

# **BRUNO VICENTINI**

# SISTEMA COMPACTO DEDICADO À ANÁLISE DE SEMENTES POR MEIO DA TÉCNICA DO BIOSPECKLE LASER

## **BRUNO VICENTINI**

# SISTEMA COMPACTO DEDICADO À ANÁLISE DE SEMENTES POR MEIO DA TÉCNICA DO BIOSPECKLE LASER

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, área de concentração em Instrumentação, para a obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Roberto Alves Braga Júnior Orientador

Prof. Dr. José Eduardo Silva Gomes Coorientador

> Prof. Dr. José Luís Contado Coorientador

> > LAVRAS-MG 2024

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo próprio autor.

Vicentini, Bruno.

Sistema compacto dedicado à análise de sementes por meio da técnica do biospeckle laser / Bruno Vicentini. -2024 72 p. : il.

Orientador: Roberto Alves Braga Júnior. Coorientador: José Eduardo Silva Gomes, José Luís Contado. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2024. Bibliografia.

1. Análise. 2. Sementes. 3. Vigor. I. Alves Braga Júnior, Roberto. II. Silva Gomes, José Eduardo. III. Contado, José Luís. IV. Título.

## **BRUNO VICENTINI**

# SISTEMA COMPACTO DEDICADO À ANÁLISE DE SEMENTES POR MEIO DA TÉCNICA DO BIOSPECKLE LASER

# COMPACT SYSTEM DEDICATED TO SEED ANALYSIS USING THE BIOSPECKLE LASER TECHNIQUE

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programade Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, área de concentração em Instrumentação, para a obtenção do título de Doutor.

#### APROVADA em 01 de outubro de 2024.

Prof. Dr. Dimitri Campos Viana	UFLA
Prof. Dr. Everson Reis Carvalho	UFLA
Profa. Dra. Karina Teixeira Magalhães Guedes	UFBA
Prof. Dr. José Luís Contado	UFLA

Prof. Dr. Roberto Alves Braga Júnior Orientador

Prof. Dr. José Eduardo Silva Gomes Coorientador

> Prof. Dr. José Luís Contado Coorientador

> > LAVRAS-MG 2024



#### **AGRADECIMENTOS**

Ao Professor Roberto Alves Braga Júnior, por todo tempo, atenção e gentileza dedicados. E, acima de tudo, por ter sido uma das poucas pessoas a me ajudar espontaneamente nessa vida.

Ao professor José Luís Contado, por todo tempo dedicado, por sua extrema boa vontade em me passar seus conhecimentos e por toda a gentileza com a qual sempre me tratou.

Ao professor José Eduardo Silva Gomes, pela boa convivência e por sua imensa contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

Àqueles que contribuíram para que este trabalho fosse realizado: Adriana de Oliveira, Alessandra de Paula Moraes, Alcebíades Fogaça de Souza Sobrinho, Anderson Gomide Costa, Bia D. D. Vicentini, Dimitri Campos Viana, Edvaldo Aparecido Amaral da Silva, Everson Reis Carvalho, Ellen Waleska do Nascimento Contado, Fabiano José Ferreira, Fábio Lúcio Santos, Geraldo Henrique Castro, Gilmar Vilela Lima, Giovanni Francisco Rabelo, Joelma Xavier Santos, Juvêncio Pereira de Faria, Karina Teixeira Magalhães Guedes, Luana Teles Barroso, Michele Valquíria dos Reis, Olavo Roberto Sonego Júnior, Rafael Reis, Richardson Luciano da Rocha, Rinaldo César de Oliveira Nunes, Rolando de Jesus Gonzalez-Penã, Sérgio Antônio Brasil, Ubirajara Agero Batista e Vinícius Quintão Carneiro.

Aos professores da Universidade Federal de Lavras (UFLA) que contribuíram e contribuem para o desenvolvimento deste programa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG, à Universidade Federal de Lavras, ao Centro de Desenvolvimento de Instrumentação Aplicada à Agropecuária – CEDIA, ao Departamento de Automática – DAT, ao Laboratório de Análises de Água (Departamento de Engenharia Ambiental – DAM/EENG) e ao Laboratório de Sementes Florestais (Departamento de Ciências Florestais – DCF/ESAL).

Muito obrigado!



#### **RESUMO**

A análise de sementes utilizando a técnica do biospeckle laser (BSL) é reconhecida como uma metodologia viável para a realização do teste de vigor. Todavia, a técnica apresenta restrições de acesso para usuários finais, como, por exemplo, as relacionadas à sua baixa portabilidade. Este trabalho objetivou propor uma configuração mais compacta do sistema de captura de imagens, adotado pela técnica BSL dedicada à análise de sementes. Um minimicroscópio digital com magnificação integrada foi testado com um diafragma adaptado, em diferentes aberturas (3, 4, 5 mm e totalmente aberto). Os testes do minimicroscópio adaptado com o diafragma foram conduzidos no monitoramento de secagem de tinta e na avaliação da qualidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) de alto e baixo vigor comparados ao sistema tradicional laboratorial. A validação da avaliação da qualidade de sementes também ocorreu em comparação a um teste de emergência. Os resultados utilizando a abertura de 3 mm apresentaram a melhor performance, semelhante ao sistema tradicional laboratorial com abertura f/16. Os resultados da secagem de tinta apresentaram um ajuste  $R^2 = 0.944$  para o sistema de captura proposto em relação às medições de perda de massa. A separação de sementes de alto vigor e de baixo vigor foi obtida à nível de significância de 5% pela técnica do BSL no sistema compacto dedicado proposto, sendo validada também no teste de emergência. O sistema compacto dedicado à análise de sementes por meio da técnica do BSL mostrou-se viável, o que permite a sua portabilidade de forma confiável para laboratórios de análise de sementes e na lavoura.

Palavras-chave: portabilidade; validação; vigor.

#### **ABSTRACT**

The analysis of seeds using the biospeckle laser (BSL) technique is recognized as a viable methodology for conducting vigor testing. However, the technique presents access limitations for end users, such as those related to its low portability. This study aimed to propose a more compact configuration of the image capture system used by the BSL technique for seed analysis. A digital mini-microscope with integrated magnification was tested with an adapted diaphragm at different apertures (3, 4, 5 mm, and fully open). Tests of the adapted minimicroscope with the diaphragm were conducted for monitoring paint drying and evaluating the quality of high and low vigor common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds, compared to the traditional laboratory system. Seed quality assessment was also validated by comparison with an emergence test. The results using the 3 mm aperture showed the best performance, similar to the traditional laboratory system with an f/16 aperture. The paint drying results showed a fit of  $R^2 = 0.944$  for the proposed capture system in relation to mass loss measurements. The separation of high and low vigor seeds was obtained at a 5% significance level using the BSL technique in the proposed compact dedicated system, also validated by the emergence test. The compact system dedicated to seed analysis using the BSL technique proved to be viable, allowing reliable portability for seed analysis laboratories and field applications.

**Keywords:** portability; validation; vigor.

#### INDICADORES DE IMPACTO

A pesquisa desenvolvida nesta tese, ao propor um sistema compacto dedicado à análise de sementes utilizando a técnica do biospeckle laser (BSL), apresenta impactos relevantes em diversos contextos. Tecnologicamente, a criação de um sistema mais portátil e eficiente promove o uso acessível da técnica BSL fora de laboratórios de física-óptica, tornando-a disponível a um público mais amplo, como pequenos agricultores, cooperativas e centros de pesquisas, que antes tinham dificuldade de acesso a essatécnica. Economicamente, ao tornar mais acessível a técnica do BSL ao usuário final, o trabalho propicia o aumento da eficiência nas análises de sementes reduzindo os custos de produção. Socialmente, essa tecnologia pode ser utilizada por mais profissionais, em particular os usuários finais tanto de pequeno, quanto de grande porte. Os impactos do trabalho poderão ser sentidos em todos os locais que demandem técnica de análise de sementes, portanto, em níveis local, nacional e mundial. O impacto direto da pesquisa inclui técnicos e estudantes envolvidos nas fases de desenvolvimento e validação do equipamento, enquanto o número de usuários beneficiados (analistas, pesquisadores e agricultores), direta e indiretamente, só poderá ser mensurado conforme o sistema venha a ser utilizado e aceito. Os impactos deste trabalho se enquadram principalmente nas áreas temáticas de tecnologia e produção, meio ambiente e trabalho, pois visam melhorar práticas agrícolas. Além disso, o projeto está alinhado com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU: trabalho decente e crescimento econômico; indústria, inovação e infraestrutura.

#### **IMPACT INDICATORS**

The research developed in this thesis, by proposing a compact system dedicated to seed analysis using the biospeckle laser (BSL) technique, presents significant impacts across various contexts. Technologically, the creation of a more portable and efficient system promotes the accessible use of the BSL technique outside of physics-optics laboratories, making it available to a broader audience, such as small farmers, cooperatives, and research centers that previously faced difficulties in accessing this technique. Economically, by making the BSL technique more accessible to end users, the work enhances the efficiency of seed analyses while reducing production costs. Socially, this technology can be utilized by a wider range of professionals, particularly end users from both small and large-scale operations. The impacts of the work can be felt in all areas where seed analysis techniques are in demand, thus having local, national, and global implications. The direct impact of the research includes technicians and students involved in the development and validation phases of the equipment, while the number of users benefited (analysts, researchers, and farmers), both directly and indirectly, can only be measured as the system is implemented and accepted. The impacts of this work primarily fall within the thematic areas of technology and production, the environment, and labor, as it aims to improve agricultural practices. Moreover, the project aligns with the United Nations Sustainable Development Goals (SDGs), particularly: decent work and economic growth; industry, innovation, and infrastructure.

# LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema ilustrando os componentes do sistema laboratorial tradicional	25
Figura 2 - Esquema do sistema compacto dedicado à análise de sementes por meio da técnica	
do BSL com suas respectivas medidas	26
Figura 3 - Minimicroscópio digital com diafragma ajustável.	28
Figura 4 - Resultado de Speckle Quality Test de uma semente de feijão	29
Figura 5 - Semente onde estão identificadas as regiões de interesse, que são as do eixo	
embrionário e vascular	30
Figura 6 - Semente de feijão, com exemplo de pontos em distribuição Gaussiana	33
Figura 7 - Semente de feijãode alto vigor, mostrando os diferentes níveis de atividade	
biológica, sendo a do eixo embrionário apontada pela seta vermelha e a da região	
vascular apontada pela seta bege, com 24 horas de embebição	38
Figura 8 - GAVD de duas sementes de feijão.	40

# LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Evolução da secagem de tinta observada no sistema compacto dedicado (valores
de AVD) com um diafragma de aberturas de 3, 4, 5 mm de diâmetro etotalmente
aberto, e a perda de massa medida por uma balança35
Gráfico 2 - Dispersões em relação à massa da tinta, no tempo, comparadas aos diafragmas
(a) 3 mm, (b) 4 mm, (c) 5 mm de diâmetro e (d) totalmente aberto36
Gráfico 3 - Dispersão com a massa da tinta em função do tempo, comparado à câmera CCD
tradicional e lente macro, com abertura f/16
Gráfico 4 - Teste de emergência de 400 sementes de alto vigor e de 400 sementes de baixo
vigor

# LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Médias de AVD1 obtidas por meio do sistema tradicional laboratorial
Tabela 2 - Médias de AVD1 obtidas por meio do sistema compacto dedicado38
Tabela 3 - Médias dos índices numéricos obtidos de análises na região vascular das sementes.
39
Tabela 4 - Médias dos índices numéricos obtidos de análises na região do eixo embrionário
das sementes
Tabela 5 - Médias dos índices numéricos obtidos a partir de análises realizadas na região
vascular das sementes, com resultados do teste de Tukey40
Tabela 6 - Médias dos índices numéricos obtidos a partir de análises realizadas na região
vascular das sementes, com resultados do teste de Tukey41
Tabela 7 - Médias dos índices numéricos obtidos a partir de análises realizadas no eixo
embrionário das sementes, com resultados do teste de Tukey41
Tabela 8 - Médias dos índices numéricos obtidos a partir de análises realizadas no eixo
embrionário das sementes, com resultados do teste de Tukey
Tabela 9 - Teste de emergência e IVE em sementes de alto vigor
Tabela 10 - Teste de emergência e IVE em sementes de baixo vigor

# SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	Objetivo geral	17
2.2	Objetivos específicos	17
3	REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1	Análise de sementes	19
3.2	Biospeckle laser e sua aplicação em sementes	21
3.3	Dispositivos portáteis e compactos que utilizam a técnica do speckle laser	
	dinâmico	21
4	MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1	Configurações experimentais utilizadas	25
4.2	Amostras	26
4.2.1	Secagem de tinta	26
4.2.2	Sementes	27
4.3	Seleção e teste de um minimicroscópio digital adaptado com um diafragma	
	para utilização do BSL em monitoramento de secagem de tinta e avaliação	
	da qualidade de sementes	28
4.4	Aquisição e análise das imagens	28
4.5	Validação do sistema compacto dedicado à análise de sementes por meio da	
	técnica do BSL em relação ao teste de emergência	33
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5.1	Seleção e teste de um minimicroscópio digital adaptado com um diafragma	
	para utilização do BSL em monitoramento de secagem de tinta e avaliação	
	da qualidade de sementes	35
5.2	Validação do sistema compacto dedicado à análise de sementes por meio	
	da técnica do BSL em relação ao teste de emergência	38
6	CONCLUSÃO	46
	REFERÊNCIAS	47
	APÊNDICES	54

# 1 INTRODUÇÃO

O fenômeno denominado como *speckle laser* dinâmico ocorre quando uma luz coerente incide em uma superfície, ou se propaga através de um meio, sendo em seguida dispersada, apresentando um padrão de interferências que varia ao longo do tempo. Esse fenômeno dinâmico, que se assemelha a um "fervilhamento", é denominado de *biospeckle laser* (BSL) quando o meio iluminado é biológico.

O fenômeno transforma-se em uma técnica quando analisado por meio de equações matemáticas e utilizado como meio quantificador da atividade biológica do material analisado. Dentre as diversas aplicações da técnica, citam-se: a avaliação da viabilidade de sementes; a detecção de danos mecânicos em frutas; a avaliação da qualidade de carne bovina; a análise da motilidade de sêmen bovino; e a avaliação da viabilidade microbiana em processos fermentativos utilizando bactérias, leveduras e fungos filamentosos.

As análises BSL são realizadas tradicionalmente por meio de uma montagem óptica composta por: mesa inercial, para minorar vibrações mecânicas; *laser*, para iluminar a amostra de interesse; lentes, para a abertura, a filtragem e o direcionamento do feixe do *laser*; câmera digital, para realizar a captura das imagens; e computador para realizar o armazenamento e o processamento das imagens.

A técnica BSL apresenta algumas características que oferecem vantagens em comparação aos métodos tradicionais de análises: não destrutiva, objetividade, rapidez e acompanhamento ao longo do tempo.

Embora seja uma técnica de aplicação científica em diversas áreas, apresenta algumas limitações para sua maior difusão fora do ambiente laboratorial de óptica, a saber: vibrações mecânicas presentes no ambiente, interferência de luz externa e o grande volume ocupado pelas montagens.

O advento dos emissores de *laser* de estado sólido (diodo) de menores dimensões, quando comparados aos de HeNe comumente utilizados, permitiu não somente a diminuição do espaço necessário, mas também aumentou a flexibilidade em seu posicionamento. A estabilidade comprovada do *laser* de diodo é um fator adicional para sua utilização em sistemas BSL mais compactos.

Outra evolução que contribuiu para a diminuição das montagens foi a substituição da câmera CCD (dispositivo de carga acoplada) e da lente macroassociada a ela por câmera CMOS (semicondutor de óxido metálico complementar) com lente macrointegrada, tais como nos minimicroscópios digitais. Essa evolução associada aos *lasers* de diodo foi um passo importante

para o desenvolvimento de equipamentos menores, mais estáveis e de custos menores.

