDIER, J., BELIN, E., ROUSSEAU, D. Utilization of computer vision and multispectral imaging techniques for classification of cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds. *Plant methods*, v. 15, p. 1-16, 2019b.
- FALASCA, S. L., FLORES, N., LAMAS, M. D. C., CARBALLO, S. M., ANSCHAU, A. Crambe abyssinica: An almost unknown crop with a promissory future to produce biodiesel in Argentina. *International Journal of Hydrogen Energy*, v. 35, n. 11, p. 5808-5812, 2010.
- FINCH-SAVAGE, William E.; BASSEL, George W. Seed vigour and crop establishment: extending performance beyond adaptation. *Journal of experimental botany*, v. 67, n. 3, p. 567-591, 2016.
- GALLAGHER, Neal B. Savitzky-Golay smoothing and differentiation filter. *Eigenvector Research Incorporated*, 2020.
- GALLETTI, P. A., CARVALHO, M. E., HIRAI, W. Y., BRANCAGLIONI, V. A., ARTHUR, V., & BARBOZA DA SILVA, C. Integrating optical imaging tools for rapid and non-invasive characterization of seed quality: Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and carrot (*Daucus carota* L.) as study cases. *Frontiers in Plant Science*, v. 11, p. 577851, 2020.
- GOMES-JUNIOR, Francisco Guilhien. Aplicação da análise de imagens para avaliação da morfologia interna de sementes. *Informativo Abrates*, v. 20, n. 3, p. 33-39, 2010.
- HACISALIHOGU, G., LARBI, B., SETTLES, A. M. Near-infrared reflectance spectroscopy predicts protein, starch, and seed weight in intact seeds of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(2), 702-706, 2010.

- HANSEN MAE, HAY FR, CARSTENSEN JM. A virtual seed file: the use of multispectral image analysis in the management of genebank seed accessions. *Plant Genetic Resources*. 2016;14(3):238-241. doi:10.1017/S1479262115000362.
- HOURANT, P. et al. Oil and fat classification by selected bands of near-infrared spectroscopy. *Applied Spectroscopy*, v. 54, p. 1168-1174, 2000.
- HUANG M, WANG QG, ZHU QB, QIN JW, HUANG G. Review of seed quality and safety tests using optical sensing technologies. *Seed Sci Technol*. 2015; 43:337–46. <https://doi.org/10.15258/sst.2015.43.3.16>.
- ISTA. International Rules for Seed Testing, Edition 2005. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland, 2005.
- JONES, M. A. Using light to improve commercial value. *Hortic. Res*. 5, 47. 2018. Doi: 10.1030/s41438-018-0049-7.
- KHATRI, AJAY; AGRAWAL, SHWETA; CHATTERJEE, JYOTIR M. Wheat seed classification: utilizing ensemble machine learning approach. *Scientific programming*, v. 2022, n. 1, p. 2626868, 2022.
- KHOUSA, M., PÁSCOA, R. N., MELO, D., COSTA, A. S., NUNES, M. A., KHALDI, A., & ALVES, R. C. Lipid Profile Quantification and Species Discrimination of Pine Seeds through NIR Spectroscopy: A Feasibility Study. *Foods*, v. 11, n. 23, p. 3939, 2022.
- KIRATIRATANAPRUK, K., TEMNIRANRAT, P., SINTHUPINYO, W., PREMPREE, P., CHAITAVON, K., PORNTHEERAPHAT, S., & PRASERTSAK, A. Development of paddy rice seed classification process using machine learning techniques for automatic grading machine. *Journal of Sensors*, 2020(1), 7041310.
- KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: Abrates, 1999. 218 p.
- KUHN, Max. The caret package, 2011.
- KUSUMANINGRUM, D., LEE, H., LOHUMI, S., MO, C., KIM, M. S., CHO, B. K. Non-destructive technique for determining the viability of soybean (*Glycine max*) seeds using FT-NIR spectroscopy. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 98, n. 5, p. 1734-1742, 2018.
- LEE, J. H., CHOUNG, M. G. Determination of protein content in pea by near infrared spectroscopy. *Food science and biotechnology*, 18(1), 60-65, 2009.
- LIMA, S. F., TIMOSSI, P. C., BROD, E., TEIXEIRA, I. R., & DE ASSIS SILVA, J. Matocompetição na cultura de Crambe abyssinica cultivado em safra e safrinha. *Revista Cultura Agrônômica*, v. 27, n. 3, p. 297-311, 2018.
- LIU, M; WANG, M; WANG, J; LI, D. Comparison of random forest, support vector machine and back propagation neural network for electronic tongue data classification: Application to the recognition of orange beverage and Chinese vinegar. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 177, p. 970-980, 2013.
