v7.n8.2026

REVISTA CIENTÍFICA - RECIMA21 ISSN 2675-6218

USO DA TÉCNICA DE BIOSPECKLE LASER PARA DETECÇÃO DE FUNGOS EM SEMENTES DE SOJA *(GLYCINE MAX L.)*

USE OF THE BIOSPECKLE LASER TECHNIQUE FOR THE DETECTION OF FUNGI IN SOYBEAN SEEDS (GLYCINE MAX L.)

USO DE LA TÉCNICA DE BIOSPECKLE LÁSER PARA LA DETECCIÓN DE HONGOS EN SEMILLAS DE SOJA (GLYCINE MAX L.)

Kaio Socorro Dias Nepomuceno[1], Marcia Maria Rosa Magri[2], Silvestre Rodrigues[3], Adilson Machado Enes[4], Jonathan Gazzola[5]

e788704
https://doi.org/10.47820/recima21.v7i8.8704

PUBLICADO: 08/2026

RESUMO

A qualidade sanitária das sementes de soja exerce influência direta sobre o estabelecimento da cultura e a produtividade agrícola. Nesse contexto, métodos rápidos e não destrutivos para a detecção de patógenos tornam-se ferramentas importantes para o controle de qualidade. O presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial da técnica de BioSpeckle Laser na detecção de alterações biológicas provocadas pelos fungos *Cercospora kikuchii* e *Aspergillus niger* em sementes de soja. Foram conduzidos ensaios experimentais utilizando a técnica óptica de BioSpeckle Laser para quantificar a atividade biológica das amostras. As sementes foram separadas em grupos sadios e contaminados, sendo posteriormente submetidas a análises estatísticas descritivas e análise de variância (ANOVA). Os resultados demonstraram diferenças estatisticamente significativas entre sementes sadias e contaminadas. Para *C. kikuchii*, sementes sadias apresentaram média de MI de 39,10, enquanto sementes contaminadas apresentaram média de 23,14. Nos ensaios com *A. niger*, observou-se comportamento distinto conforme o nível de contaminação, indicando sensibilidade da técnica para detectar diferentes estágios de desenvolvimento fúngico. A comparação entre os dados quantitativos de acordo com o grau de contaminação mostrou que a técnica foi hábil de detectar sementes sem poder germinativo. Concluiu-se que o BioSpeckle Laser apresentou elevado potencial como método não invasivo, rápido e eficiente para a detecção precoce de doenças fúngicas em sementes de soja, contribuindo para programas de controle de qualidade e sanidade de sementes.

PALAVRAS-CHAVE: BioSpeckle Laser. Poder germinativo. *Cercospora kikuchii*. *Aspergillus niger*. Fitopatologia.

ABSTRACT

The sanitary quality of soybean seeds directly influences crop establishment and agricultural productivity. In this context, rapid and non-destructive methods for pathogen detection become important tools for quality control. This study aimed to evaluate the potential of the BioSpeckle Laser technique in detecting biological changes caused by the fungi Cercospora kikuchii and Aspergillus niger in soybean seeds. Experimental trials were conducted using the BioSpeckle Laser optical technique to quantify the biological activity of the samples. Seeds were divided into healthy and contaminated groups, and subsequently subjected to descriptive statistical analyses and analysis of variance (ANOVA).

[1] Graduando em Engenharia Agronômica pela UFSCar. Bolsista de IC CNPq.
[2] Doutora em Ciências Biológicas pela UNESP. Docente na UFSCar.
[3] Doutor em Engenharia Agrícola pela UNICAMP. Docente na UFSJ.
[4] Doutor em Engenharia Agrícola pela UNICAMP. Docente na UFS.
[5] Doutor em Engenharia Agrícola pela UNICAMP. Docente na UFSCar.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

The results demonstrated statistically significant differences between healthy and contaminated seeds. For C. kikuchii, healthy seeds showed an average IM (Inertia Moment) of 39.10, while contaminated seeds showed an average of 23.14. In trials with A. niger, a distinct behavior was observed depending on the level of contamination, indicating the technique's sensitivity in detecting different stages of fungal development. The comparison between quantitative data according to the degree of contamination showed that the technique was capable of detecting seeds without germinative capacity. It was concluded that the BioSpeckle Laser presented high potential as a non-invasive, rapid, and efficient method for the early detection of fungal diseases in soybean seeds, contributing to seed quality control and health programs.