Pesquisas promissoras utilizando minimicroscópios associados a *laser* de estado sólido foram relatadas em diversos artigos científicos. Hoje, percebeu-se que é possível a utilização de um diafragma associado ao minimicroscópio que proporcione a diminuição da quantidade de luz incidente, trazendo maior qualidade às imagens, bem como mais confiabilidade aos resultados.

Este trabalho teve o objetivo de produzir e validar um sistema compacto dedicado à análise de sementes por meio da técnica do BSL.

# **2 OBJETIVOS**

# 2.1 Objetivo geral

Produzir e validar um sistema compacto dedicado à análise de sementes por meio da técnica do BSL.

# 2.2 Objetivos específicos

- Seleção e teste de um minimicroscópio digital adaptado com um diafragma para utilização do BSL em monitoramento de secagem de tinta e avaliação da qualidade de sementes;
- Validação do sistema compacto dedicado à análise de sementes por meio da técnica do BSLem relação ao teste de emergência.

# 3 REFERENCIAL TEÓRICO

As sementes constituem o recurso básico de produção na agricultura, sendo partesignificativa do ciclo de vida de diversas culturas. A qualidade das sementes impacta significativamente na produtividade das culturas, sendo frequentemente descrita por meio de potencial de germinação e devigor, atributos aferidos por métodos de análises tradicionais, como o teste de tetrazólio e o teste de emergência. Com o progresso da ciência, surgiram técnicas de análise de imagens que são mais rápidas, mais convenientes e não destrutivas, como é o caso da técnica do *biospeckle laser* (Xing *et al.*, 2023).

Métodos tradicionais de análises de sementes apresentam como características a subjetividade nos resultados, maior demanda de tempo e custo considerável. As técnicas que utilizam análise de imagens apresentam-se como uma opção viável em substituição alguns métodos tradicionais (Singh *et al.*, 2022; Xing *et al.*, 2023).

O speckle laser dinâmico (DLS) é uma técnica óptica não destrutiva que tem sido objeto de estudo em diversas áreas do conhecimento, como exemplo sua aplicação em bioprocessos fermentativos (Guedes *et al.*, 2014; Viana *et al.*, 2017; Magalhães-Guedes *et al.*, 2018), na medicina (Konovalov *et al.*, 2023; Rodriguez-Loya; Lerma; Gardea-Torresdey, 2023; Sdobnov *et al.*, 2024) e na agricultura (González-Peña *et al.*, 2014; O'Callaghan*et al.*, 2019; Zdunek *et al.*, 2014; Zilpelwar *et al.*, 2022).

Quando o padrão de *speckle laser* dinâmico é utilizado para extrair informações da atividade vinculada ao movimento dos dispersores de luz dentro de uma amostra biológica, recebe a denominação de *biospeckle laser* (BSL) (González-Peña *et al.*, 2016; Braga Júnior, 2017; Ramírez-Miquet *et al.*, 2017; Singh*et al.*, 2021; Chen *et al.*, 2023; Lu *et al.*, 2023).

O sistema tradicional utilizado para executar a técnica BSL é restrito a laboratórios ópticos e de forma não portátil, com as imagens sendo adquiridas por uma câmera CCD associada a lentes macroque contêm um diafragma integrado e apresentam considerável volume. A iluminação das amostras faz uso de *laser* de HeNe, que obrigatoriamente tem que ficar em posição horizontal e tambémcompromete a portabilidade do sistema, já que apresenta considerável volume. A redução no tamanho da montagem é necessáriae pode ser realizada de maneira confiável, fazendo-se o uso de *lasers* de estado sólido ao invés de dispositivos HeNe (González-Peña; Braga Júnior; Rivera, 2018).

O sistema de montagem é implementado de duas formas, a depender do tipo de amostra. Uma é a *back-scattering*, em que o *laser* atinge a superfície da amostra e a luz refletida é capturada pela câmera, enquanto que na outra, denominada de *forward-scattering*, o *laser* atravessa a amostra e depois atinge a câmera (Rahmanian *et al.*, 2020).

A escolha do arranjo é determinada pelo tipo de amostra a ser analisada, e no caso de sementes, como não é possível o *laser* atravessar a amostra, utiliza-se a configuração *back-scattering*.

#### 3.1 Análise de sementes

As culturas vegetais comerciais têm nas sementes o seu principal método de propagação. As sementes constituem-se de um embrião e de estruturas que o nutrem e protegem. A produção de sementes vigorosas e sadias é dependente tanto de fatores intrínsecos, quanto de fatores ambientais de seu entorno (Cunha; Ferreira, 2021).

Assim, é importante que as sementes comercializadas apresentem a garantia de que as plantas delas originadas venham a ser viáveis e vigorosas, e isso somente é possível após a realização de testes de qualidade.

As Regras para Análise de Sementes (RAS) (Brasil, 2009) padronizam os métodos oficiais para análisede pureza, peso de mil sementes, determinação do graude umidade, teste de germinação e diversasoutras análises que reúnem um conjunto de técnicas, procedimentos e prescrições que determinam ametodologia empregada para cada espécie, que são de uso obrigatório em laboratórioscredenciados pelo MAPA (Gonçalves; Garlet, 2021).

A ISTA – *INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION* define o vigor como sendo o desempenho de uma determinada amostra de sementes no ato da germinação ou emergência das plântulas, e a AOSA – *ASSOCIATION OF OFFICIAL SEED ANALYSTS* determina que o vigor se refere à capacidade de emergência de plântulas normais de modo rápido e uniforme em condições climáticas variadas (Tejo; Fernandes; Ávila, 2021).

Enquanto o potencial de germinação mede a capacidade das sementes de formarem plântulas normais sob condições ideais, sem considerar a velocidade ou uniformidade do processo, o vigor avalia a rapidez, a uniformidade e a capacidade das sementes de germinarem e se desenvolverem em condições ambientais diversas. Sementes de alto vigor tendem a germinar mais rapidamente e formar plântulas mais fortes, sendo mais resistentes a condições desfavoráveis (Marcos Filho, 2015; Krzyzanowski; Vieira; França Neto, 1999). No entanto, as sementes podem ter alta germinação sem necessariamente possuírem alto vigor, o que é essencial para o desempenho em campo (Brasil, 2009).

Para Martins, Nakagawa e Bovi (1999), uma rápida e uniforme germinação das sementes, seguida por imediata emergência das plântulas, é característica desejável, uma vez que quanto mais tempo a plântula permanecer nos estádios iniciais de desenvolvimento e demorar a emergir no solo, mais susceptível estará às condições adversas do meio.

O Teste de Emergência de plântulas complementa e auxilia na definição do potencial fisiológico de sementes, poisrevela o desempenho das sementes em condições ambientais variadas, visando determinar o vigor do lote, avaliando apercentagem de emergência de plântulas em condições de campo, sendo umteste semelhante ao teste de germinação, porém com condições de umidade, temperatura e luminosidade naturais.

Quanto maior o percentual de emergência de plântulas a campo, maior o vigor do lote de sementes, sendo um teste relacionado diretamente à qualidade (Suñe, 2016). É sabido que a estimativa da porcentagem de emergência em campo éafetada por vários fatores, no entanto, esse método empregado é considerado um dos mais eficientes.

O Índice de Velocidade de Emergência – IVE é uma medida utilizada para avaliar a qualidade fisiológica das sementes refletindo a velocidade e a uniformidade com que as sementes germinam e emergem do solo, sendo um dos resultados obtidos por meio do teste de emergência. A utilização de sementes de baixa qualidade, juntamente com condições adversas do ambiente, tem como consequência baixa porcentagem de germinação e menor velocidade de emergência das plantas, apresentando um baixo IVE. Ao contrário, sementes que possuem alto vigor, apresentam germinação rápida e uniforme, alto IVE e suportam as adversidades do ambiente com mais êxito (Lopes *et al.*, 2002).

Apesar de os testes tradicionais para a análise de sementes serem internacionalmente adotados e apresentarem-se como uma garantia da qualidade das sementes comercializadas, Xing *et al.* (2023) defendem que novos testes devem ser desenvolvidos. Por exemplo, enquanto o teste do tetrazólio demora de 24 a 48 horas, o teste com o BSL pode ser realizado em cerca de uma hora. Nesse sentido, o BSL vai de encontro a essa demanda, uma vez que obtidas as imagens das amostras, bastam análises computacionais, que são rápidas, para a obtenção dos resultados.

As técnicas tradicionais fornecem avaliações baseadas na percepção do analista, não sendo capazes de gerar medidas quantitativas de forma objetiva. Assim, a introdução de medidas numéricas, como as oferecidas pelo BSL, são capazes de contornar essas limitações (Singh *et al.*, 2020).

# 3.2 Biospeckle laser e sua aplicação em sementes

As análises envolvendo a qualidade de sementes compreendem a classificação por tamanho, análises fisiológicas e avaliação da existência de patógenos. Neste último caso, são realizados exames visuais (altamente subjetivos) ou ensaios sorológicos e bioensaios (alto custo e demorados) (Kumar *et al.*, 2020).

O BSL vem apresentando resultados consistentes em pesquisas com sementes, indo desde a quantificação de atividade biológica em sementes de milho (Braga Júnior *et al.*, 2001) a sementes de soja (Singh *et al.*, 2022), bem como em sementes de café (Braga Júnior *et al.*, 2020).

Em um trabalho de revisão sistemática de 91 artigos, Vieira e Braga Júnior (2020) verificaram que 17% deles tinham como foco as aplicações em sementes, seguido por 12% em frutas, mostrando o potencial de aplicação da técnica nesse tipo de amostra.

Em trabalho realizado por De Silva *et al.* (2023), integrando a análise de *biospeckle* com tomografia de coerência óptica (bOCT), foram avaliados os efeitos de nanopartículas de alumina na germinação de sementes de lentilha. No entanto, enquanto pelos métodos tradicionais os resultados demoraram 40 horas, com o uso da bOCT os resultados foram observados em apenas 6 horas. O BSL tem por foco monitorar dinâmicas superficiais, relativas à atividade biológica, enquanto que sua integração com a tomografia de coerência óptica permite informações estruturais mais detalhadas.

Xing *et al.* (2023) afirmam que a análise de sementes está em um ponto de virada, uma vez que novas metodologias vêm sendo desenvolvidas, conclusão semelhante à França-Silva *et al.* (2023), que afirmam que procedimentos rápidos e eficazes são cada vez mais necessários para a avaliação da qualidade em sementes.

Esse é o caso da tecnologia de imagem hiperespectral (HIS) (Pang *et al.*, 2022; Feng *et al.*, 2021), do raio-x (De Medeiros *et al.*, 2021) e da técnica BSL, indicada por Xing *et al.* (2023), como um teste emergente de vigor de sementes.

# 3.3 Dispositivos portáteis e compactos que utilizam a técnica do speckle laser dinâmico

O uso de equipamentos portáteis pode abrir caminho para dispositivos dedicados e acessíveis para analisar todos os tipos de amostras biológicas, tais como assementes, que estão entre as mais comumente usadas em aplicações BSL (Vieira; Braga Júnior, 2020; Cai *et al.*, 2019; Yu *et al.*, 2022; Wu *et al.*, 2024).

Exemplo portátil da técnica BSL é o protótipo desenvolvido por Botega (2009) e que possibilitou determinar o *status* hídrico nas plantas de café em condições de laboratório. Utilizando o mesmo protótipo, Araújo (2018) identificou a atividade de água nas folhas de citros em campo.

Senarathna *et al.* (2012) utilizaram um microscópio miniaturizado que foi colocado sobre a cabeça de um camundongo para geração de imagens em condições de vigília e sem restrições. O microscópio utilizou a geração de imagens de contraste de manchas a *laser* (LSCI), uma modalidade de geração de imagens de alta resolução, porém de campo amplo, para geração de imagens de vasos sanguíneos e perfusão.

Considerando a necessidade de tornar o sistema LSCI portátil, Lertsakdadet *et al.* (2019) propuseram um dispositivo portátil com um marcador fiduciário como indicador de artefatos de movimento, além de apresentar uma versão estabilizada de movimento desse dispositivo usando um estabilizador degimbal (msLSI), melhorando com sucesso a qualidade dos dados adquiridos em configurações portáteis.

Ainda na linha da geração de imagens de contraste de manchas a *laser* (LSCI), Chen *et al.* (2019) propuseram um protótipo portátil para substituir os instrumentos volumosos comumente utilizados em pesquisas clínicas e biomédicas. Concluíram que o protótipo tinha desempenho comparável ao LSCI laboratorial e que tinha potencial para uso em monitoramento intraoperatório ou em pacientes acamados.

Chizari *et al.* (2021) demonstraramos resultadosde um sistema de perfusão portátil por meio de LSCI, em comparação a um equipamento de bancada.

Vega e Torres (2015) implementaramum sistema de captura e análise por meio do BSL em um equipamento que foi projetado para uso no local da amostra, inicialmente aplicado para pesquisar a porcentagem de germinação em sementes de arroz. Esse trabalho tambémavaliou a atividade biológica, mas com diferentes aplicações e tecnologias, com possibilidade de intercambiar componentes, com foco em ampla gama de aplicações e no uso de técnicas de autocorrelação e segmentação de imagens.

Pérez *et al.* (2018) desenvolveram um equipamento portátil que buscou, dentre outros objetivos, avaliar as características de secagem desubstâncias protetivasutilizadas em tratamentos de conservação e restauração depinturas de obras de arte. Os autores concluíram que talcaracterística de portabilidadeera fundamental em função dos custos de se deslocar uma grande obra de arte em processo de restauração até um laboratório.

Seguindo a linha da busca pela portabilidade da técnica, o uso do *smartphone* foi empregado como um dispositivo paracapturar eprocessar as imagens do *speckle laser* dinâmico,

com uso de alguns índices (gráficos e numéricos) apresentando resultadosconfiáveis rodando em curto espaço de tempo e sem pausas, o que érelevante em um equipamento portátil (Catalano; Rivera; Braga, 2019). Foi possível observar que um equipamento tipo *tablet* pode ser utilizado como *hardware* para a execução das rotinas matemáticas, bem como interface homem-máquina.

Levchenko *et al.* (2023) propuseram um dispositivo portátil acoplado a um *smartphone*, demonstrando a capacidade de execução da técnica BSL nesse tipo de equipamento.

Gomes (2022) demonstrou a importância da estabilidade da fonte de alimentação do *laser* e desenvolveu um sistema portátil com bateria equivalente, construindo um *setup* miniaturizado (protótipo) para executar a técnica BSL. Foram pesquisadas as interferências da iluminação externa e das vibrações mecânicas nas análises e desenvolvidas proteções para minimizar os seus efeitos. E visando melhorar a operabilidade do equipamento, foi desenvolvido um sistema que motoriza o ajuste do filtro neutro variável. Por fim, foram realizadasanálises de sementes que indicaram o potencial desse protótipo para executar esse tipo de análise.

De Castro *et al.* (2022) pesquisaram diferentes tipos de dispositivos para amortecimento de vibrações, bem como contataram que o *AVD* é mais sensível a baixas frequências, na região em torno de 5 Hz, e menos sensível para frequências mais altas, apresentando valores até abaixo do valor de referência, em regiões de alta ressonância, como próximo a 42, 60 e 210 Hz.

Utilizando o equipamentodesenvolvido por Gomes (2022) em análises com sementes de soja, Vicentini (2023) concluiu que tal equipamento apresentava capacidade de separar sementes de alto e baixo vigor e relatou que a utilização de um diafragma poderia melhorar a qualidade das imagens obtidas quando utilizado um minimicroscópio digital.

McMahon (2008) observou que ao se reduzir o tamanho de um equipamento pode haver redução de sua sensibilidade, dependendo dos limites avaliados, sendo assim importante avaliar os resultados obtidos em um equipamento miniaturizado, em comparação ao equipamento de bancada no qual ele foi baseado.

# 4 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Centro de Desenvolvimento de Instrumentação Aplicada à Agropecuária (CEDIA) da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Foram testados dez minimicroscópios, considerando aplicabilidade, distância de trabalho e magnificação.

Em seguida foi realizada a adaptação de um diafragmaópticode diâmetro ajustável à sua extremidade, de forma que pudessem ser realizados os testes com diferentes aberturas.