- LIU, W., XU, X., LIU, C. AND ZHENG, L. Rapid discrimination of high-quality watermelon seeds by multispectral imaging combined with chemometric methods. *Journal of Applied Spectroscopy*, 85, 1044-1049, 2019.
- MADHAVAN, J., SALIM, M., DURAIRAJ, U., & KOTTEESWARAN, R. Wheat seed classification using neural network pattern recognizer. *Materials Today: Proceedings*, v. 81, p. 341-345, 2023.
- MANLEY, Marena. Near-infrared spectroscopy and hyperspectral imaging: non-destructive analysis of biological materials. *Chemical Society Reviews*, v. 43, n. 24, p. 8200-8214, 2014.
- MARCOS FILHO, J.; GOMES JUNIOR, F. G.; BENNETT, M. A; WELLS, A. A; STIEVE, S. Using Tomato Analyzer software to determine embryo size in x-rayed seeds. *Revista*

- Brasileira de Sementes, v. 32, p. 146–153. 2010. <https://doi.org/10.1590/S010131222010000200018>.
- MARCOS-FILHO, J. Teste de vigor: importância e utilização. In: KRZYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J.B.; MARCOS-FILHO, J. Vigor de sementes: conceitos e testes. Londrina: ABRATES, p.17-72, 2020.
- MARSHALL, Athole H.; LEWIS, D. N. Influence of seed storage conditions on seedling emergence, seedling growth and dry matter production of temperate forage grasses. *Seed Science and Technology*, v. 32, n. 2, p. 493-501, 2004.
- MATERA, T. C., PEREIRA, L. C., BRACCINI, A. L., KRZYZANOWSKI, F. C., SCAPIM, C. A., PIANA, S. C., MARTELI, D. C. V., PEREIRA, R. C., FERRI, G. C., & SUZUKAWA, A. K. Accelerated aging test and its relationship to physiological potential of soybean seeds. *Journal of Seed Science*, v. 41, p. 301-308, 2019.
- MATTHEWS, S., NOLI, E., DEMIR, I., KHAJEH-HOSSEINI, M., WAGNER, M. H. Evaluation of seed quality: from physiology to international standardization. *Seed Science Research*, v. 22, n. S1, p. S69-S73, 2012.
- MCDONALD, M.B. (1998). Seed quality assesment. *Seed Science Research*, 8, 265-275.
- MEDEIROS, A. D. de ., MARTINS, M. S., SILVA, L. J. da ., PEREIRA, M. D., LEÓN, M. J. Z., & DIAS, D. C. F. dos S. (2020). X-ray imaging and digital processing application in non-destructive assessing of melon seed quality. *Journal of Seed Science*, 42, e202042005. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v42229761>.
- MUSAEV, F., PRIYATKIN, N., POTRAKHOV, N., BELETSKIY, S., & CHESNOKOV, Y. Assessment of Brassicaceae seeds quality by X-ray analysis. *Horticulturae*, v. 8, n. 1, p. 29, 2021.
- OLESEN MHR, NIKNESHAN P, SHRESTHA S, TADAYYON A, DELEURAN LC, BOELT B, GISLUM R. Viability prediction of *Ricinus cummunis* L. seeds using multispectral imaging. *Sensors*. 2015;15:4592–4. <https://doi.org/10.3390/s150204592>.
- OLIVEIRA, I. C. DE ., REGO, C. H. Q., CARDOSO, F. B., ZUFFO, A. M., CÂNDIDO, A. C. DA S., & ALVES, C. Z. (2019). ROOT PROTRUSION IN QUALITY EVALUATION OF CHIA SEEDS. *Revista Caatinga*, 32(1), 282–287. <https://doi.org/10.1590/1983-21252019v32n129rc>.
- PASQUINI, Celio. Near infrared spectroscopy: A mature analytical technique with new perspectives—A review. *Analytica chimica acta*, v. 1026, p. 8-36, 2018.
- PASQUINI, Celio. Near Infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications, *J. Braz. Chem. Soc.*14 (2003)198 e 219.
- PINHEIRO, D. T., MEDEIROS, A. D. de, SOARES, T. F. S. N., CAPOBIANGO, N. P., & DIAS, D. C. F. dos S. (2022). Análise de imagem utilizando raios X para avaliação da qualidade de sementes de *Anadenanthera peregrina* (L) Speg. *Ciência Florestal*, 32(3), 1309–1322. <https://doi.org/10.5902/1980509863239>.