KEYWORDS: *BioSpeckle Laser. Germination Potential. Cercospora kikuchii. Aspergillus niger. Phytopathology.*

RESUMEN
La calidad sanitaria de las semillas de soja ejerce una influencia directa en el establecimiento del cultivo y en la productividad agrícola. En este contexto, los métodos rápidos y no destructivos para la detección de patógenos se convierten en herramientas importantes para el control de calidad. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el potencial de la técnica de BioSpeckle Laser en la detección de alteraciones biológicas provocadas por los hongos Cercospora kikuchii y Aspergillus niger en semillas de soja. Se llevaron a cabo ensayos experimentales utilizando la técnica óptica de BioSpeckle Laser para cuantificar la actividad biológica de las muestras. Las semillas se dividieron en grupos sanos y contaminados, y posteriormente fueron sometidas a análisis estadísticos descriptivos y análisis de varianza (ANOVA). Los resultados demostraron diferencias estadísticamente significativas entre semillas sanas y contaminadas. Para C. kikuchii, las semillas sanas presentaron un promedio de MI de 39,10, mientras que las semillas contaminadas presentaron un promedio de 23,14. En los ensayos con A. niger, se observó un comportamiento distinto según el nivel de contaminación, lo que indica la sensibilidad de la técnica para detectar diferentes etapas del desarrollo fúngico. La comparación entre los datos cuantitativos según el grado de contaminación mostró que la técnica fue capaz de detectar semillas sin poder germinativo. Se concluyó que el BioSpeckle Laser presentó un alto potencial como un método no invasivo, rápido y eficiente para la detección temprana de enfermedades fúngicas en semillas de soja, contribuyendo a los programas de control de calidad y sanidad de semillas.

PALABRAS-CLAVE: *BioSpeckle Laser. Poder germinativo. Cercospora kikuchii. Aspergillus niger. Fitopatología.*

1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L. Merrill) destaca-se como uma das principais culturas agrícolas do mundo, desempenhando papel estratégico na produção de alimentos, rações animais, biocombustíveis e diversos produtos industriais. O Brasil ocupa posição de destaque entre os maiores produtores e exportadores dessa oleaginosa, sendo a qualidade das sementes um fator determinante para o sucesso da produção agrícola. Sementes de elevada qualidade fisiológica e sanitária contribuem para o estabelecimento uniforme da lavoura, favorecendo o desenvolvimento das plantas e a obtenção de elevados índices de produtividade.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

Entre os fatores que afetam a qualidade das sementes, a presença de microrganismos fitopatogênicos merece atenção especial, uma vez que diversos fungos podem ser transmitidos pelas sementes, comprometendo sua germinação, vigor e capacidade de armazenamento. Além dos prejuízos diretos à qualidade fisiológica, esses patógenos podem atuar como fonte inicial de inóculo, favorecendo a disseminação de doenças no campo e ocasionando perdas econômicas significativas. Dessa forma, a identificação precoce de sementes contaminadas é essencial para programas de controle de qualidade, certificação e manejo fitossanitário.

Os métodos convencionais utilizados para a detecção de fungos em sementes, embora eficientes, frequentemente exigem procedimentos laboratoriais demorados, destrutivos e dependentes de infraestrutura especializada. Nesse contexto, cresce o interesse por técnicas inovadoras que permitam avaliações rápidas, precisas e não invasivas. Dentre essas tecnologias, destaca-se o BioSpeckle Laser, método óptico baseado na análise das flutuações de padrões de interferência gerados pela incidência de luz laser sobre materiais biologicamente ativos.

A técnica de BioSpeckle Laser tem demonstrado potencial para a avaliação de diferentes processos biológicos em produtos agrícolas, incluindo estudos relacionados à germinação, vigor, danos mecânicos, maturação e detecção de microrganismos. Sua capacidade de monitorar alterações metabólicas em tempo real e de forma não destrutiva torna essa ferramenta promissora para aplicações no controle sanitário de sementes.

Diante da necessidade de métodos mais rápidos e sensíveis para o diagnóstico fitossanitário, este trabalho busca investigar a aplicação da técnica de BioSpeckle Laser na detecção de fungos associados às sementes de soja, contribuindo para o avanço de tecnologias voltadas à garantia da qualidade de sementes e à redução de perdas na cadeia produtiva da cultura.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) constitui uma das culturas agrícolas de maior relevância econômica em âmbito mundial, desempenhando papel fundamental na produção de alimentos, rações animais, biocombustíveis e matérias-primas destinadas a diversos segmentos industriais. O Brasil destaca-se entre os principais produtores e exportadores dessa oleaginosa, contribuindo significativamente para o abastecimento dos mercados interno e externo. Nesse contexto, a utilização de sementes de elevada qualidade representa um dos fatores mais importantes para o estabelecimento adequado da lavoura, influenciando diretamente a germinação, o vigor das

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

plântulas, a uniformidade do estande e, consequentemente, a produtividade da cultura (CEPEA, 2022; CONAB, 2022).