O diafragma é um elemento óptico que ao ser aberto ou fechado permite um f maior ou menor entrada de luz, além de fornecer profundidade de campo. Seu valor é expresso em números f, quanto mais aberto, maior será a quantidade de luz. Também, a abertura é responsável por determinar a quantidade de profundidade de campo que existe na imagem. Assim, um número f alto (diafragma fechado) fornecerá imagens com grande profundidade de campo, em oposição a um f baixo (diafragma aberto), que fornecerá imagens com menor profundidade (Sony, 2024).

De forma geral, é recomendado utilizar as aberturas medianas da objetiva que será utilizada, pois elas contêm a menor probabilidade de causar aberrações cromáticas e problemas de refração nas bordas (quando utilizadas próximas a abertura máxima), ou problemas de difração com o uso de aberturas muito pequenas. É recomendável a utilização de valores entre f/4.5 até f/16 para que haja mais nitidez e um brilho mais natural na imagem (Wikipedia, 2024).

Depois de escolhido o microscópio e adaptado o diafragma, foi montado o sistema compacto dedicado, eapós foi definida a ordem e os testes que seriam executados: análises gravimétricas e análises BSL (secagem de tinta e sementes).

Foram realizados os testes com o sistema compacto dedicado para monitoramento de secagem de tinta e avaliação da qualidade de sementes, de forma comparada ao sistema laboratorial tradicional, e por fim a validação do sistema compacto dedicado à análise de sementes pelo BSL em relação ao teste de emergência.

O delineamento estatístico foi feito em blocos casualizados, com os resultados das análises numéricas sendosubmetidos à análise descritiva e teste de normalidade (Shapiro-Wilk) e àanálise de variância e teste de Tukey, com nível de significância de 5%, utilizando o *software* Sisvar, versão 5.8 (Ferreira, 2019).

# 4.1 Configurações experimentais utilizadas

Para a realização dos trabalhos de iluminação das sementes foram utilizados dois sistemas: o tradicional, com aparato típico de laboratório de óptica, utilizado como referência (Braga Júnior *et al.*, 2005; Vivas *et al.*, 2017; Azevedo, 2018; Braga Júnior *et al.*, 2020), e o compacto, dedicado a ser testado.

A Figura 1demonstra esquematicamente os componentesdo sistema laboratorial tradicional: câmera CCD (JAI CV-S3200,  $640 \times 486 \ pixels$ ), lentes e espelhos, a lente macro (Navitar *ZOOM* 7000-2) com diafragma integrado (f/16) (Braga Júnior; González-Peña, 2016) e emissor de *laser* de HeNe ( $632 \ \text{nm}/10 \ \text{mW}$ ). Essa montagem apresentou um volume aproximado de  $0.36 \ \text{m}^3$  e foi conectada a um computador *desktop*.

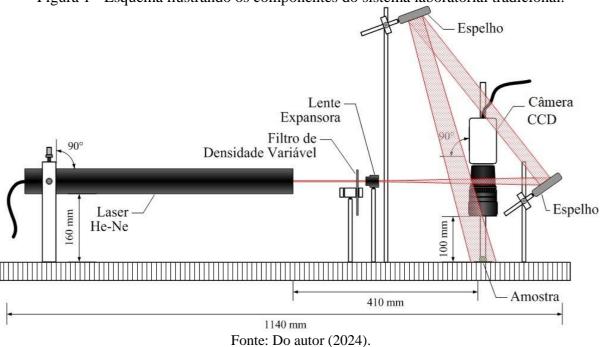


Figura 1 - Esquema ilustrando os componentes do sistema laboratorial tradicional.

Na Figura 2 observa-se a representação esquemática do sistema compacto dedicado: *laser* de diodo (635 nm/3 mW), lente expansora e filtro neutro (10%; diâmetro 25 mm; espessura 3 mm).

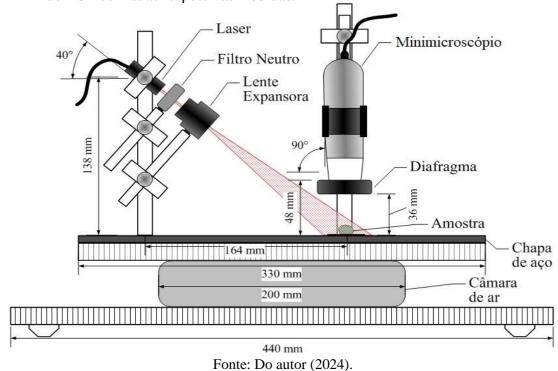


Figura 2 - Esquema do sistema compacto dedicado à análise de sementes por meio da técnica do BSL com suas respectivas medidas.

O sistema compacto de dedicado à análise de sementes por meio da técnica do BSL utilizado para aquisição das imagens fez uso de um minimicroscópio Dino-Lite AM7013MZT, com resolução de 5MP. Nesse minimicroscópio foi fixado o diafragma óptico de 10 lâminas de abertura ajustável. Todos os componentes (*laser*, filtro neutro, lente expansora e minimicroscópio) foram fixados através de hastes metálicas, parafusadas em uma chapa de aço de 6 mm de espessura, apoiadaem uma placa de madeira de 15 mm de espessura, colocada sobre uma câmara de ar de 3,25 x 8 polegadas e esta sobre uma chapa de madeira, com pés de borracha. Essa montagemapresentou um volume final aproximado de 0,009 m³. Para a aquisição das imagens, ao sistema compacto dedicado estava conectado um *notebook*.

## 4.2 Amostras

## 4.2.1 Secagem de tinta

Para os testes realizados com tinta foi utilizado um esmalte comercial da marca Mondial Impala<sup>®</sup>, modelo Nude Clássico, L. 23006576A, validade 08/2026.

Para comparar os testes gravimétricos com os dados obtidos por meio da técnica do BSL, foi utilizada uma amostra na balança de precisão, uma amostra no sistema tradicional

laboratorial (abertura f/16) e quatro amostras no sistema compacto dedicado (3, 4, 5 mm e totalmente aberto).

O protocolo de preparo das amostras deu-se da seguinte maneira:

- Utilizando-se uma balança de precisão da marca Marte<sup>®</sup>, modelo BL-320H;
- Utilizando-se lâminas para microscopia (26,0 x 76,0 mm);
- Foicolocada umalâmina sobre a balança e executou-se o processo de tara;
- Depois foi aplicada uma camada uniforme de esmalte com massa de 0,240 g.

Para o teste gravimétrico, logo após a deposição da tinta iniciou-se o monitoramento a cada cinco minutos da variação da massa, indo desde t=0 até t=30 s.

Para as análises BSL, foram obtidas 128 imagens a uma taxa de 10 fps (frames por segundo), com resolução de 640 × 486 pixels e escala de cinza de 8 bits por pixel, a cada 5 minutos durante 30 minutos, tanto no sistema tradicional laboratorial quanto no sistema compacto dedicado.

#### 4.2.2 Sementes

Foram utilizadas 872 sementes de feijão, pertencentes à espécie *Phaseolus vulgaris* L., cultivar BRSMG Amuleto, Nº de Registro 46999, para os experimentos de classificação e teste de emergência. Com o objetivo de obter amostras com diferentes características fisiológicas, as sementes foram separadas por meio de dois tratamentos, escolhidas aleatoriamente a partir de dois quilogramas de sementes de alto vigor:

- 436 sementes de alto vigor: utilizadas nas condições em que foram fornecidas;
- 436 sementes de baixo vigor (submetidas ao processo de envelhecimento acelerado): foram acondicionadas em recipientes *gerbox* com 40 mL de água destilada, selados com fita adesiva, e depois acondicionados em estufa BOD a 42 °C por 96 horas (Ortiz; Gomes; Takahashi, 2024).

As amostras foram separadas em quatro lotes, sendo armazenadas em sacos de papel:

- Lote 1: 36 sementesde alto vigor, a serem iluminadas no sistema compacto dedicado e simultaneamente no sistema laboratorial tradicional;
  - Lote 2: 400 sementesde alto vigor a serem semeadas em teste de emergência;
- Lote 3: 36 sementesde baixo vigor, a serem iluminadas no sistema compacto dedicado e simultaneamente no sistema laboratorial tradicional;
  - Lote 4: 400 sementesde baixo vigor, a serem semeadas em teste de emergência.

# 4.3 Seleção e teste de um minimicroscópio digital adaptado com um diafragma para utilização do BSL em monitoramento de secagem de tinta e avaliação da qualidade de sementes

Os minimicroscópios foram testados utilizando o *software* Dino Capture 3.0<sup>®</sup> e um gabarito de dimensões padronizadas, sendo assim possível verificar se as medições realizadas digitalmente através do *software* eram as mesmas do gabarito.

Para a captura das imagens foiutilizado o *software Speekle Tool* 4.0; e o *software Speekle Quality Test* foi utilizado para avaliação das imagens quanto aos parâmetros de contraste, homogeneidade e saturação.

Uma vez definido o minimicroscópio, passou-se à adaptação do diafragma, sendo utilizado um de abertura variável, com dez lâminas, amplamente utilizado em microscopia. Para sua fixação à extremidade do minimicroscópio foi utilizada uma cola do tipo "massa de modelar".

Na Figura 3 observa-se de forma esquemática como o diafragma de diâmetro ajustável foi fixado na extremidade do minimicroscópio.

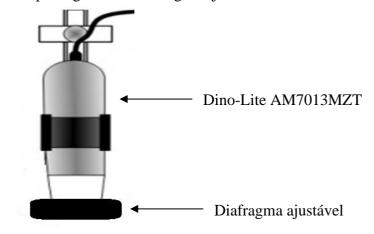


Figura 3 - Minimicroscópio digital com diafragma ajustável.

Fonte: Do autor (2024).

## 4.4 Aquisição e análise das imagens

Para a realização das análises, foram obtidas 128 imagens de cada semente; e para a certificação da qualidade das imagens obtidas, estas foram submetidas ao *software Speckle Quality Test* (saturação, contraste e homogeneidade do *speckle*), conforme descrito em Braga Júnior, Rivera e Moreira (2016). Compõe a Figura 4 uma tela/resultado do *Speckle Quality Test* realizado em uma semente por meio do sistema compacto dedicado.

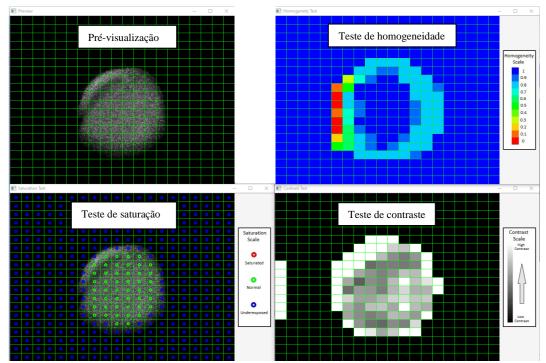


Figura 4 - Resultado de Speckle Quality Test de uma semente de feijão.

Fonte: Do autor (2024).

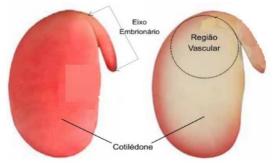
O *Speckle Quality Test* auxilia na garantia da qualidade do padrão do *speckle* por meio de três parâmetros:

- Teste de homogeneidade: identifica as áreas onde a atividade apresenta-se homogênea;
- Teste de contraste: avalia a compatibilidade entre a câmera e a velocidade do fenômeno;
  - Teste de saturação: quantifica a luz incidente na amostra.

Para o processamento das imagens e obtenção dos resultados utilizou-se o *software* OCTAVE, fazendo uso das equações matemáticas disponíveis na *Biospeckle Laser Tool Library* (BSLTL, 2022).

Na Figura 5 estão identificadas as regiões do eixo embrionário e vascular, que foram definidas como as regiões de interesse (ROI) para a realização das análises BSL.

Figura 5 - Semente onde estão identificadas as regiões de interesse, que são as do eixo embrionário e vascular.



Fonte: Adaptado de França-Neto e Krzyzanowski (2018).

Foram utilizados métodos numéricos e gráficos para análise das imagens. O Valor Absoluto das Diferenças (*AVD*) foi determinado como um índice numérico do *speckle* dinâmico em amostras biológicas (Braga Júnior; Rivera; Moreira, 2016).

As imagens foram processadas utilizando as quatro saídas de *AVD* existentes, diferenciadas entre si por meio da normalização aplicada a cada uma delas, sendo denominadas de *AVD*1, *AVD*2, *AVD*3 e *AVD*4.

O AVD1, representado na Equação 1, calcula a variação da intensidade do *speckle* em relação à média temporal da intensidade. Este índice destaca variações significativas de intensidade ao longo do tempo, sendo mais adequado para detectar atividades mais intensas, como aquelas em sementes de alto vigor. Pode indicar rapidamente mudanças na atividade biológica, diferenciando sementes de alto vigor das de baixo vigor. É o mais utilizado, sendo também denominado de primeiro momento de AVD (Braga Júnior; Rivera; Moreira, 2016).

$$AVD1 = \sum_{ij} \frac{COM(i,j)}{\sum_{lm} COM(l,m)} |i-j|$$
 (1)

Em que *COM* é a matriz de coocorrência 2D proposta por Cardoso e Braga (2014).

O AVD2, representado na Equação 2, utiliza uma abordagem mais sensível às pequenas variações, calculando diferenças consecutivas de intensidade temporal. Este método é mais eficaz para detectar variações pequenas e sutis no padrão *speckle*, algo relevante para detectar sementes com vigor moderado ou em declínio. É ideal para sementes que ainda apresentam alguma atividade biológica, mas com vigor menor do que sementes mais saudáveis (Braga Júnior; Rivera; Moreira, 2016).

$$AVD2 = \sum_{ij} \frac{COM(i,j)}{\sum_{lm} COM(l,m)} (i-j)^2$$
(2)

Em que *COM* é a matriz de coocorrência 2D proposta por Cardoso e Braga (2014). É conhecido Momento de Inércia, ou segundo momento do *AVD*.

Conhecendo os *AVD*1 e *AVD*2 é possível calcular o segundo momento central do *AVD*, denominado *AVD*3, representado na Equação 3, amplia a análise considerando uma área maior (vizinha) em torno de cada *pixel*, capturando variações espaciais além das temporais. É útil para detectar atividades biológicas que se distribuem por uma área mais extensa, como em sementes que começam a sofrer danos. Pode ser mais eficaz na detecção de variações de vigor dentro de lotes de sementes, ao considerar o comportamento geral do padrão *speckle* (Braga Júnior; Rivera; Moreira, 2016).

$$AVD3 = E[(i-j)^2] - E[|i-j|]^2$$
 (3)

Em que *E* é a esperança matemática proposta por Arizaga, Trivi e Rabal (1999).

O *AVD*4, representado na Equação 4, soma as variações de intensidade ao longo do tempo, dando mais ênfase a variações persistentes. É adequado para capturar atividades contínuas ao longo do tempo, como as mudanças biológicas constantes em sementes de alto vigor. Esse método é indicado para identificar sementes que apresentam uma atividade biológica mais estável e constante (Braga Júnior; Rivera; Moreira, 2016).

$$AVD4 = \sum_{ij} \frac{COM(i,j)}{\sum_{m} COM(i,m)} |i-j|$$
 (4)

Em que *COM* é a matriz de coocorrência proposta por Arizaga, Trivi e Rabal (1999).

Outro método numérico utilizado foi o da Análise Numérica da Diferença Média (*NUMAD*), que vem a ser uma modificação do *AVD*1.