- RAJARAMMANNA, R.; JAYAS, D. S.; WHITE, N. D. G. Comparison of deterioration of rye under two different storage regimes. *Journal of Stored Products Research*, v. 46, n. 2, p. 87-92, 2010.
- RAJJOU L, DEBEAUJON I. Seed longevity: survival and maintenance of high germination ability of dry seeds. *C. R. Biol.* 331:796–805, 2008.
- RAJKOVIĆ, D., MARJANOVIĆ JEROMELA, A., PEZO, L., LONČAR, B., ZANETTI, F., MONTI, A., & KONDIĆ ŠPIKA, A. Yield and quality prediction of winter rapeseed—Artificial neural network and random forest models. *Agronomy*, v. 12, n. 1, p. 58, 2021.
- REED, Reagan C.; BRADFORD, Kent J.; KHANDAY, Imtiyaz. Seed germination and vigor: ensuring crop sustainability in a changing climate. *Heredity*, v. 128, n. 6, p. 450-459, 2022.

- REGO, C. H. Q., FRANÇA-SILVA, F., GOMES-JUNIOR, F. G., MORAES, M. H. D. D., MEDEIROS, A. D. D., & SILVA, C. B. D. Using multispectral imaging for detecting seed-borne fungi in cowpea. *Agriculture*, v. 10, n. 8, p. 361, 2020.
- RIGHINI, D., ZANETTI, F., & MONTI, A. The bio-based economy can serve as the springboard for camelina and crambe to quit the limbo. *OCL*, 23(5), D504, 2016.
- ROCKWELL, N. C., SU, Y.-S. & LAGARIAS, J. C. Phytochrome structure and signalling mechanisms. *Annu. Rev. Plant. Biol.* 57, 837–858 (2006).
- SAKO, Y.; MCDONALD, MB; FUJIMURA, K.; EVANS, AF; BENNETT, MA. A system for automated seed vigour assessment. *Seed science and technology*, v. 29, n. 3, p. 625-636, 2001.
- SAMARAPPULI, D., ZANETTI, F., BERZUINI, S., BERTI, M. T. Crambe (*Crambe abyssinica* Hochst): A non-food oilseed crop with great potential: A review. *Agronomy*, 10(9), 1380, 2020.
- SANTOS, K. A., BARICCATTI, R. A., CARDOZO-FILHO, L., SCHNEIDER, R., PALÚ, F., DA SILVA, C., & DA SILVA, E. A. Extraction of crambe seed oil using subcritical propane: Kinetics, characterization and modeling. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 104, p. 54-61, 2015.
- SAPUTRI, Devi Alicia Surya et al. Vis/NIR spectroscopy for non-destructive method in detecting soybean seeds viability. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. IOP Publishing, 2022. p. 012043.
- SATOTO, B. D., ANAMISA, D. R., YUSUF, M., SOPHAN, M. K., KHAIRUNNISA, S. O., & IRMAWATI, B. Rice seed classification using machine learning and deep learning. In: *2022 Seventh International Conference on Informatics and Computing (ICIC)*. IEEE, 2022. p. 1-7.
- SCHWEMBER, A.; BRADFORD, K. J. Quantitative trait loci associated with longevity of lettuce seeds under conventional and controlled deterioration storage conditions. *Journal of Experimental Botany*, v.61, n.15, p.4423-4436, 2010. <http://jxb.oxfordjournals.org/content/early/2010/08/06/jxb.erq248.full>.
- SHENK, JOHN S.; WORKMAN JR, JEROME J.; WESTERHAUS, MARK O. Application of NIR spectroscopy to agricultural products. In: *Handbook of near-infrared analysis*. CRC Press, 2007. p. 365-404.
- SHETTY N, MIN T-G, GISLUM R, OLESEN MH, BOELT B. Optimal sample size for predicting viability of cabbage and radish seeds based on near Infrared spectra of single seeds. *J Near Infrared Spectrosc.* 2011; 19:451–61. <https://doi.org/10.1255/jnirs.966>.
- SILVA, M. F., ARAUJO, E. F., da SILVA, L. J., AMARO, H. T. R., DIAS, L. A. D. S., DIAS, D. C. F. D. S. Tolerance of crambe (*Crambe abyssinica* Hochst) to salinity and water stress during seed germination and initial seedling growth. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 43, p. e025418, 2019.
- SILVA, V.N., SARMENTO, M.B., SILVEIRA, A.C., SILVA, C.S., CICERO, S.M. 2013. Avaliação da morfologia interna de sementes de *Acca sellowiana* O. Berg por meio de análise de imagens. *Revista Brasileira de Fruticultura* 35: 1158-1169.