A qualidade das sementes é determinada por atributos físicos, fisiológicos, genéticos e sanitários. Dentre esses fatores, a sanidade assume papel de destaque, uma vez que sementes contaminadas por microrganismos fitopatogênicos podem atuar como importantes veículos de disseminação de doenças, comprometendo o desenvolvimento das plantas desde os estádios iniciais de crescimento. Entre os principais fungos associados às sementes de soja destacam-se *Cercospora kikuchii* (T. Matsu. & Tomoyasu) Gardner, agente causal da mancha-púrpura da semente e do crestamento foliar de cercospora, e *Aspergillus niger*, fungo de armazenamento amplamente distribuído, capaz de provocar deterioração dos tecidos, redução do vigor e perda da capacidade germinativa durante o armazenamento. A ocorrência desses patógenos resulta em expressivos prejuízos econômicos, decorrentes tanto da redução da qualidade fisiológica das sementes quanto da diminuição do potencial produtivo das lavouras (HENNINGS *et al.*, 2024; ITO, 2013).

No âmbito da qualidade fitossanitária de sementes, o *Aspergillus niger* é um fungo muito comum no armazenamento de diversas culturas, inclusive da cultura da soja (MEDEIROS et al., 2019). Nesse sentido, quando esse patógeno contamina as sementes de soja, é capaz de causar um rápido deterioramento das sementes, afetando negativamente o potencial germinativo destas, bem como o seu vigor (MEDEIROS et al., 2019). Além disso, os fungos do gênero *Aspergillus* são responsáveis por causar a podridão das sementes no solo, quando cultivadas em solos de baixa disponibilidade de água (SOUSA et al., 2013). O fungo *Cercospora kikuchii* é o agente causador da mancha púrpura em sementes e do crestamento foliar na cultura da soja (DORNELES et al., 2021). Além da depreciação da mancha nas sementes, a mancha púrpura está relacionada a redução de qualidade da semente, afetando diretamente as características fisiológicas e morfológicas, o que implica na qualidade de germinação e vigor (AMARAL JÚNIOR *et al.*, 2025). Ainda, a depender da localização da mancha, há formação de plântulas anormais (DORNELES et al., 2021).

A detecção precoce de patógenos em sementes constitui etapa fundamental nos programas de controle de qualidade e certificação. Contudo, os métodos tradicionalmente empregados para avaliação sanitária, como testes de incubação, isolamento em meios de cultura e análises microbiológicas, embora apresentem elevada confiabilidade, demandam tempo, infraestrutura laboratorial especializada e mão de obra qualificada. Além disso, muitos desses procedimentos são destrutivos, inviabilizando o aproveitamento posterior das amostras analisadas. Dessa forma, cresce o interesse por técnicas alternativas capazes de fornecer

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

diagnósticos rápidos, precisos e não invasivos, permitindo a avaliação de grandes volumes de amostras em menor tempo.

Nesse cenário, a técnica de BioSpeckle Laser tem se destacado como uma ferramenta promissora para a análise de processos biológicos em materiais vivos. O método baseia-se na incidência de luz laser coerente sobre uma superfície biologicamente ativa, produzindo padrões de interferência óptica denominados *speckles*. As constantes modificações desses padrões ao longo do tempo refletem a atividade metabólica do material analisado, possibilitando a obtenção de informações relacionadas a fenômenos fisiológicos e bioquímicos de forma não destrutiva (SILVA, 2007; BRAGA *et al.*, 2016). Em virtude de sua elevada sensibilidade às alterações biológicas, o BioSpeckle Laser vem sendo aplicado em diferentes áreas da agricultura, incluindo estudos relacionados à germinação, ao vigor, à maturação, aos danos mecânicos e à detecção de microrganismos em sementes.