O *NUMAD*, representado na Equação 5, calcula a diferença numérica direta entre intensidades de *speckle* em diferentes momentos e locais, servindo como uma métrica quantitativapara discriminar diferentes níveis de atividade biológica, sendo eficiente para separar sementes de alto e de baixo vigor (Braga Júnior; Rivera; Moreira, 2016).

$$NUMAD = \sum_{ij} \frac{COM(i,j)}{\sum_{lm} COM(l,m)} \frac{|i-j|}{i+j}$$
 (5)

O método gráfico denominado GAVD vem a ser a implementação do Valor Absoluto das Diferenças (AVD) para cada pixel da matriz 3D, com a normalização de coocorrência proposta por Cardoso e Braga (2014). A função GAVD utiliza como dados de entrada uma matriz 3D (DATA) criada pelo agrupamento de matrizes de intensidade  $I_k \equiv DATA$  (:,:,k), $1 \le k \le NTIMES$ . Na Equação 6 está demonstrada a expressão matemática do método.

$$GAVD = E[|I_k - I_{k+1}|] = \frac{1}{NTIMES - 1} \sum_{K=1}^{NTIMES - 1} |I_k - I_{k+1}|$$
 (6)

A matriz de coocorrência *COM* é obtida a partir do histórico temporal do padrão de *speckle* (THSP). Resumidamente, os valores internos da *COM* representam o número de valores de cinza nos *pixels* do THSP. A normalização é a soma total das ocorrências na *COM*, e *i* e *j* são as coordenadas da matriz *COM* que variam de 0 a 255 níveis de cinza.

Foi adotado o THSP em um conjunto de pontos aleatórios com distribuição Gaussiana, onde o padrão é criado a partir de um conjunto de M (300) pontos selecionados aleatoriamente, seguindo uma distribuição Gaussiana 2D ao redor do ponto P0 na primeira imagem  $I_1 \equiv DATA(:,:,1)$ , e através de  $I_K \equiv DATA(:,:,k)$ ,  $\forall k$ . Esses pontos estão concentrados em um raio Sigma (25) ao redor P0. O THSP é uma matriz 2D com M linhas e colunas NTIMES. Portanto, o ponto principal aqui é que os pixels na primeira coluna do THSP são um conjunto de pontos na primeira imagem. Os pontos aleatórios selecionados nesta imagem ficam parados e aparecem na mesma posição nas outras imagens NTIMES - 1, seguindo uma distribuição Gaussiana.

Na Figura 6 os círculos vermelhos representam a distribuição Gaussiana dos pontos que se formam a partir da seleção de um ponto central, sendo assim as análises realizadas nesses pontos.

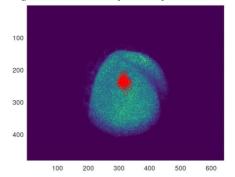


Figura 6 - Semente de feijão, com exemplo de pontos em distribuição Gaussiana.

Fonte: Do autor (2024).

# 4.5 Validação do sistema compacto dedicado à análise de sementes por meio da técnica do BSL em relação ao teste de emergência

A validação da técnica do BSL ocorreu mediante comparação dos resultados das análises com aqueles observados no teste de emergência.

As amostras submetidas às análises BSL foram preparadas seguindo o protocolo:

- 1 As sementes foram retiradas da câmara fria, onde estavam armazenadas a 10°C e 40% de umidade, 48 horas antes de se iniciar o processo de embebição. Tal procedimento teve a função de promover a climatização das sementes;
- 2 Em seguida, as sementes foram colocadas em um béquer com 200 ml de hipoclorito de sódio a 2% e agitadas durante 60 segundos. Depois foram lavadas com água comum oito vezes e após com água desmineralizada, mais duas vezes. Esse processo teve por objetivo eliminar qualquer contaminação das sementes;
- 3 A seguir as sementes foram distribuídas em placas de Petri, cada uma contendo quatro sementes, separadas e numeradas, em papel *germitest*. Embaixo das sementes foram colocadas duas camadas de papel, e em cima outra camada. As sementes foram embebidas com água desmineralizada em peso 2,5 vezes maior ao do papel *germitest* contido em cada placa. Logo após as placas de Petri foram colocadas em estufa BOD (demanda bioquímica de oxigênio) com temperatura de 25 °C por 24 horas (Brasil, 2009);
- 4 No dia seguinte, 30 minutos antes de se iniciarem as iluminações, ambos os *lasers* foram ligados (estabilizados). Ao atingir 24 horas de embebição, cada placa de Petri foi retirada da estufa e colocada sobre uma bancada;
- 5 Da placa de Petri foi retirada uma semente de cada vez, mantendo-se depois a placa tampada. Foi removido o tegumento, depois de aberta ao meio, removido um cotilédone e deixado apenas um cotilédone unido ao eixo embrionário;

- 6 Preparada a semente, estafoi iluminada no sistema tradicional laboratorial e logo em seguida iluminada no sistema compacto dedicado;
  - 7 Asimagens obtidas em cada sistema foram armazenadas para posterior análise.

Essa sequência experimental foi a mesma tanto para as sementes de alto vigor quanto para as de baixo vigor.

Para a realização do teste de emergência, foram separadas 400 sementes de feijão, de alto vigor, e outras 400, de baixo vigor. O teste teve o seguinte protocolo/preparo:

- 1 As sementes foram retiradas do saco de papel no qual estavam armazenadas, contadas e reservadas:
- 2 Depois as sementes foram colocadas em um béquer com 200 ml de hipoclorito de sódio a 2% e agitadas durante 60 segundos. Em seguida foram lavadas com água comum oito vezes e após com água desmineralizada mais duas vezes;
- 3 As sementes foram separadas em oito repetições de 50 sementes de alto vigor, totalizando 400 amostras, e mais oito repetições de 50 sementes de baixo vigor, totalizando outras 400 amostras:
- 4 Depois, foram colocadas em bandejas plásticas sementeiras, com substrato orgânico, e deixadas em ambiente aberto ao abrigo da chuva e incidência solar direta, sendo irrigadas duas vezes ao dia. O substrato orgânico vegetal foi composto de casca de Pinus e Turfa.

O teste de emergência ocorreu entre os dias 26 de fevereiro de 2024 (semeadura) e 08 de março de 2024, em condições ambientais (temperatura média de 24,7 °C), contando-se diariamente o número de plântulas emergidas, considerando-se, nessa condição, aquelas que continham cotilédones aparentes, acima do nível do substrato. Teve duração de 12 dias. A contagem das plântulas foi feita até a estabilização do processo de emergência, seguindo o protocolo de Marcos Filho, Cícero e Silva (1987).

O índice de velocidade de emergência (IVE), observado juntamente ao teste de emergência, foi determinado através da contagem diária de plântulas emergidas (Pereira *et al.*, 2020). O cálculo do IVE é dado pela Equação 7, de Maguire (1962):

$$IVE = \frac{E1}{N1} + \frac{E2}{N2} + \frac{En}{Nn} \tag{7}$$

Em que:

*IVE* = índice de velocidade de emergência;

E1, E2, En = número de sementes emergidas obtido diariamente;

N1, N2, Nn =número de dias da semeadura da primeira, da segunda e da última contagem.

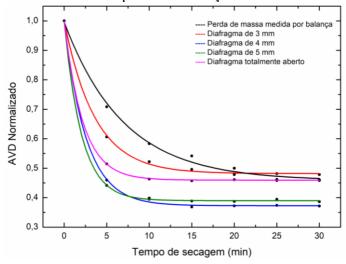
# 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este tópico foi subdividido em tópicos 5.1 e 5.2, ressaltando-se que, o primeiro foi publicado na Revista Ciência e Agrotecnologia, volume 48, 2024, em formato de artigo e intitulado: "Optical improvement of the dynamic laser speckle for seed analysis using portable digital camera".

# 5.1 Seleção e teste de um minimicroscópio digital adaptado com um diafragma para utilização do BSL em monitoramento de secagem de tinta e avaliação da qualidade de sementes

O monitoramento da secagem da tinta foi utilizado para testar o minimicroscópio com diferentes aberturas de diafragma. No Gráfico 1, as curvas coloridas normalizadas representam o processo de secagem durante 30 minutos usando o índice *AVD*1, para as 4 diferentes aberturas do diafragma no sistema compacto dedicado (3, 4, 5 mm e totalmente aberto). A curva preta, por sua vez, representaa perda de massa durante o processo de secagem na balança de precisão.

Gráfico 1 - Evolução da secagem de tinta observada no sistema compacto dedicado (valores de *AVD*) com um diafragma de aberturas de 3, 4, 5 mm de diâmetro etotalmente aberto, e a perda de massa medida por uma balança.



Fonte: Do autor (2024).

O perfil das curvas apresentou o comportamento do sistema compacto dedicado com uma abertura de 3 mm mais próximo do processo de perda de massa do que com as outras aberturas (4, 5 e totalmente aberto).

Pela análise do Gráfico 2 observa-se que as dispersões obtidas utilizando a massa como referência confirmam a eficiência da abertura de 3 mm (a), com um R² de 0,944. O perfil das curvas apresentadas pelominimicroscópio reproduz aqueles apresentados na literatura quando o DLS foi adotado para monitorar a secagem da tinta (Amalvy *et al.*, 2001; Blotta *et al.*, 2011; Faccia *et al.*, 2009), e semelhante ao uso de CMOS (Pérez *et al.*, 2018).

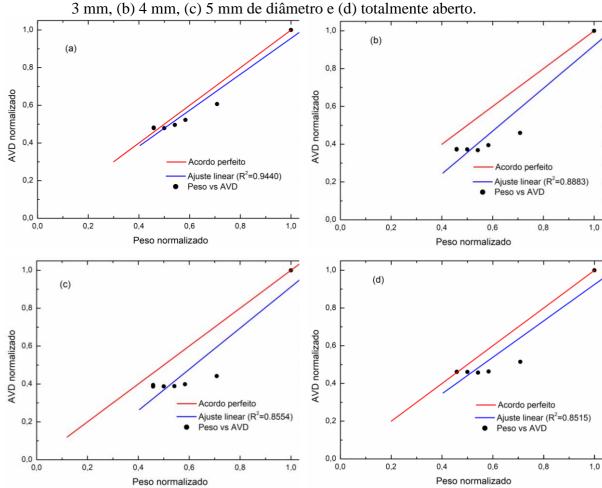
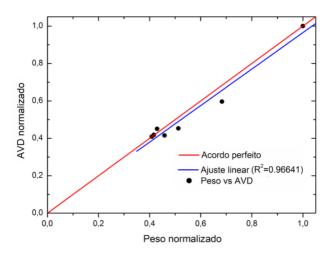


Gráfico 2 - Dispersões em relação à massa da tinta, no tempo, comparadas aos diafragmas (a) 3 mm. (b) 4 mm. (c) 5 mm de diâmetro e (d) totalmente aberto.

Fonte: Do autor (2024).

Os resultados do uso da configuração tradicional BSL para monitorar a secagem da tinta (Gráfico 3) demonstram uma função linear com um  $R^2 = 0.966$ , em concordância com a perda de massa aferida pela balança durante a secagem, próximo do minimicroscópio com a abertura de 3 mm ( $R^2 = 0.944$ ). Os resultados apresentados por ambas as configurações mostram a similaridade da capacidade de análise dos sistemas quando comparados aos resultados das análises gravimétricas.

Gráfico 3 - Dispersão com a massa da tinta em função do tempo, comparado à câmera CCD tradicional e lente macro, com abertura f/16.



Fonte: Do autor (2024).

O sistema tradicional foi utilizado como referência porque apresentou resultados consistentes em diversos trabalhos, sempre com abertura de diafragma em f/16 (Braga Júnior *et al.*, 2003, 2005; Rabelo *et al.*, 2011; Vivas, 2015; Braga Júnior; González-Peña, 2016; Azevedo, 2018; Braga Júnior *et al.*, 2020; Souza Sobrinho, 2023; Vicentini, 2023).

Os resultados obtidos pelo sistema compacto dedicado foram semelhantes aos obtidos no sistema tradicional, tanto nos experimentos de secagem de tinta quanto na avaliação da qualidade de sementes (tendo a região vascular como ROI). Todos os dados obtidos por meio do BSL foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey (Apêndice C).

A Tabela 1 apresenta a média dos resultados de *AVD*1e coeficiente de variação obtidos no sistema tradicional laboratorialutilizando sementes de alto e de baixo vigor. A análise de variância também comprovou a diferenciação das médias entre os dois tipos de sementes, a um nível de significância de 5%.

Tabela 1 - Médias de AVD1 obtidas por meio do sistema tradicional laboratorial.

SISTEMA	SEMENTE	AVD1
TRADICIONAL	ALTO VIGOR	10,68 a
TRADICIONAL	BAIXO VIGOR	9,76 b
Coeficiente de variação (%)15,54		

<sup>\*</sup>Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo Teste Tukey (p<0,05). Fonte: Do autor (2024).

Na Tabela 2 são observados os resultados de *AVD*1 e coeficiente de variação obtidos das análises de sementes utilizando o sistema compacto dedicado, onde estatisticamente

também foi comprovada a capacidade do sistema em separar sementes de alto vigor das de baixo vigor, a um nível de significância de 5%.

Tabela 2 - Médias de AVD1 obtidas por meio do sistema compacto dedicado.

		1
SISTEMA	SEMENTE	AVD1
COMPACTO	ALTO VIGOR	7,10 a
COMPACTO	BAIXO VIGOR	6,48 b
Coeficiente de variação (%)16,14		

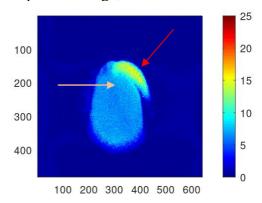
<sup>\*</sup>Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo Teste Tukey (p<0,05). Fonte: Do autor (2024).

# 5.2 Validação do sistema compacto dedicado à análise de sementes por meio da técnica do BSL em relação ao teste de emergência

No decorrer do processo de análise de resultados, especificamente do método gráfico *GAVD* (imagens nos Apêndices A e B), observou-se que deslocando a ROI da região vascular para a região do eixo embrionário houve uma melhor representatividade da atividade biológica, uma vez que as imagens indicaram que com 24 horas de embebição era aquela a região mais ativa. Isso foi percebido tanto para as sementes de alto vigor, quanto para as de baixo vigor.

Na Figura 7, uma análise gráfica *GAVD* obtida por meio do sistema compacto dedicado demonstra a diferença de atividade biológica nas diferentes regiões de uma semente.

Figura 7 - Semente de feijãode alto vigor, mostrando os diferentes níveis de atividade biológica, sendo a do eixo embrionário apontada pela seta vermelha e a da região vascular apontada pela seta bege, com 24 horas de embebição.



Fonte: Do autor (2024).

Em todas as 72 análises de *GAVD* (sementes de alto e baixo vigor), verificou-se que a área de maior atividade biológica estava localizada na região do eixo embrionário.

A região vascular nas sementes de feijão está relacionada ao transporte de água e nutrientes, importante para o desenvolvimento inicial da plântula. Como relatado por Bewley et al. (2013), a região vascular desempenha um papel crucial na germinação, uma vez que favorece o transporte de água e nutrientes dos cotilédones para o embrião, permitindo o desenvolvimento inicial da plântula. De acordo com Marcos Filho (2015), essa região é formada pelo procâmbio, depois evoluirá para os tecidos vasculares da planta adulta. Além disso, segundo Carvalho e Nakagawa (2012), o desenvolvimento adequado dessa região, além de garantir o estabelecimento do sistema vascular da planta, torna-seessencial para o crescimento e a produção de biomassa durante as fases seguintes.

Na Tabela 3 observam-se os resultados das médias obtidas nas análises numéricas realizadas na região vascular das sementes nos dois sistemas avaliados.

Tabela 3 - Médias dos índices numéricos obtidos de análises na região vascular das sementes.

SEMENTE	TIPO DE SISTEMA	AVD1	AVD2	AVD3	AVD4	NUMAD
ALTO VIGOR	TRADICIONAL	10,68	188,90	72,08	2032,60	0,07
<b>BAIXO VIGOR</b>	TRADICIONAL	9,76	156,21	58,99	1714,76	0,07
ALTO VIGOR	COMPACTO	7,10	84,34	32,80	1196,45	0,05
BAIXO VIGOR	COMPACIO	6,48	70,58	27,41	1083,26	0,03

Fonte: Do autor (2024).

Na Tabela 4 são observadas as médias obtidas nas análises numéricas realizadas na região do eixo embrionário das sementes nos dois sistemas avaliados.