- SOARES, J. M., BATISTA, T. B., SILVA, M. F. DA ., RODRIGUES, N. S., DIAS, D. C. F. DOS S., & SILVA, L. J. DA (2024). Classification of the physiological potential of soybean seed lots using infrared spectroscopy and chemometric methods. *Journal of Seed Science*, 46, e202446009. <https://doi.org/10.1590/2317-1545v46278267>.
- SPANÒ, C., BOTTEGA, S., LORENZI, R., & GRILLI, I. Ageing in embryos from wheat grains stored at different temperatures: oxidative stress and antioxidant response. *Functional Plant Biology*, v. 38, n. 7, p. 624-631, 2011.

- TAVARES, G. R., MASSA, T. B., GONÇALVES, J. E., DA SILVA, C., & DOS SANTOS, W. D. Assessment of ultrasound-assisted extraction of crambe seed oil for biodiesel synthesis by in situ interesterification. *Renewable Energy*, v. 111, p. 659-665, 2017.
- VARMUZA, KURT; FILZMOSER, PETER. Introduction to multivariate statistical analysis in chemometrics. CRC press, 2016.
- VON MARK, V. C., DIERIG, D. A. Trends in literature on new oilseed crops and related species: Seeking evidence of increasing or waning interest. *Industrial Crops and Products*, 37(1), 141-148, 2012.
- WAGNER, M. H., POWELL, A. A., DUPONT, A., SHINOHARA, T., DUCOURNAU, S. Radicle emergence test for cabbage can be assessed using multispectral imaging. *Seed Science and Technology*, v. 51, n. 3, p. 291-296, 2023.
- WALTERS C, BALLESTEROS D, VERTUCCI VA. Structural mechanics of seed deterioration: standing the test of time. *Plant Sci*. 179:565–73, 2010.
- WANG, D., DOWELL, F. E., RAM, M. S., SCHAPPAUGH, W. T. Classification of fungal-damaged soybean seeds using near-infrared spectroscopy. *International journal of food properties*, 7(1), 75-82, 2004.
- WANG, L., WANG, W., HUANG, Z., ZHEN, S., & WANG, R. Discrimination of internal crack for rice seeds using near infrared spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, p. 124578, 2024.
- WANG, X., ZHANG, H., SONG, R., HE, X., MAO, P., & JIA, S. Non-destructive identification of naturally aged alfalfa seeds via multispectral imaging analysis. *Sensors*, v. 21, n. 17, p. 5804, 2021a.
- WANG, Y., PENG, Y., QIAO, X., & ZHUANG, Q. Discriminant analysis and comparison of corn seed vigor based on multiband spectrum. *Computers and Electronics in Agriculture*, 190, 106444, 2021b.
- WANG, Yali., PENG, Y., ZHUANG, Q., ZHAO, X. Feasibility analysis of NIR for detecting sweet corn seeds vigor. *Journal of Cereal Science*, v. 93, p. 102977, 2020.
- WENG, Y., SHI, A., RAVELOMBOLA, W. S., YANG, W., QIN, J., MOTES, D., CHEN, P. A rapid method for measuring seed protein content in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). *American Journal of Plant Sciences*, 8(10), 2387, 2017.
- WILLIAMS, P.; NORRIS, K. Near-infrared Technology in the Agricultural and Food Industries, 2nd, American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, USA, 2001.
- WOJCIECHOWSKI, T., NIEDBAŁA, G., CZECHŁOWSKI, M., NAWROCKA, J. R., PIECHNIK, L., & NIEMANN, J. Rapeseed seeds quality classification with usage of VIS-NIR fiber optic probe and artificial neural networks. In 2016 International Conference on Optoelectronics and Image Processing (ICOIP) (pp. 44-48). IEEE, 2016.
- XIA, Y., XU, Y., LI, J., ZHANG, C., FAN, S. Recent advances in emerging techniques for non-destructive detection of seed viability: A review. *Artificial Intelligence in Agriculture*, 1, 35-47, 2019.
- ZHANG, S., LV, C., CUI, C., WANG, J., WU, J., MAO, W. Near-Infrared Spectral Analysis for Assessing Germination Rate of Rapeseed Seeds: An Applied Sciences Approach. *Applied Sciences*, v. 13, n. 19, p. 11001, 2023.
- ZHANG, S., ZENG, H., JI, W., YI, K., YANG, S., MAO, P., LI, M. Non-destructive testing of alfalfa seed vigor based on multispectral imaging technology. *Sensors*, v. 22, n. 7, p. 2760, 2022.