Segundo Enes (2011) e Rabelo *et al.* (2011), a análise dos padrões BioSpeckle permite quantificar a atividade biológica por meio de parâmetros estatísticos extraídos das imagens adquiridas, destacando-se o Momento de Inércia (MI), amplamente utilizado para caracterizar a intensidade das variações observadas nos padrões de *speckle*. Em um dos primeiros trabalhos envolvendo a aplicação da técnica em sementes, Rodrigues *et al.* (2007) demonstraram a viabilidade do uso do *speckle* dinâmico na avaliação não destrutiva de sementes de feijão, evidenciando sua capacidade de identificar diferenças fisiológicas entre amostras. Posteriormente, diversos estudos ampliaram as aplicações da técnica em produtos agrícolas, consolidando-a como uma importante ferramenta para o monitoramento de processos biológicos em tempo real. Mais recentemente, Enes *et al.* (2022) contribuíram para a evolução metodológica da área por meio do desenvolvimento de dispositivos portáteis para aquisição e processamento de imagens BioSpeckle, ampliando as possibilidades de utilização da técnica em ambientes laboratoriais e em condições de campo.

Apesar dos avanços observados, ainda são limitados os estudos voltados à aplicação do BioSpeckle Laser na detecção precoce de fungos associados às sementes de soja, especialmente no que se refere à diferenciação de sementes contaminadas por *Cercospora kikuchii* e *Aspergillus niger*. A identificação rápida desses patógenos pode representar um importante avanço para programas de controle de qualidade, armazenamento e certificação de sementes, contribuindo para a redução de perdas econômicas e para a adoção de estratégias de manejo mais eficientes.

Diante desse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a eficiência da técnica de BioSpeckle Laser na identificação de sementes de soja contaminadas pelos fungos

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

Cercospora kikuchii e *Aspergillus niger*, verificando sua capacidade de diferenciar sementes sadias e contaminadas por meio da análise do parâmetro Momento de Inércia. Busca-se, assim, contribuir para o desenvolvimento de métodos rápidos, não invasivos e de elevada sensibilidade para o diagnóstico sanitário de sementes.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em quatro etapas principais: (i) obtenção e inoculação de fungos em sementes de soja; (ii) ensaio óptico por meio da técnica de BioSpeckle Laser; (iii) processamento das imagens e obtenção dos parâmetros quantitativos; e (iv) análise estatística dos dados.

3.1. Obtenção e inoculação dos fungos

A obtenção e inoculação dos fungos foram realizadas no Laboratório de Microbiologia Agrícola Molecular (LAMAM) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), campus Araras. Nesse trabalho, foram utilizadas sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merrill) previamente selecionadas, sendo parte delas destinada ao grupo controle (sementes sadias) e outra parte ao processo de inoculação. Para analisar a sensibilidade de detecção de ação fúngica sobre a semente, esse estudo utilizou dois tipos de patógenos com base na capacidade de controle de sua ação sobre as amostras, sendo o fungo *Cercospora kikuchii* (T. Matsu. & Tomoyasu) Gardner, agente causal da mancha púrpura, e o fungo *Aspergillus niger*, utilizado nesse trabalho devido a sua facilidade de controle na intensidade de infecção dos *espécimes*. O procedimento foi conduzido com base nos postulados de Koch, compreendendo as etapas de isolamento, inoculação e reisolamento do patógeno. Foi selecionado um conjunto de 180 sementes de soja, divididos em cinco grupos diferentes de 30 amostras a serem usadas para análise, sendo: Contaminação leve (1); Contaminação média (2); Contaminação alta (3); Totalmente contaminado (4); Sadia (sem contaminação) (5). Os três primeiros grupos foram infectados pelo fungo *Aspergillus niger*, enquanto que a contaminação total foi realizada usando o fungo *Cercospora kikuchii*.

O processo de inoculação iniciou-se com o isolamento do fungo. Esse procedimento foi realizado pelo método indireto, utilizando fragmentos de sementes infectadas previamente desinfestados em álcool etílico a 70%, hipoclorito de sódio a 0,5% e água destilada esterilizada. Em seguida, os fragmentos foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e incubados em estufa tipo B.O.D. a 25 °C por um período de cinco

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

a sete dias, conforme metodologia descrita por Carollo e Filho (2016). Após o desenvolvimento das colônias fúngicas, realizou-se a transferência para novas placas visando à obtenção de culturas puras, posteriormente confirmadas por microscopia óptica. A seguir, foi realizada a inoculação do fungo na semente. Para tal, os esporos foram obtidos por raspagem superficial das colônias e suspensos em solução salina estéril a 0,85% contendo três gotas de Tween® 80. Foram estabelecidos três tratamentos, diferenciados pela concentração de esporos obtida a partir de uma, duas ou quatro raspagens da superfície fúngica, denominados respectivamente: baixa, média e alta contaminação. Na sequência, as suspensões foram homogeneizadas por aproximadamente três minutos e posteriormente transferidas para sacos plásticos esterilizados contendo as 30 sementes sadias por tratamento. As sementes permaneceram em contato com a suspensão por cinco minutos e, em seguida, foram distribuídas em placas de Petri contendo papel-filtro esterilizado. As placas foram incubadas a 26 °C para permitir o desenvolvimento inicial do fungo pelo período de cinco horas.