Tabela 4 - Médias dos índices numéricos obtidos de análises na região do eixo embrionário das sementes.

SEMENTE	TIPO DE SISTEMA	AVD1	AVD2	AVD3	AVD4	NUMAD
ALTO VIGOR	TRADICIONAL	14,14	343,47	130,18	2717,98	0,10
<b>BAIXO VIGOR</b>	TRADICIONAL	9,90	161,20	60,82	1369,25	0,08
ALTO VIGOR	COMPACTO	10,16	186,16	75,58	1874,36	0,07
BAIXO VIGOR	COMPACIO	7,32	92,60	36,38	1080,52	0,05

Fonte: Do autor (2024).

Ao comparar os resultados das Tabelas 3 e 4observa-se que houve um aumento da atividade biológica ao se deslocar a região de análiseda vascular para o eixo embrionário. O aumento dos valores foi para ambos os tipos de sementes, sendo maior para as de alto vigor.

Assim, para sementes de feijão, os valores mais altos das médias indicam que com 24 24 horas de embebição é mais indicado fazer as análises na região do eixo embrionário. Esses valores mais altos das médias corroboram os valores observados na análise gráfica.

Na Figura 8 observa-se o resultado gráfico *GAVD* de duas sementes obtidas através do sistema compacto dedicado à análise de sementes. A imagem (a) mostra uma semente de alto vigor, com alta atividade biológica, e a imagem (b) mostra uma semente de baixo vigor, com baixa atividade biológica.

(a) (b)

Figura 8 - GAVD de duas sementes de feijão.

Fonte: Do autor (2024).

Ao observar esse resultado gráfico, ressalta-se que o *GAVD* é a saída gráfica do *AVD*1, uma análise numérica, sem subjetividade analítica, uma vantagem da técnica BSL em relação ao teste do tetrazólio. Contudo, o tetrazólio permite fazer a análise por partes e tipos de danos nas sementes.

A Tabela 5 apresenta a média dos resultados das análises e coeficiente de variação obtidos na região vascular de sementes de alto e de baixo vigor.

Tabela 5 - Médias dos índices numéricos obtidos a partir de análises realizadas na região vascular das sementes, com resultados do teste de Tukey.

SISTEMA	SEMENTE	AVD1	AVD2	AVD3	AVD4	NUMAD
TRADICIONAL	ALTO VIGOR	10,68 a	188,90 a	72,08 a	2032,60 a	0,07 a
TRADICIONAL	BAIXO VIGOR	9,76 b	156,21 b	58,99 b	1714,76 b	0,07 a
Coeficiente de variação (%)		15,54	32,45	33,31	22,12	14,65

<sup>\*</sup>Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo Teste Tukey (p<0,05).

Fonte: Do autor (2024).

Para o sistema tradicional, a análise de variância comprovou a diferença estatística das médias entre os dois tipos de sementes, a nível de significância 5%, para os índices *AVD1*, *AVD2*, *AVD3* e *AVD4*. Não houve separação por meio do *NUMAD*.

A Tabela 6 apresenta a média dos resultados das análises e coeficiente de variação obtidos no sistema compacto dedicado utilizando sementes de alto e de baixo vigor analisadas na região vascular.

Tabela 6 - Médias dos índices numéricos obtidos a partir de análises realizadas na região vascular das sementes, com resultados do teste de Tukey.

SISTEMA	SEMENTE	AVD1	AVD2	AVD3	AVD4	NUMAD
COMPACTO DEDICADO	ALTO VIGOR	7,10 a	84,34 a	32,80 a	1196.45 a	0,050 a
	BAIXO VIGOR	6,48 b	70,58 b	27,41 b	1083,26 a	0,033 a
Coeficiente (%	3	16,14	31,23	30,10	21,81	115,66

<sup>\*</sup>Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo Teste Tukey (p<0,05). Fonte: Do autor (2024).

Para o sistema compacto dedicado, a análise de variância comprovou a diferenciação das médias entre os dois tipos de sementes, a nível de significância de 5%, para os índices AVD1, AVD2 e AVD3. Não houve separação por meio do AVD4 e NUMAD.

A Tabela 7 apresenta a média dos índices numéricos resultantes das análises realizadasna região do eixo embrionário das sementes e coeficiente de variação obtidos no sistema tradicional laboratorial.

Tabela 7 - Médias dos índices numéricos obtidos a partir de análises realizadas no eixo embrionário das sementes, com resultados do teste de Tukey.

SISTEMA	SEMENTE	AVD1	AVD2	AVD3	AVD4	NUMAD
TRADICIONAL	ALTO VIGOR 14,14 a		343,47 a	130,18 a	2717,98 a	0,095 a
TRADICIONAL	BAIXO VIGOR	9,90 b	161,20 b	60,82 b	1369,25 b	0,079 b
Coeficiente de variação (%)		23,64	51,40	51,59	38,93	18,98

<sup>\*</sup>Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo Teste Tukey (p<0,05). Fonte: Do autor (2024).

Com base na Tabela 7 é possível observar que, no sistema tradicional, as sementes foram separadas por meio dos índices *AVD*1, *AVD*2, *AVD*3, *AVD*4 e *NUMAD*, ou seja, em todos os índices pesquisados. Demonstra maior eficiência na separação quando selecionada essa região, em comparação à outra.

A Tabela 8 apresenta a média dos índices numéricos resultantes das análises realizadasna região do eixo embrionário das sementes e coeficiente de variação obtidos no sistema compacto dedicado.

Tabela 8 - Médias dos índices numéricos obtidos a partir de análises realizadas no eixo embrionário das sementes, com resultados do teste de Tukey.

		· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·			•	
SISTEMA	SEMENTE	AVD1	AVD2	<i>AVD</i> 3	AVD4	NUMAD
COMPACTO	ALTO VIGOR	10,16 a	186,16 a	75,58 a	1874,36 a	0,07 a
DEDICADO	BAIXO VIGOR	7,32 b	92,60 b	36,38 b	1080,52 b	0,05 b
Coeficiente de variação (%)		25,92	47,89	45,85	28,36	23,38

<sup>\*</sup>Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo Teste Tukey (p<0,05). Fonte: Do autor (2024).

Ao se analisara Tabela 8 é possível observar que, no sistema compacto dedicado, as sementes foram separadas por meio dos índices *AVD*1, *AVD*2, *AVD*3, *AVD*4 e *NUMAD*, assim como no sistema laboratorial tradicional, ou seja, a eficiência de ambos os sistemas foi maior quando as análises foram realizadas na região do eixo embrionário.

É válido ressaltar que mesmo quando as análises foram realizadas na região vascular houve separação entre os grupos pelo *AVD*1 (o mais comumente utilizado), no entanto, a melhoria que as análises na região do eixo embrionário proporcionaram indicam que, ao estabelecer uma ROI, é preciso ter atenção às análises gráficas de forma a serem obtidos resultados mais realistas.

Ainda, quando as análises foram deslocadas para o eixo embrionário, houve separação das sementes de alto e de baixo vigor em todos os índices numéricos, tanto no sistema tradicional laboratorial quanto no sistema compacto dedicado. Isso reforça a constatação da maior atividade biológica no eixo embrionário, com 24 horas e embebição.

Importante mencionar que existem importâncias fisiológicas distintas entre as regiões. A região vasculartem uma função primária de transporte, enquanto que o eixo embrionário é responsável pelo desenvolvimento estrutural da planta. Como observado por Marcos Filho (2015), a saúde do eixo embrionário é fundamental para o desenvolvimento correto da plântula, enquanto que o bom funcionamento da região vascular é essencial para garantir o fluxo de nutrientes necessários para o crescimento.

Oeixo embrionário é a estrutura que contém o embrião da planta e inclui componentes como a radícula, hipocótilo, epicótilo e plúmula (Marcos Filho, 2015). O eixo embrionário é a primeira estrutura a emergir durante a germinação, iniciando o desenvolvimento da raiz e do

caule. De acordo com Carvalho e Nakagawa (2012), o eixo embrionário é importante para o estabelecimento da plântula, pois contém os tecidos que darão origem às principais partes da planta. A radícula, por exemplo, é a primeira a emergir e se desenvolve em uma raiz funcional, o que permite a absorção de água e nutrientes do solo.

A integridade do eixo embrionário também é um indicador-chave de vigor. Como relatado por Bewley *et al.* (2013), danos nessa região podem comprometer severamente o crescimento da planta, afetando diretamente o desempenho fisiológico da plântula.

Considerando-se a importância de cada uma das regiões, cabe levantar a possibilidade de ser estabelecida uma rotina de análise que considere ambas as regiões, de forma a se ter uma avaliação da qualidade tanto do embrião quanto do cotilédone, responsável pela reserva energética.

Na Tabela 9 observam-se os resultados do teste de emergência das sementes de alto vigore também os dados relativos ao índice de velocidade de emergência – IVE.

Tabela 9 - Teste de emergência e IVE em sementes de alto vigor.

	Tabela S	7 - Teste di	e emergen	cia e i v E	em semem	es de alto	vigor.	
Data		Emergidas						
26/fev				Seme	adura			
27/fev	0	0	0	0	0	0	0	0
28/fev	0	0	0	0	0	0	0	0
29/fev	0	0	0	0	0	0	0	0
01/mar	1	1	0	0	0	0	1	0
02/mar	34	36	35	32	33	37	33	34
03/mar	12	10	13	13	13	12	15	12
04/mar	2	1	1	2	2	1	1	4
05/mar	0	0	0	1	1	0	0	0
06/mar	0	0	0	0	0	0	0	0
07/mar	0	0	0	0	0	0	0	0
08/mar	0	0	0	0	0	0	0	0
Semeadas	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Emergidas	49,00	48,00	49,00	48,00	49,00	50,00	50,00	50,00
%	98	96	98	96	98	100	100	100
IVE	9,34	9,26	9,31	8,98	9,18	9,54	9,49	9,37
IVEmédio				9,	31			·

Fonte: Do autor (2024).

Na Tabela 10 observam-se os resultados das sementesde baixo vigore também os dados relativos ao índice de velocidade de emergência – IVE.

Tabela 10 - Teste de emergência e IVE em sementes de baixo vigor.

Data	Emergidas							
26/fev				Seme	adura			
27/fev	0	0	0	0	0	0	0	0
28/fev	0	0	0	0	0	0	0	0
29/fev	0	0	0	0	0	0	0	0
01/mar	0	0	0	0	0	0	0	0
02/mar	0	0	0	1	0	0	0	1
03/mar	2	5	4	3	5	4	3	3
04/mar	4	4	3	4	3	5	4	3
05/mar	3	2	3	2	3	4	3	2
06/mar	2	2	1	1	2	2	1	2
07/mar	0	0	0	0	0	0	0	0
08/mar	0	0	0	0	0	0	0	0
Semeadas	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00	50,00
Emergidas	11,00	13,00	11,00	11,00	13,00	15,00	11,00	11,00
%	22	26	22	22	26	30	22	22
IVE	1,50	1,88	1,58	1,63	1,86	1,99	1,56	1,60
IVE médio				1,	70			

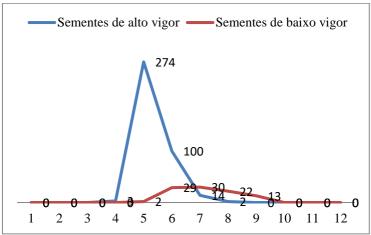
Fonte: Do autor (2024).

Quanto ao *IVE*, para as sementes de alto vigor (Tabela 9), o valor médio obtido foi de 9,31. Já para as sementes que passaram pelo processo de envelhecimento precoce, o *IVE* médio obtido foi de 1,70 (Tabela 10).

Como pôde ser observado pela técnica do BSL, as sementes de baixo vigor apresentavam índices numéricos mais baixos, assim, os dados obtidos pelo teste de emergência e IVE corroboram os dados do BSL. De acordo com Alves *et al.* (2012), o *IVE* apresenta eficiência na separação dos lotes em diferentes níveis de vigor.

No Gráfico 4 observa-se a diferença que o processo de envelhecimento acelerado promoveu entre as sementes, separando-as em dois blocos, o de alto vigor e o de baixo vigor.

Gráfico 4 - Teste de emergência de 400 sementes de alto vigor e de 400 sementes de baixo vigor.



Fonte: Do autor (2024).

Sementes de alto vigor apresentam desempenho superior quando comparadas a sementes de baixo vigor, influenciando, inclusive, a produtividade (Sá, 1994). Isso foi comprovado tanto pela diferença na quantidade das emergidasquanto no atraso no início da emergência de 1 dia para as sementes de baixo vigor, estando de acordo com os resultados obtidos pela técnica do BSL.

Por fim, ao comparar os dados do teste de emergência com os dados obtidos pelo BSL, é possível concluir que a técnica foi eficaz ao fazer a separação das sementes, alto e baixo vigor, bem como pode ser utilizada para estimar o vigor no momento em que estão com 24 horas de embebição, enquanto o teste de emergência demandou 12 dias.

Concluindo, enquanto o teste de emergência utilizou 800 sementes, a técnica do BSL utilizou 72, indo ao encontro da necessidade de se obter um método não destrutivo pelo qual julgar se uma única semente está viva ou morta, de forma mais rápida e mais conveniente, conforme observaram Xing *et al.* (2023).

# 6 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi possível produzir e validar um sistema compacto dedicado à análise de sementes por meio da técnica do BSL.

Foi feita a seleção e o teste de um minimicroscópio digital adaptado com um diafragma para utilização do BSL. Concluiu-se pela utilização do modelo Dino-Lite AM7013MZT, com um diafragma de 3 mm de abertura.

Um sistema compacto dedicado à análise de sementes utilizando a técnica BSL foi desenvolvido, demonstrando eficiência tanto em comparação com a análise gravimétrica quanto na avaliação da qualidade das sementes em relação a um sistema laboratorial tradicional.

Foi feita a validação do sistema compacto dedicado à análise de sementes por meio da técnica do BSL em relação ao teste de emergência.

Assim,o sistema compacto dedicado para análise de sementes é uma alternativa viável e complementar a métodos tradicionais para determinação do vigor em sementes, especificamente as de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), oferecendo, em cerca de 24 horas, resultados que o teste de emergência/IVE demorou cerca de 12 dias para oferecer/confirmar.

# REFERÊNCIAS

ALVES, Charline Zaratin; GODOY, Amanda Regina; CORRÊA, Luiz de Souza. Adequação da metodologia para oteste de germinação de sementes de pitaia vermelha. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 5, p. 779-784, maio 2012.

AMALVY, Javier I. *et al.* Application of dynamic *speckle* interferometry to the drying of coatings. **Progress in Organic Coatings**, [Switzerland], v. 42, n. 1-2, p. 89-99, June 2001.

ARAÚJO, Rodrigo Soares Ambrósio de. **Validação de um protótipo portátil para quantificar o teor de água foliar por método óptico.** 2018. 38 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.

ARIZAGA, Ricardo; TRIVI, Marcelo; RABAL, Héctor. Speckle time evolution characterization by the co-occurrence matrix analysis. **Optics & Laser Technology**, [England], v. 31, n. 2, p. 163–169, Mar. 1999.

AZEVEDO, Roberto Luiz de. **Incremento germinativo da semente do café** (*Coffea arabica* **L.**): aplicação de um campo magnético uniforme com monitoramento pelo biospeckle laser. 2018. 140 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.

BEWLEY, J. Derek *et al.* **Seeds:** physiology of development, germination and dormancy. 3. ed. New York: Springer, 2013. 392 p.

BIO-SPECKLE LASER TOOL LIBRARY. **BSL Tool Library.** BSLTL, 2022. Disponível em: https://www.nongnu.org/bsltl/. Acesso em: 10 jun. 2024.

BLOTTA, Eduardo *et al.* Evaluation of *speckle*-interferometry descriptors to measuring drying-of-coatings. **Signal processing**, [Netherlands], v. 91, n. 10, p. 2395-2403, Oct. 2011.

BOTEGA, Juliana Vilela Lourençoni. **Viabilidade de métodos óticos para identificação de conteúdo de água de folha de cafeeiros.** 2009. 99 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

BRAGA JÚNIOR, Roberto Alves *et al.* Biospeckle laser as a potencial test of seed viability. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 3, p. 645-649, 2001.

BRAGA JÚNIOR, Roberto Alves *et al.* Assessment of seed viability by laser *speckle* techniques. **Biosystems Engineering**, [England], v. 86, n. 3, p. 287–294, Nov. 2003.

BRAGA JÚNIOR, Roberto Alves *et al.* Detection of fungi in beans by the laser biospeckle technique. **Biosystems Engineering**, [England], v. 91, n. 4, p. 465-469, Aug. 2005.

BRAGA JÚNIOR, Roberto Alves; RIVERA, Fernando Pujaico; MOREIRA, Junio. **A Practical Guide to Biospeckle Laser Analysis:** Theory and Software. Lavras: Editora UFLA, 2016.

BRAGA JÚNIOR, Roberto Alves; GONZÁLEZ-PEÑA, Rolando de Jesús. Accuracy in dynamic laser *speckle*: optimum size of *speckle*s for temporal and frequency analyses. **Optical Engineering**, [United States], v. 55, n. 12, p. 121702-121702, Dec. 2016.

BRAGA JÚNIOR, Roberto Alves. Challenges to apply the biospeckle laser technique in the field. **Chemical Engineering Transactions**, [Italy], v. 58, p. 577-582, June 2017.

BRAGA JÚNIOR, Roberto Alves. When noise became information: State-of-the-art in biospeckle laser. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 41, n. 4, p. 359-366, July/Aug. 2017.

BRAGA JÚNIOR, Roberto Alves *et al.* Campo magnético na germinação da semente de café. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 44, p. 1-10, jun. 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 2009. 398 p.

CAI, Guoneng *et al.* Ti<sub>3</sub>C<sub>2</sub> MXene quantum dot-encapsulated liposomes for photothermal immunoassays using a portable near-infrared imaging camera on a smartphone. **Nanoscale**, [England], v. 11, n. 33, p. 15659-15667, Aug. 2019.

CARDOSO, Rafael; BRAGA, Roberto. Enhancement of the robustness on dynamic *speckle* laser numerical analysis. **Optics and Lasers in Engineering**, [England], v. 63, p. 19–24, Dec. 2014.

CARVALHO, Nelson Moreira de; NAKAGAWA, João. **Sementes:** ciência, tecnologia e produção. 5. ed. Jaboticabal: Funep, 2012. 590 p.

CATALANO, Marcos D.; RIVERA, Fernando Pujaico; BRAGA, Roberto A. Viability of biospeckle laser in mobile devices. **Optik**, [Germany], v. 183, p. 897–905, Mar. 2019.

CHEN, Heping *et al.* A prototype system of portable laser speckle imager based on embedded graphics processing unit platform. *In:* **2019 41st Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)**. IEEE, 2019. p. 3919-3922.

CHEN, Shuyun *et al.* Block-polymer-restricted sub-nanometer Pt nanoclusters nanozyme-enhanced immunoassay for monitoring of cardiac troponin I. **Analytical Chemistry**, [United States], v. 95, n. 38, p. 14494-14501, Sept. 2023.

CHIZARI, Ata *et al.* Handheld versus mounted laser *speckle* contrast perfusion imaging demonstrated in psoriasis lesions. **Scientific Reports**, [England], v. 11, n. 1, Aug. 2021.

CUNHA, Ana Lúcia Araújo; FERREIRA, Thiago Costa. Patologia de sementes na atualidade: revisão bibliométrica. **Holos**, Natal, v. 1, p. 1-19, jun. 2021.

DE CASTRO, Daniel Bernardes *et al.* Mechanical vibration effects in the biospeckle laser technique for portable equipment application in agriculture. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, São José dos Pinhais, v. 5, n. 2, p. 2271-2289, June 2022.

DE MEDEIROS, André Dantas *et al.* Deep learning-based approach using X-ray images for classifying Crambe abyssinica seed quality. **Industrial Crops and Products**, [Netherlands], v. 164, June 2021.

DE SILVA, Yakdehige Sanath Kumara; RAJAGOPALAN, Uma Maheswari; KADONO, Hirofumi. Effect of Alumina Nanoparticles on Lentil Seed Germination Using Biospeckle Optical Coherence Tomography. **Applied Sciences**, [Romania], v. 13, n. 16, Aug. 2023.

FACCIA, P. A. *et al.* Differentiation of the drying time of paints by dynamic *speckle* interferometry. **Progress in Organic Coatings**, [Switzerland], v. 64, n. 4, p. 350-355, Mar. 2009.

FENG, Longlong *et al.* Assessment of rice seed vigour using selected frequencies of electrical impedance spectroscopy. **Biosystems Engineering**, [England], v. 209, p. 53-63, Sept. 2021.

FERREIRA, Daniel Furtado. Sisvar: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria**, [Lavras], v. 37, n. 4, p. 529-535, Dec. 2019.

FRANÇA-SILVA, Fabiano *et al.* Advances in imaging technologies for soybean seed analysis. **Journal of Seed Science**, [Londrina], v. 45, Aug. 2023.

FRANÇA-NETO, José de Barros; KRZYZANOWSKI, Francisco Carlos. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja.** Londrina: Embrapa Soja, 2018. 94 p. (Embrapa Soja, Documentos, 406).

GOMES, José Eduardo Silva. **Desenvolvimento de um equipamento portátil para análise de sementes utilizando a técnica do biospeckle laser.** 2022. 116 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) — Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2022.

GONÇALVES, Pamela Porfirio; GARLET, Juliana. Teste de tetrazólio em sementes de espécies de domínio fitogeográfico amazônico. **Agrotrópica**, Ilhéus, v. 33, n. 2, p. 117-116, jan. 2021.

GONZÁLEZ-PEÑA, Rolando J. *et al.* Monitoring of the action of drugs in melanoma cells by dynamic laser *speckle*. **Journal of Biomedical Optics**, [United States], v. 19, n. 5, May 2014.

GONZÁLEZ-PEÑA, Rolando J. *et al.* Assessment of biological activity in RAW 264.7 cell line stimulated with lipopolysaccharide using dynamic laser *speckle*. **Applied Physics B**, [New York], v. 122, n. 275, p. 1-8, Nov. 2016.

GONZÁLEZ-PEÑA, Rolando J.; BRAGA JÚNIOR, Roberto A.; PUJAICO-RIVERA, Fernando. Diode laser reliability in dynamic laser *speckle* application: stability and signal to noise ratio. **Optics & Laser Technology**, [England], v. 108, p. 279-286, Dec. 2018.

GUEDES, Juan Diego Silva *et al.* Assessment of the biological activity of kefir grains by biospeckle laser technique. **African Journal of Microbiology Research**, [Nigéria], v. 8, n. 27, p. 2639-2642, July 2014.

KRZYZANOWSKI, Francisco Carlos, VIEIRA, Roberval Daiton; FRANÇA NETO, José de Barros. **Vigor de sementes:** Conceitos e testes. Londrina: ABRATES, 1999.

KONOVALOV, Anton *et al.* Laser *speckle* contrast imaging in neurosurgery: a systematic review. **World Neurosurgery**, [United States], v. 171, p. 35-40, Jan. 2023.

KUMAR, Ravindra *et al.* **Seed-borne diseases of agricultural crops:** Detection, diagnosis & management. Singapore: Springer, 2020.

LERTSAKDADET, Ben *et al.* Handheld motion stabilized laser *speckle* imaging. **Biomedical Optics Express**, [United States], v. 10, n. 10, p. 5149-5158, Jan. 2019.

LEVCHENKO, Mikhail *et al.* Portable low-cost setup for outdoor implementation of dynamic speckle technique. *In:* OPTICAL MEASUREMENT SYSTEMS FOR INDUSTRIAL INSPECTION, 13., 2023, Munich. **Anais...** Munich: SPIE, 2023. p. 370-379.

LOPES, José Carlos *et al.* Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de soja produzidas em Alegre-ES. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 24, n. 1, p. 51-58, jan. 2002.

LU, Liling *et al.* Cation exchange reaction-mediated photothermal and polarity-switchable photoelectrochemical dual-readout biosensor. **Analytical Chemistry**, [United States], v. 95, n. 44, p. 16335-16342, Oct. 2023.

MAGALHÃES-GUEDES, Karina Teixeira *et al.* Uso de biossensor a laser para avaliação da atividade metabólica microbiana do vinagre de kefir. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 53, n. 11, p. 1276-1280, nov. 2018.

MAGUIRE, James D. Speed of germination-aid in seletion and evaluation for seedlig emergence and vigor. **Crop Science**, [United States], v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar./Apr. 1962.

MCMAHON, Gillian. **Analytical instrumentation:** a guide to laboratory, portable and miniaturized instruments. São Paulo: John Wiley & Sons, 2008.

MARTINS, Cibele Chalita; NAKAGAWA, João; BOVI, Marilene Leão Alves. Efeito da posição da semente no substrato e no crescimento inicial das plântulas de palmito vermelho (Euterpe espiritosantensis Fernades – Palmae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, 1999.

MARCOS FILHO, Júlio; CÍCERO, Silvio Moure; SILVA, Walter Rodrigues. **Avaliação da qualidade das sementes.** Piracicaba: FEALQ, 1987.

MARCOS FILHO, Júlio. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas.** 2. ed. Londrina: Abrates, 2015. 660 p.

O'CALLAGHAN, Felicity E. *et al.* Dynamic biospeckle analysis, a new tool for the fast screening of plant nematicide selectivity. **Plant Methods**, [England], v. 15, n. 155, p. 1-13, Dec. 2019.

ORTIZ, Thiago Alberto; GOMES, G. R.; TAKAHASHI, L. S. A. Standardization of the accelerated aging test methodology for snap bean seed to differentiate batches by physiological quality. **International Journal of Vegetable Science**, [s.l.], v. 30, n. 2, p. 131-137, Mar. 2024.

PANG, Lei *et al.* Rapid seed viability prediction of Sophora japonica by improved successive projection algorithm and hyperspectral imaging. **Infrared Physics & Technology**, [Netherlands], v. 123, n. 6, Mar. 2022.

PEREIRA, Márcio Dias *et al.* Processamento digital de imagens de plântulas na avaliação do vigor de sementes de *Moringa oleifera* Lam. **Revista Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 291-306, abr./jun. 2020.

PÉREZ, Alberto J. *et al.* A portable dynamic laser *speckle* system for sensing long-term changes caused by treatments in painting conservation. **Sensors,** [Switzerland], v. 18, n. 1, Jan. 2018.

RABELO, Giovanni F. *et al.* Frequency response of biospeckle laser images of bean seeds contaminated by fungi. **Biosystems Engineering**, [England], v. 110, n. 3, p. 297–301, Nov. 2011.

RAHMANIAN, Alireza *et al.* Application of biospeckle laser imaging for early detection of chilling and freezing disorders in orange. **Postharvest Biology and Technology**, [Netherlands], v. 162, Apr. 2020.

RAMÍREZ-MIQUET, Evelio E. *et al.* Digital imaging information technology for biospeckle activity assessment relative to bacteria and parasites. **Lasers in Medical Science**, [England], v. 32, p. 1375-1386, June 2017.

RODRIGUEZ-LOYA, Jesus; LERMA, Maricarmen; GARDEA-TORRESDEY, Jorge L. Dynamic light scattering and its application to control nanoparticle aggregation in colloidal systems: a review. **Micromachines**, [Switzerland], v. 15, n. 1, Dec. 2023.

SÁ, M. E. Importância da adubação na qualidade de semente. *In:* SÁ, M. E. de; BUZZETI, S. (Eds.). **Importância da adubação na qualidade dos produtos agrícolas.** São Paulo: Ícone, 1994. p. 65-98.

SDOBNOV, Anton *et al.* Advances in dynamic light scattering imaging of blood flow. **Laser & Photonics Reviews**, [Germany], v. 18, n. 2, Feb. 2024.

SENARATHNA, Janaka *et al.* A miniaturized platform for laser *speckle* contrast imaging. **IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems**, [United States], v. 6, n. 5, p. 437-445, Oct. 2012.

SINGH, Puneet *et al.* Application of laser biospeckle analysis for assessment of seed priming treatments. **Computers and Electronics in Agriculture**, [England], v. 169, Feb. 2020.

SINGH, Puneet *et al.* Development of an intelligent laser biospeckle system for early detection and classification of soybean seeds infected with seed-borne fungal pathogen (*Colletotrichum truncatum*). **Biosystems Engineering**, [England], v. 212, p. 442-457, Dec. 2021.

SINGH, Puneet Singh *et al.* Laser biospeckle technique for characterizing the impact of temperature and initial moisture content on seed germination. **Optics and Lasers in Engineering**, [England], v. 153, n. 12, June 2022.

SONY. Que es la apertura de diafragma fotográfico. 2024. Disponível em:

https://www.sony.com.br/alphauniverse/stories/que-es-la-apertura-de-diafragma-fotografico. Acesso em: 15 out. 2024.

SOUZA SOBRINHO, Alcebíades Fogaça de. **Avaliação da Qualidade Fisiológica de Sementes de Soja por Meio do Biospeckle Laser**. 2023. 45 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) — Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2023.

SUÑE, Anna dos Santos. **Emergência de Plântulas em Diferentes Substratos e Profundidades de Semeadura:** Nova Metodologia na Avaliação do Vigor em Sementes de Milheto. 2016. 76 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

TEJO, Débora Perdigão; FERNANDES, Carlos Henrique dos Santos; ÁVILA, Marizangela Rizzatti. Metodologias para determinar qualidade fisiológica em sementes de feijão enfatizando o teste de tetrazólio. **Revista Científica Rural**, Bagé, v. 23, n. 1, p. 124-141, Jan. 2021.

VEGA, Fabio; TORRES, Cesar Orlando. System of acquisition and processing of images of dynamic *speckle*. **Journal of Physics:** Conference Series, [s.l.], v. 582, n. 1, Jan. 2015.

VIANA, Roberta Oliveira *et al.* Fermentation process for production of apple-based kefir vinegar: microbiological, chemical and sensory analysis. **Brazilian Journal of Microbiology**, [São Paulo], v. 48, n. 3, p. 592-601, July/Sept. 2017.

VIEIRA, Alessandro Santos; BRAGA JUNIOR, Roberto Alves. Technological Development of Biospeckle Laser: a Systematic Review. **International Journal of Latest Engineering and Management Reserach**, [s.l.], v. 5, n. 2, p. 29-39, Feb. 2020.

VICENTINI, Bruno. **Protótipo portátil para analisar sementes por biospeckle laser:** validação e desenvolvimento. 2023. 43 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Sistemas e Automação) — Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2023.

VIVAS, Pauliani Gonçalves. **Uso do biospeckle como ferramenta de diagnóstico precoce na avaliação da qualidade de sementes de café.** 2015. 60 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) — Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

VIVAS, P. G. *et al.* Biospeckle activity in coffee seeds is associated non-destructively with seedling quality. **Annals of Applied Biology**, [United States], v. 170, n. 2, p. 141-149, Mar. 2017.

YU, Zhichao *et al*. Hollow prussian blue nanozyme-richened liposome for artificial neural network-assisted multimodal colorimetric-photothermal immunoassay on smartphone. **Biosensors and Bioelectronics**, [Netherlands], v. 218, Dec. 2022.

WIKIPEDIA. **Diafragma fotográfico.** 2024. Disponível em: https://pt.wikipedia.org/wiki/Diafragma\_fotogr%C3%A1fico. Acesso em: 15 out. 2024.

WU, Di *et al.* Pt/Zn-TCPP Nanozyme-Based Flexible Immunoassay for Dual-Mode Pressure—Temperature Monitoring of Low-Abundance Proteins. **Analytical Chemistry**, [United States], v. 96, n. 21, p. 8740–8746, May 2024.

XING, Muye *et al.* Physiological alterations and nondestructive test methods of crop seed vigor: A comprehensive review. **Agriculture**, [Switzerland], v. 13, n. 3, Feb. 2023.