Ressalta-se que, nesse período, as sementes inoculadas com o fungo *Aspergillus niger* não apresentavam sintomas visuais de contaminação, permitindo avaliar a capacidade da técnica em detectar alterações biológicas antes da manifestação dos sintomas. Apenas as sementes contaminadas com o fungo *Cercospora kikuchii*, apresentou sinais visíveis de contaminação. Essa variação de contaminação objetiva-se analisar o comportamento quantitativo dos dados de análise a Laser das sementes em uma situação onde o estado de germinação da semente seja nulo (não-germinação) ou severamente prejudicado devido a sua proliferação fúngica.

3.2. Ensaio Óptico

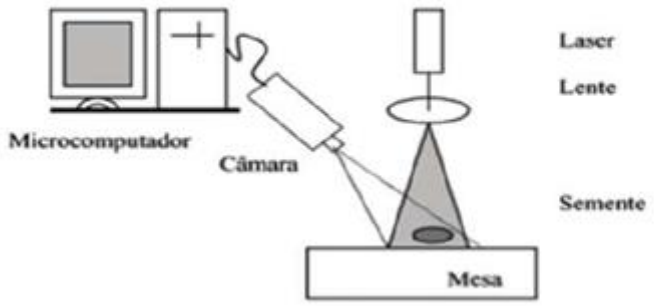
O ensaio óptico utilizando a técnica de BioSpeckle Laser foi realizado na Sala de Óptica do Laboratório de Máquinas Agrícolas, Agricultura Digital e de Precisão (LAMADiP) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), campus Araras. O ambiente da sala teve total controle de temperatura (23 °C), ausência de iluminação externa, vibrações e ruídos. Tal controle visou minimizar interferências na aquisição das imagens que prejudiquem o estudo. A montagem experimental foi baseada na metodologia proposta por Silva (2007) e Enes (2011), sendo composta por um laser vermelho de diodo com ondas 650 nm de comprimento de onda, câmera CCD para aquisição de imagens suportada por um tripé, duas lentes ópticas convergentes, base milimetrada de aço e suporte para posicionamento da amostra.

O procedimento de ensaio óptico baseou-se em posicionar as amostras, individualmente, sobre o suporte de aço e iluminadas pelo feixe laser, juntamente com o sistema de aquisição de

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

dados. O posicionamento dos equipamentos formou um triângulo espacial, onde a luz Laser e as lentes ficaram posicionadas de frente com a amostra e a câmera CCD, suportada pelo tripé, ficou alocado levemente angulado com a luz Laser (Figura 01). A interação da luz coerente com a superfície biologicamente ativa da semente produziu padrões dinâmicos de *speckle*, registrados pela câmera CCD em sequências temporais de imagens digitais. O processo experimental para aquisição de imagens realizado, para cada grupo de sementes analisado, foi feito através de uma tomada única de gravação de modo a evitar movimentações na câmera que pudessem provocar efeitos nos resultados. Cada amostra foi iluminada pela luz Laser vermelha por 35 segundos, sendo substituída pela amostra seguinte. Os dados gravados foram então transferidos para posterior processamento de imagens, que será relatado abaixo.

Figura 1. Arranjo Experimental proposto para ensaio de BioSpeckle, Fonte: Enes *et al.*, 2022



Ressalta-se que o ensaio óptico passou por duas fases distintas, sendo: 1 – Validação do arranjo experimental; 2 – Condução experimental. A primeira fase procurou analisar a sensibilidade do arranjo experimental às variações de reflexão Laser de acordo com seu posicionamento no espaço, conforme recomendado por Enes (2011). Para isso, os equipamentos foram alocados no espaço e, um grupo de 10 sementes sadias e um pedaço de papel embebido em álcool, passaram pela análise dos dados quantitativos de *speckle*, onde sua variação indicou a sensibilidade do *setup* adotado. A segunda etapa, refere-se à realização do ensaio óptico sobre as amostras de soja baseado no arranjo experimental previamente validado. Das 180 sementes analisadas, 120 amostras foram selecionadas para compor os dados quantitativos de análise, totalizando 30 amostras por grupo de soja contaminada e dois grupos

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

de análise de soja sadia (60 amostras ao total) para comparar com os dados de cada tipo de fungo analisado.