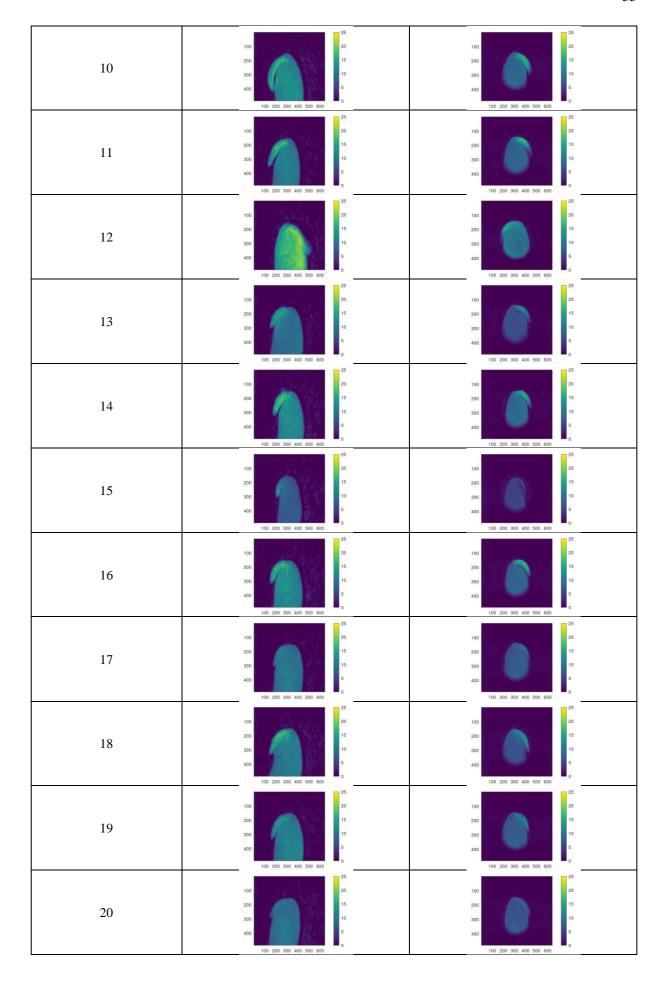
ZDUNEK, Artur *et al.* The biospeckle method for the investigation of agricultural crops: A review. **Optics and Lasers in Engineering**, [England], v. 52, p. 276-285, Jan. 2014.

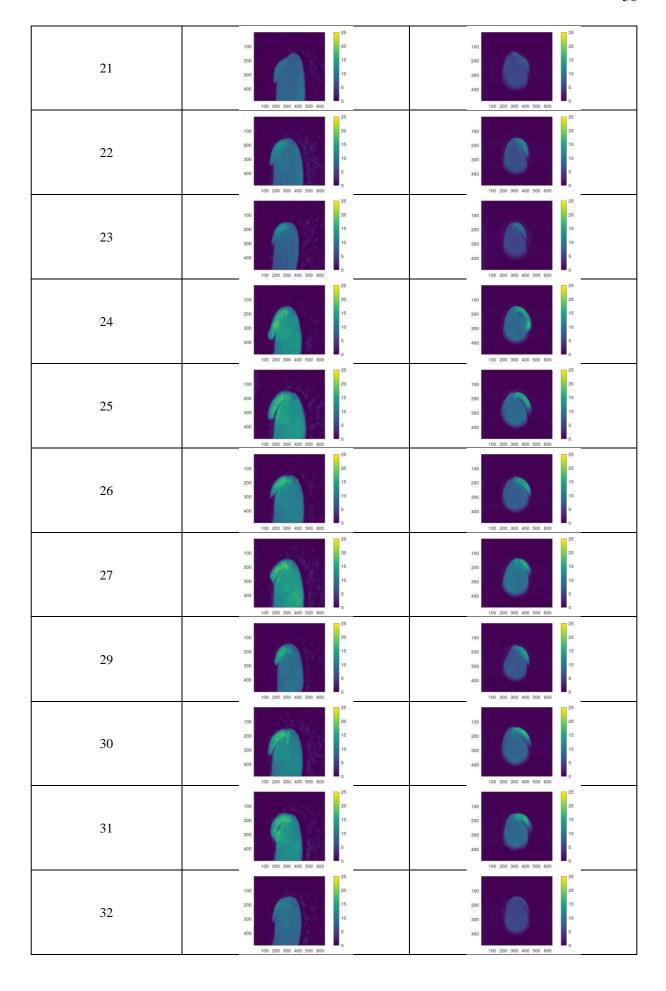
ZILPELWAR, Sharvari *et al.* Model of dynamic *speckle* evolution for evaluating laser *speckle* contrast measurements of tissue dynamics. **Biomedical Optics Express**, [United States], v. 13, n. 12, p. 6533-6549, Nov. 2022.

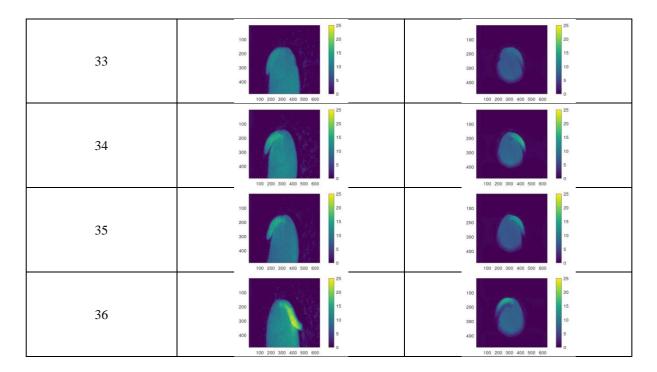
# **APÊNDICES**

# APÊNDICE A - GAVD – Sementes de feijão com alto vigor

Amostra	Sistema Tradicional Laboratorial	Sistema Dedicado
1	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600
2	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600	25 20 200 300 400 100 200 300 400 500 600
3	100 200 300 400 100 200 300 400 560 600	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600
4	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600
5	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600
6	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600
7	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600
8	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 500 600 25 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
9	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600

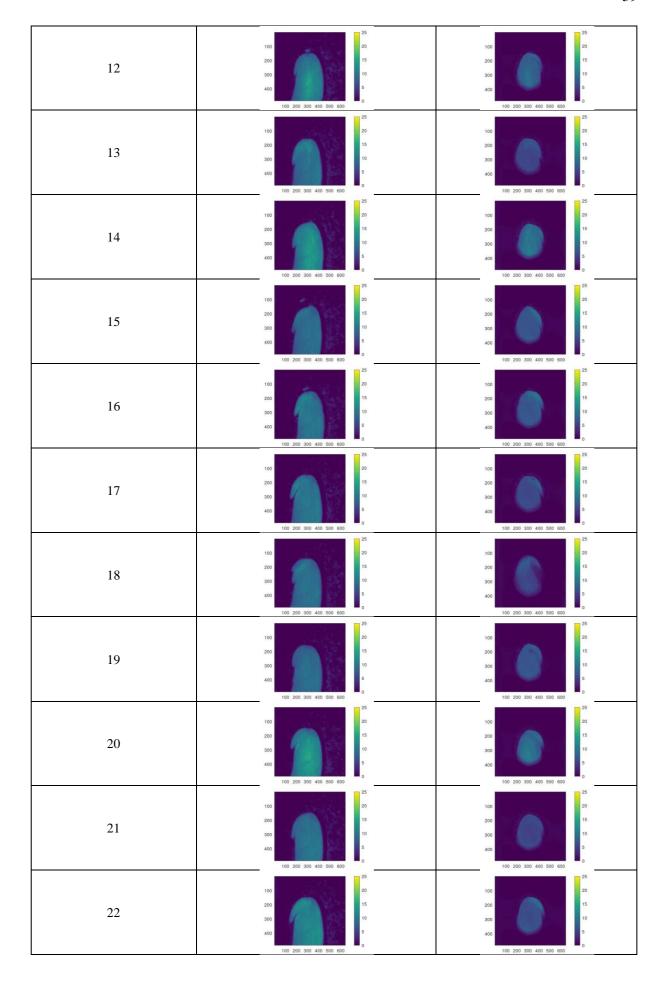






APÊNDICE B - GAVD – Sementes de feijão de baixo vigor

Amostra	Sistema Tradicional Laboratorial	Sistema Dedicado
1	200 200 300 400 100 200 300 400 500 600	25 20 20 300 400 500 600 25 5
2	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600
3	25 20 200 300 400 100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600
4	25 20 200 300 400 100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600
6	25 20 15 300 400 100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600
7	100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600
8	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600
9	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600
10	25 20 200 300 400 100 200 300 400 500 600	25 20 15 10 200 300 400 500 600 0 0
11	25 20 200 300 400 100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600



	100	100
	200	200
23	300	300
	400	400
	100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 500 600
	25	25
	100	100
24	200	200
	300 400	300 10 400 5
		100 200 300 400 500 600
	100 200 300 400 500 600	25
	100	100
25	200	200
23	300	300
	400	400
	100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 500 600
	100	100
	200	200
26	300	300
	400	400
	100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 500 600
	25	25
	100	100
27	200	200
	300 400	300 400 5
		100 200 300 400 500 600
	100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 500 600
	100	100
28	200	200
28	300	300
	400	400
	100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 500 600
	100	100
	200	200
29	300	300
	400	400
	100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 500 600
	25	25
	100	100
30	200	200 15 300 10
	400	400
	100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 500 600
	25	25
	100	100
31	200	200
	300	300
	400	400
	100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 500 600
	100	100
	200	200
32	300	300
	400	400
	100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 500 600
	25	25
	100	100
33	200	200 15 300 10
	400	400
	100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 500 600
	100 200 300 400 500 600	100 200 300 400 500 600

34	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600	25 20 300 400 100 200 300 460 500 600
35	25 200 300 400 100 200 300 400 500 600	25 20 20 300 400 100 200 300 400 500 600
36	100 200 300 400 100 200 300 400 500 600	25 29 15 300 400 100 200 300 400 500 600

# APÊNDICE C - ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Variável analisada Opção de transform		vel sem transforma	ção ( Y )	<b>_</b>	
	TABELA DE	ANÁLISE DE VARIÂNO	CIA		
FV	GL	sQ	QM	Fc	Pr>Fc
SEMENTE erro	1 70	15.284644 176.416287	15.284644 2.520233	6.065	0.0163
Total corrigido	71	191.700931			
CV (%) = Média geral: 	15.54 10.218095	8 Número de ol	oservações:	72	
Teste Tukey para	a a FV SEMEN	TE			
DMS: 0,74628448413	4118 NMS: 0	,05			
Média harmonica do Erro padrão: 0,264					
Tratamentos		Médias	Resultados do	teste	
 NAO_VIAVEL VIAVEL		9.757350 a	a1 a2		
<del>-</del> -	<del>_</del>	vel_xNViavel_TRAD_A	AVD2.dbf		
 Variável analisada	a: AVD2 mação: Variá	vel sem transforma	ção ( Y )		
Variável analisada Opção de transforn	a: AVD2 mação: Variá TABELA DE	vel sem transformac ANÁLISE DE VARIÂNO	ção (Y)		
Variável analisada Opção de transforr	a: AVD2 mação: Variá TABELA DE	vel sem transformac ANÁLISE DE VARIÂNC SQ	ção ( Y ) CIA QM	Fc	
Variável analisada Opção de transform  FV  SEMENTE	a: AVD2 mação: Variá TABELA DE	vel sem transformac ANÁLISE DE VARIÂNO	ção (Y)		Pr>Fc
Variável analisada	a: AVD2 mação: Variá TABELA DE GL	vel sem transformac ANÁLISE DE VARIÂNO SQ 19234.207600	ÇÃO ( Y )  CIA  QM  19234.207600		
Variável analisada Opção de transform  FV  SEMENTE erro  Total corrigido  CV (%) =	a: AVD2 mação: Variá TABELA DE GL 1 70 71 32.45 172.554194	vel sem transformac ANÁLISE DE VARIÂNO SQ 19234.207600 219447.750697	QM  19234.207600 3134.967867		
Variável analisada Opção de transform  FV  SEMENTE erro  Total corrigido  CV (%) = Média geral:	a: AVD2 mação: Variá  TABELA DE  GL  1 70  71  32.45 172.554194	vel sem transformac ANÁLISE DE VARIÂNO SQ 19234.207600 219447.750697 238681.958297	QM  19234.207600 3134.967867  DSERVAÇÕES:	6.135	
Variável analisada Opção de transform  FV  SEMENTE erro  Total corrigido  CV (%) = Média geral:	a: AVD2 mação: Variá TABELA DE GL 1 70 71 32.45 172.554194 a a FV SEMEN	vel sem transformace ANÁLISE DE VARIÂNCE SQ 19234.207600 219447.750697 238681.958297 4 Número de ol	QM  19234.207600 3134.967867  DSERVAÇÕES:	6.135	
Variável analisada Opção de transform  FV  SEMENTE erro  Total corrigido  CV (%) = Média geral:  Teste Tukey para	a: AVD2 mação: Variá  TABELA DE  GL  1 70  71  32.45 172.554194  a a FV SEMEN	vel sem transformac ANÁLISE DE VARIÂNO SQ 19234.207600 219447.750697 238681.958297 4 Número de ol	QM  19234.207600 3134.967867	6.135	
Variável analisada Opção de transform  FV  SEMENTE erro  Total corrigido  CV (%) = Média geral:  Teste Tukey para	a: AVD2 mação: Variá TABELA DE GL 1 70 71 32.45 172.554194 a a FV SEMEN 652 NMS: 0,	vel sem transformac ANÁLISE DE VARIÂNC SQ 19234.207600 219447.750697 238681.958297	QM  19234.207600 3134.967867	6.135	
Variável analisada Opção de transform  FV  SEMENTE erro  Total corrigido  CV (%) = Média geral:  Teste Tukey para	a: AVD2 mação: Variá TABELA DE GL 1 70 71 32.45 172.554194 a a FV SEMEN 652 NMS: 0,	vel sem transformac ANÁLISE DE VARIÂNC SQ 19234.207600 219447.750697 238681.958297  TE 05 epetições (r): 36 Médias	QM  19234.207600 3134.967867	72	

_					
Tese\EOUIPAMENTOS	SEM	CAVD\Viaval	vNVi avrol	תעסת	AMD3 4Pt

Variável analisada: Opção de transforma		el sem transforma	ıção ( Y )	
	TABELA DE	ANÁLISE DE VARIÂN	ICIA	
FV	GL	SQ	QM	Fc Pr>Fc
SEMENTE erro		3083.415009 33355.688794		6.471 0.0132
Total corrigido	71	36439.103802		
CV (%) = Média geral:		Número de c	bservações:	72
Teste Tukey para		 E		
DMS: 10,261716939052	24 NMS: 0,0			
Média harmonica do r Erro padrão: 3,63818				
Tratamentos		Médias	Resultados d	o teste
NAO_VIAVEL VIAVEL		58.993000 72.081194		

# ${\tt Tese} \\ {\tt EQUIPAMENTOS\_SEM\_GAVD} \\ {\tt Viavel\_xNViavel\_TRAD\_AVD4.dbf}$

Variável analisad Opção de transfor		l sem transformaç	ão ( Y )	
	TABELA DE A	NÁLISE DE VARIÂNC	IA	
FV	GL	SQ	QM	Fc Pr>Fc
SEMENTE erro		18388.067222 1 23912.085556		10.586 0.0018
Total corrigido	71 138	42300.152778		
CV (%) = Média geral:	22.12 1873.6805556	Número de ob	servações:	72
Teste Tukey par	a a FV SEMENTE	 :		
DMS: 194,830959933	193 NMS: 0,05			
Média harmonica do Erro padrão: 69,07	-	etições (r): 36		
Tratamentos		Médias	Resultados o	do teste
NAO_VIAVEL VIAVEL		1714.761111 a 2032.600000	<del>_</del>	

Tese\EQUIPAMENTOS	SEM	GAVD\Viavel	xNViavel	TRAD	NUMAD.dbf
-------------------	-----	-------------	----------	------	-----------

Variável analisad Opção de transfor		sem transformação	o (Y)	
	TABELA DE ANA	ÁLISE DE VARIÂNCIA	 А	
FV	GL	SQ	QM	Fc Pr>F
SEMENTE erro		0.000003 0.006871		0.033 0.855
Total corrigido	71	0.006874		
CV (%) = Média geral:	14.65 0.0676196	Número de obse	ervações:	72
Teste Tukey par				
DMS: 0,00465732370	917493 NMS: 0,0	)5		
Média harmonica do Erro padrão: 0,001	_	cições (r): 36		
Tratamentos		Médias	Resultados do	teste
NAO_VIAVEL VIAVEL		0.067406 a1 0.067833 a1		
	·			

# Tese\EQUIPAMENTOS\_SEM\_GAVD\Viavel\_xNViavel\_DED\_AVD1.dbf

Variável analisad Opção de transfor		sem transformaçã	o ( Y )	
	TABELA DE AN	ÁLISE DE VARIÂNCI	A	
FV	GL	SQ	QM	Fc Pr>Fc
SEMENTE erro		6.796616 84.071400		5.659 0.0201
Total corrigido	71			
CV (%) = Média geral:	16.14 6.7899722			72
Teste Tukey par	a a FV SEMENTE			
DMS: 0,51518025907	6505 NMS: 0,05			
Média harmonica do Erro padrão: 0,182	-	tições (r): 36		
Tratamentos		Médias	Resultados	do teste
NAO_VIAVEL VIAVEL		6.482731 a1 7.097214		

Tese\EOUIPAMENTOS	SEM	GAVD\Viavel	xNViavel	DED	AVD2.dbf

Variável analisad Opção de transfor		vel sem transforma	ıção ( Y )	
	TABELA DE	ANÁLISE DE VARIÂN	ICIA	
FV	GL	SQ	QM	Fc Pr>Fc
SEMENTE erro		3408.613461 40960.696557		5.825 0.0184
Total corrigido	71	44369.310018		
CV (%) = Média geral:		l Número de c	bservações:	72
Teste Tukey par				
DMS: 11,3715257969	692 NMS: 0,0	)5		
Média harmonica do Erro padrão: 4,031				
Tratamentos		Médias	Resultados	do teste
NAO_VIAVEL VIAVEL		70.581028 84.342111		

# Tese\EQUIPAMENTOS\_SEM\_GAVD\Viavel\_xNViavel\_DED\_AVD3.dbf

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA  FV GL SQ QM Fc Pr>Fc  SEMENTE 1 524.431896 524.431896 6.389 0.0137 erro 70 5746.287382 82.089820  Total corrigido 71 6270.719277  CV (%) = 30.10  Média geral: 30.1055972 Número de observações: 72  Teste Tukey para a FV SEMENTE  DMS: 4,25920697700595 NMS: 0,05  Média harmonica do número de repetições (r): 36 Erro padrão: 1,51005720768838  Tratamentos Médias Resultados do teste  NAO_VIAVEL 27.406750 a1 VIAVEL 32.804444 a2	Variável analisad Opção de transfor		l sem transformaç	ão ( Y )	
SEMENTE 1 524.431896 524.431896 6.389 0.0137 erro 70 5746.287382 82.089820  Total corrigido 71 6270.719277  CV (%) = 30.10 Média geral: 30.1055972 Número de observações: 72  Teste Tukey para a FV SEMENTE  DMS: 4,25920697700595 NMS: 0,05  Média harmonica do número de repetições (r): 36 Erro padrão: 1,51005720768838  Tratamentos Médias Resultados do teste  NAO_VIAVEL 27.406750 a1		TABELA DE A	NÁLISE DE VARIÂNC	IA	
erro 70 5746.287382 82.089820  Total corrigido 71 6270.719277  CV (%) = 30.10  Média geral: 30.1055972 Número de observações: 72  Teste Tukey para a FV SEMENTE  DMS: 4,25920697700595 NMS: 0,05  Média harmonica do número de repetições (r): 36  Erro padrão: 1,51005720768838  Tratamentos Médias Resultados do teste  NAO_VIAVEL 27.406750 a1	FV	GL	SQ	QM	Fc Pr>Fc
CV (%) = 30.10  Média geral: 30.1055972 Número de observações: 72  Teste Tukey para a FV SEMENTE  DMS: 4,25920697700595 NMS: 0,05  Média harmonica do número de repetições (r): 36  Erro padrão: 1,51005720768838  Tratamentos Médias Resultados do teste  NAO_VIAVEL 27.406750 a1					6.389 0.0137
CV (%) = 30.10  Média geral: 30.1055972 Número de observações: 72  Teste Tukey para a FV SEMENTE  DMS: 4,25920697700595 NMS: 0,05  Média harmonica do número de repetições (r): 36  Erro padrão: 1,51005720768838  Tratamentos Médias Resultados do teste  NAO_VIAVEL 27.406750 a1	-	71			
DMS: 4,25920697700595 NMS: 0,05  Média harmonica do número de repetições (r): 36 Erro padrão: 1,51005720768838  Tratamentos Médias Resultados do teste  NAO_VIAVEL 27.406750 a1	CV (%) =				
DMS: 4,25920697700595 NMS: 0,05  Média harmonica do número de repetições (r): 36 Erro padrão: 1,51005720768838  Tratamentos Médias Resultados do teste  NAO_VIAVEL 27.406750 a1	Teste Tukey par	a a FV SEMENTE			
Erro padrão: 1,51005720768838  Tratamentos Médias Resultados do teste  NAO_VIAVEL 27.406750 a1	DMS: 4,25920697700	595 NMS: 0,05			
NAO_VIAVEL 27.406750 a1		-	etições (r): 36		
	Tratamentos		Médias	Resultados o	lo teste

#### Tese\EQUIPAMENTOS\_SEM\_GAVD\Viavel\_xNViavel\_DED\_AVD4.dbf

Variável analisada: AVD4 Opção de transformação: Variável sem transformação ( Y ) \_\_\_\_\_\_ TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA -----FV GT. SO OM Fc Pr>Fc \_\_\_\_\_ 1 230620.097422 230620.097422 3.733 0.0574 70 4324671.875306 61781.026790 SEMENTE 70 erro Total corrigido 71 4555291.972728 CV (%) = 21.81 1139.8530556 Média geral: Número de observações: 72 \_\_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_\_ Teste Tukey para a FV SEMENTE DMS: 116,845409559746 NMS: 0,05 \_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_ Média harmonica do número de repetições (r): 36 Erro padrão: 41,4263157070208 Tratamentos Médias Resultados do teste NAO VIAVEL 1083.257500 a1 VIAVEL 1196.448611 al

#### Tese\EQUIPAMENTOS\_SEM\_GAVD\Viavel\_xNViavel\_DED\_NUMAD.dbf

Variável analisada: NUMAD Opção de transformação: Variável sem transformação ( Y ) TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA GL SO FV OM Fc Pr>Fc \_\_\_\_\_\_ 0.005197 0.005197 2.260 0.1372 0.160940 0.002299 SEMENTE 1 70 Total corrigido 71 0.166137 CV (%) = 115.66 Média geral: 0.0414561 Número de observações: \_\_\_\_\_\_ Teste Tukey para a FV SEMENTE DMS: 0,0225407107675049 NMS: 0,05 -----Média harmonica do número de repetições (r): 36 Erro padrão: 0,0079915728314328 Tratamentos Médias Resultados do teste NAO VIAVEL 0.032960 al VIAVEL 0.049952 al

_		_			
Tese\EOUIPAMENTOS	COM	CAVD\Viaval	Lavre i VMv	עעאַעד	AVD1 dbf

Variável analisada Opção de transform		sem transformaç	ão ( Y )	
	TABELA DE AN	NÁLISE DE VARIÂNC	CIA	
FV	GL	SQ	QM	Fc Pr>Fc
SEMENTE erro		322.931886 565.385183		39.982 0.0000
Total corrigido	71	888.317069		
CV (%) = Média geral:		Número de ok	servações:	72
Teste Tukey para				
DMS: 1,336002545365	14 NMS: 0,05			
Média harmonica do Erro padrão: 0,4736		etições (r): 36		
Tratamentos		Médias	Resultados	do teste
NAO_VIAVEL VIAVEL		9.902950 a 14.138592		

# ${\tt Tese} \verb| EQUIPAMENTOS_COM_GAVD \verb| Viavel_xNViavel_TRAD_AVD2.dbf| \\$

Variável analisada Opção de transform		ável sem transforma	ção ( Y )	
	TABELA DI	E ANÁLISE DE VARIÂN	CIA	
FV	GL	SQ	QM	Fc Pr>Fc
SEMENTE erro		597990.140172 1177359.546268		35.554 0.0000
Total corrigido	71	1775349.686440		
CV (%) = Média geral:				72
Teste Tukey para	a FV SEME			
DMS: 60,96627054137	62 NMS: 0,			
Média harmonica do Erro padrão: 21,614		repetições (r): 36		
Tratamentos		Médias	Resultados d	lo teste
NAO_VIAVEL VIAVEL		161.202444 343.470583	<u>-</u>	

Tese\EQUIPAMENTOS	COM	GAVD\	Viavel	xNViavel	TRAD	AVD3.dbf
		_	-			_

	<del>-</del>	<del>-</del>	-	
Variável analisada Opção de transforma		ável sem transforma	ıção ( Y )	
	TABELA DI	E ANÁLISE DE VARIÂN	ICIA	
FV	GL	SQ	QM	Fc Pr>Fc
SEMENTE erro		86590.341892 169921.948149		35.671 0.0000
Total corrigido	71	256512.290041		
CV (%) = Média geral:		39 Número de d		
Teste Tukey para	a FV SEMEN	 NTE		
DMS: 23,16113369585	69 NMS: 0,	•		
Média harmonica do Erro padrão: 8,2115				
Tratamentos		Médias	Resultados d	lo teste
NAO_VIAVEL VIAVEL		60.819861 130.178167		

# ${\tt Tese} \\ {\tt EQUIPAMENTOS\_COM\_GAVD} \\ {\tt Viavel\_xNViavel\_TRAD\_AVD4.dbf}$

Variável analisa Opção de transfo		vel sem transformaç	ão ( Y )	
	TABELA DE	ANÁLISE DE VARIÂNC	IA	
FV	GL	SQ	QM	Fc Pr>Fc
SEMENTE erro		2743671.190312 32 4314582.359275		51.722 0.0000
Total corrigido	71 7	7058253.549587		
CV (%) = Média geral:		3 Número de ob		72
Teste Tukey pa:	ra a FV SEMEN'	 TE		
DMS: 374,03169430	0984 NMS: 0,	 05		
Média harmonica de Erro padrão: 132,		epetições (r): 36		
Tratamentos		Médias	Resultados	do teste
NAO_VIAVEL VIAVEL		1369.245833 a 2717.983333	=	

# ${\tt Tese} \\ \verb|EQUIPAMENTOS_COM_GAVD| \\ Viavel\_xNViavel\_TRAD_NUMAD.dbf| \\$

	<del>_</del>	<del>-</del>			
Variável analisada: Opção de transforma		sem transformação	o ( Y )		
	TABELA DE ANÁ	ÁLISE DE VARIÂNCI <i>i</i>	A		
FV	GL	sQ	QM	Fc Pr	>Fc
SEMENTE erro		0.004642 0.019246		16.885 0.00	001
Total corrigido	71	0.023889			
CV (%) = Média geral:	18.98 0.0873622	Número de obse	ervações:	72	
Teste Tukey para	a FV SEMENTE				
DMS: 0,0077948969946	51123 NMS: 0,0	 )5			
Média harmonica do n Erro padrão: 0,00276	-	zições (r): 36			
Tratamentos		Médias	Resultados	do teste	
NAO_VIAVEL VIAVEL		0.079332 a1 0.095392	a2		

# ${\tt Tese} \verb| EQUIPAMENTOS_COM_GAVD \verb| Viavel_xNViavel_DED_AVD1.dbf| \\$

Variável analisada Opção de transform		L sem transformaçã	o (Y)	
	TABELA DE AN	NÁLISE DE VARIÂNCI	A	
FV	GL	SQ	QM	Fc Pr>Fc
SEMENTE erro		144.736964 359.226788		28.204 0.0000
Total corrigido	71			
CV (%) = Média geral:	25.92 8.7408944			72
Teste Tukey para	a a FV SEMENTE			
DMS: 1,064926003519	934 NMS: 0,05			
Média harmonica do Erro padrão: 0,377	=	etições (r): 36		
Tratamentos		Médias	Resultados d	o teste
NAO_VIAVEL VIAVEL		7.323067 a1 10.158722		

#### Tese\EQUIPAMENTOS\_COM\_GAVD\Viavel\_xNViavel\_DED\_AVD2.dbf

Variável analisada: AVD2 Opção de transformação: Variável sem transformação ( Y ) \_\_\_\_\_\_ TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA FV GT. SO OM \_\_\_\_\_ 1 157567.577081 157567.577081 35.362 0.0000 70 311908.798759 4455.839982 SEMENTE 70 erro Total corrigido 71 469476.375840 CV (%) = 47.89 139.3822500 Média geral: Número de observações: 72 \_\_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_\_ Teste Tukey para a FV SEMENTE DMS: 31,3797072247671 NMS: 0,05 Média harmonica do número de repetições (r): 36 Erro padrão: 11,1253464144211 Tratamentos Médias Resultados do teste NAO VIAVEL 92.601500 a1 VIAVEL 186.163000 a2

#### Tese\EQUIPAMENTOS\_COM\_GAVD\Viavel\_xNViavel\_DED\_AVD3.dbf

Variável analisada: AVD3 Opção de transformação: Variável sem transformação ( Y ) TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA GL SO FV OM Fc Pr>Fc \_\_\_\_\_\_ 27652.750574 27652.750574 41.979 0.0000 46111.187885 658.731256 SEMENTE 1 70 Total corrigido 71 73763.938459 CV (%) = 45.85 Média geral: 55.9800181 Número de observações: \_\_\_\_\_\_ Teste Tukey para a FV SEMENTE DMS: 12,0653029006989 NMS: 0,05 Média harmonica do número de repetições (r): 36 Erro padrão: 4,2776267287558 Tratamentos Médias Resultados do teste NAO VIAVEL 36.382417 a1 75.577619 a2

# ${\tt Tese} \\ \verb|EQUIPAMENTOS_COM_GAVD| \\ Viavel\_xNViavel\_DED\_AVD4.dbf$

Variável analisada Opção de transform		vel sem transfor	mação (Y)	
	TABELA DE	ANÁLISE DE VARI	ÂNCIA	
FV	GL	SQ	QM	Fc Pr>Fc
SEMENTE erro			11343354.404939 175523.977058	64.626 0.0000
Total corrigido	71 23	3630032.799000		
CV (%) = Média geral:	1477.436666		*	72
Teste Tukey para	a FV SEMENT			
DMS: 196,9483376828	34 NMS: 0,0	)5		
Média harmonica do Erro padrão: 69,825				
Tratamentos		Médias	Resultados	do teste
NAO_VIAVEL VIAVEL		1080.51527 1874.35805		

# ${\tt Tese} \verb| EQUIPAMENTOS_COM_GAVD \verb| Viavel_xNViavel_DED_NUMAD.dbf| \\$

Variável analisa Opção de transfo	ada: NUMAD ormação: Variável	sem transformaçã	o (Y)		
	TABELA DE ANÁ	LISE DE VARIÂNCI	 А		
FV	GL	SQ	QM	Fc Pr>F	rc.
SEMENTE erro	1 70	0.007349 0.012299		41.827 0.000	00
Total corrigido		0.019648			
CV (%) =	23.38 0.0566995	Número de obs	ervações:	72	
Teste Tukey pa	ara a FV SEMENTE				
DMS: 0,0062311346	5152498 NMS: 0,05	;			
Média harmonica o Erro padrão: 0,00	lo número de repet 0220918349087813	ições (r): 36			
Tratamentos		Médias	Resultados d	o teste	
NAO_VIAVEL VIAVEL		0.046597 a1 0.066802			