3.3. Processamento das imagens

As sequências de imagens obtidas foram processadas computacionalmente para extração dos parâmetros relacionados à atividade biológica dos materiais avaliados. A quantificação da atividade foi realizada por meio do parâmetro Momento de Inércia (MI), amplamente utilizado em estudos de BioSpeckle Laser para caracterizar a intensidade das flutuações observadas nos padrões de *speckle* (ENES, 2011; BRAGA *et al.*, 2016). O processamento foi realizado no Laboratório de Óptica da Universidade Federal de Sergipe, Campus São Cristóvão.

A terceira etapa foi caracterizada pelo processamento de imagens e seguiu as recomendações de Enes (2011). Para tal, foi utilizado o *software* GNU Octave (versão 8.2.0) e algoritmos implementados em sua arquitetura para realizar a análise de imagens para calcular o Momento de Inércia (MI) de uma sequência de imagens empilhadas. O algoritmo leu as imagens do diretório "*frames*" e as concatenou em um *stack*, contendo a sequência de imagens empilhadas, representando diferentes momentos de tempo ou quadros. Posteriormente, foram obtidos o tamanho das imagens (altura e largura) e a dimensão do *stack* (número de imagens empilhadas). O algoritmo define um tamanho padrão (512 pixels) para a altura das imagens utilizadas na análise (stsHeight). Salienta-se que, caso a largura da imagem fosse menor que 512 pixels, a altura teria de ser reajustada para ser igual à largura da imagem, garantindo que a região de interesse (ROI) seja quadrada. A ROI foi extraída do centro de cada imagem empilhada, para calcular o Slice Time Series (STS). O STS é baseado em uma sequência de linhas verticais retiradas das imagens empilhadas, representando a evolução temporal da intensidade dos pixels na região central das imagens, conforme a equação 01.

$$STS_{x,t} = \text{Intensidade do pixel na posição x no quadro t} \quad (01)$$

Com o STS definido, o algoritmo calculou a Matriz de Ocorrências (MOC) para analisar a correlação entre as intensidades dos pixels em quadros adjacentes do STS. A MOC é uma matriz 256x256, onde cada elemento representa a quantidade de ocorrências de uma intensidade de pixel em relação à intensidade do pixel no quadro seguinte (equação 02).

$$MOC_{i,j} = \text{Qtde de ocorrências de i em relação à j no quadro seguinte} \quad (02)$$

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

O MI foi calculado a partir da MOC, representando a variação média da intensidade dos pixels entre os quadros adjacentes do STS. Quanto maior o valor do MI, maior foi a variação da intensidade entre os quadros. O cálculo do MI foi realizado com base na equação 03. Dessa forma, o Momento de Inércia calculado permitiu a análise temporal das imagens e a quantificação da variação de intensidade dos pixels ao longo do tempo.

$$MI = 1Ni = 1256j = 1256MOCi,j*(i-j)2 \quad (03)$$

3.4. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística com o objetivo de verificar diferenças entre os tratamentos avaliados. Inicialmente, das 30 amostras para grupo ensaiado, 20 delas foram selecionadas para compor as amostras características. A forma como foram selecionados os pontos amostrais foi obtida por meio de uma análise de qualidade de dados, conforme determinado por Gazzola *et al.*(2025).

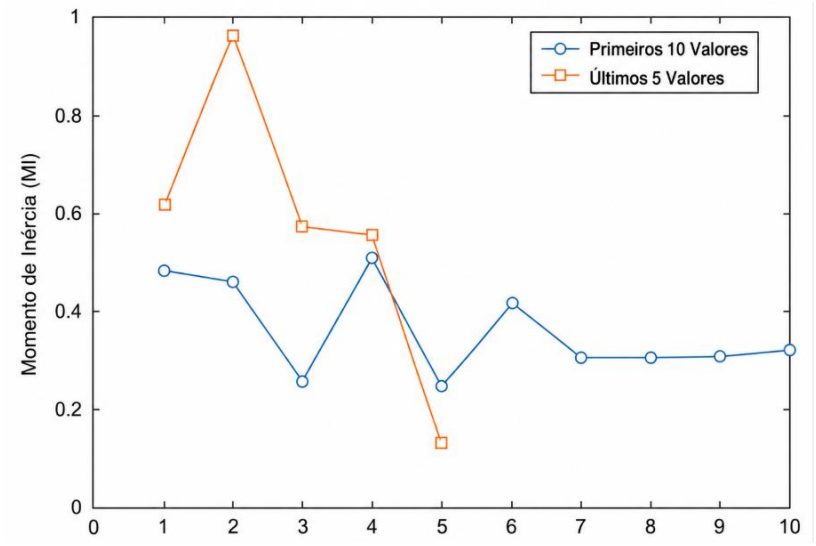
Após a seleção dos dados válidos para a pesquisa, foram realizadas análises descritivas, incluindo médias e desvio-padrão. Salienta-se que, por se tratar de diferentes tipos de fungos, optou-se neste trabalho de pesquisa por tratar os dados de forma separada. Posteriormente, aplicaram-se testes estatísticos adequados à distribuição dos dados para comparar os valores de Momento de Inércia entre sementes sadias e sementes contaminadas pelos diferentes níveis de infecção fúngica. Os resultados foram considerados significativos ao nível de 5% de probabilidade, permitindo avaliar a eficiência da técnica de BioSpeckle Laser na detecção precoce de fungos associados às sementes de soja.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O gráfico 1 ilustra os resultados da fase 1 do ensaio óptico, referente à validação do arranjo experimental.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

Gráfico 1. Dados quantitativos de MI para validação do arranjo experimental



A linha azul representa os pontos amostrais de MI para 10 sementes de sojas sadias. A linha laranja é referente à variação temporal do teor de umidade do papel embebido em álcool. Pelo comportamento da curva laranja com relação à curva de cor azul, pode-se afirmar que a validação inicial do arranjo experimental adotado para esse ensaio experimental é válida e que o mesmo apresentou sensibilidade suficiente para distinguir materiais com diferentes níveis de atividade biológica. As sementes sadias apresentaram comportamento relativamente estável ao longo das análises, enquanto os materiais-controle (papel embebido em álcool) exibiram variações coerentes com suas condições físicas, ou seja, alta variação de MI em razão da alta taxa de perda de umidade. Esses resultados confirmaram a adequação do sistema experimental para a obtenção dos valores de Momento de Inércia (MI) e para sua aplicação na avaliação da qualidade biológica de sementes. Os resultados apresentados no Gráfico 1 evidenciaram diferenças na sensibilidade do método quando aplicado a distintos materiais, indicando o potencial do sistema experimental para investigações relacionadas à detecção de doenças em sementes. Além disso, os resultados obtidos para o papel umedecido (curva laranja) mostraram-se compatíveis com o comportamento esperado, uma vez que a atividade biológica tende a diminuir gradativamente à medida que ocorre a secagem do material.

O gráfico 2 ilustra o comportamento dos dados de MI para a soja contaminada pelo fungo *Aspergillus niger* em seus diferentes graus de contaminação em relação à soja sadia. As tabelas 1 e 2 mostram os dados estatísticos e de análise de variância obtidos para esse ensaio.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

Gráfico 2. Comparativo entre o Momento de Inércia entre sementes sadias e contaminadas por *A. niger*

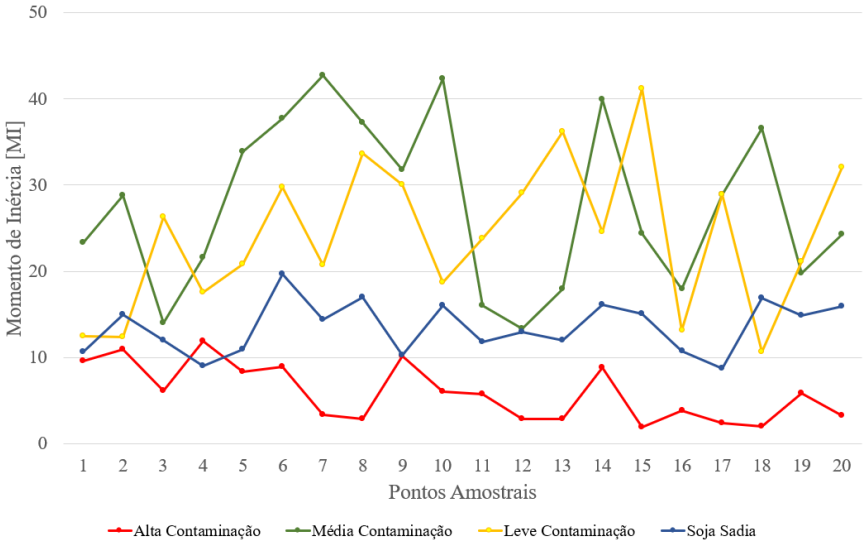


Tabela 1. Dados Estatísticos do MI para o ensaio óptico de fungos contaminados por *A. niger*

Grupo	Repetições	Soma dos Dados	Média	Desvio-Padrão
Soja Sadia	20	270.2497	13.512485	2.99814
Contaminação leve	20	483.1851	24.15926	8.549763
Contaminação média	20	552.5402	27.62728	9.671103
Contaminação alta	20	117.6224	5.88112	3.286153

Tabela 2. Análise de Variância (ANOVA) para o ensaio óptico de fungos contaminados por *A. niger*

Fonte de Variação	SQ	gl	MQ	F	Valor-P	F-crítico
Entre grupos	5578.0131	3	1859.3377	39.1516	$2.1023x10^{-16}$	2.72494392
Dentro dos grupos	3609.2944	76	47.490716			
Total	9187.3075	79				

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

Analisando o gráfico 2 nota-se pelas curvas que os pontos de soja sadia e soja contaminadas também foram distintos. Os valores médios obtidos do Momento de Inércia foram: 13.512485 para as sementes sadias, 24.15296 para sementes com leve contaminação, 27.62728 para as sementes de média contaminação e, 5.88112 para as sementes de alta contaminação. Analisando os testes de probabilidade a partir do F calculado e F crítico, é possível afirmar que os dados diferem entre tratamentos de forma estatisticamente significativa. Os resultados mostram então que, a média dos valores do Momento de Inércia das sojas com leve e média contaminação apresentam valores próximos entre amostras, o que se pode concluir que, por ter uma quantidade menor de esporos do fungo por concentração, o *BioSpeckle* pode estar captando o crescimento do fungo. Por outro lado, as amostras de soja com alta contaminação apresentou valores de MI abaixo da semente sadia. Tal efeito pode ser explicado pelo fato das sementes poderem estar sofrendo algum impacto referente a presença e atuação do fungo, já que contém praticamente o dobro de esporos em relação às amostras de média contaminação. Em um trabalho que estudou o desenvolvimento do *Aspergillus niger in vitro* através do BioSpeckle realizado por Oliveira (2018), os resultados apresentaram valores de M.I. próximos aos observados neste experimento em relação às amostras com baixa e média contaminação. Além disso, o autor também indicou um valor baixo da média do M.I. das amostras altamente contaminadas, abaixo até mesmo das sementes sadias. Dado que todas as sementes foram analisadas no mesmo dia e em mesmas condições, o que pode explicar essa redução do M.I. é o fato de que o fungo *Aspergillus niger* reduz a qualidade e a viabilidade da semente (GOULART, 2005), diminuindo até mesmo seu percentual de germinação (BELLETTINI et al., 2005). Já, os valores maiores do M.I. nas amostras levemente e medianamente contaminadas quando comparado com as sementes sadias nos permite concluir que foi possível a detecção do período de crescimento do fungo nas sementes, já que esses valores já foram observados em outros estudos (OLIVEIRA, 2018). Sobre estes resultados obtidos e confrontados com outras pesquisas, gera-se então cenários para demais interpretações, o qual exige testes complementares para comprovação de, por exemplo, teste de germinação das sementes analisadas e a relação de sua alta contaminação por fungos com a baixa atividade biológica da semente. Com isso, pretende-se analisar como o grau de contaminação de sementes impactaria negativamente em seu poder germinativo e se a técnica de BioSpeckle Laser foi hábil em detectar o seu potencial germinativo.

Com base na hipótese anterior de alta contaminação de fungo e sua relação com o momento de inércia, os dados do ensaio óptico obtido no caso de uma semente totalmente contaminada foi analisado para comprovar sua possibilidade, onde a semente apresenta um grau

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

de germinação praticamente nulo. O gráfico 3 ilustra os dados de MI obtidos no ensaio óptico realizado em laboratório. As tabelas 3 e 4 mostram os dados estatísticos e de análise de variância obtidos para esse ensaio. Salienta-se que, para obter uma conclusão mais assertiva acerca da análise de um outro fungo com grau diferenciado de contaminação, o ensaio óptico para soja sadia foi refeito com o mesmo número de amostragens pré-determinadas, evitando qualquer interferência para conclusão do trabalho.

Gráfico 3. Comparativo entre o Momento de Inércia entre sementes sadias e contaminadas por *C. kikuchii*

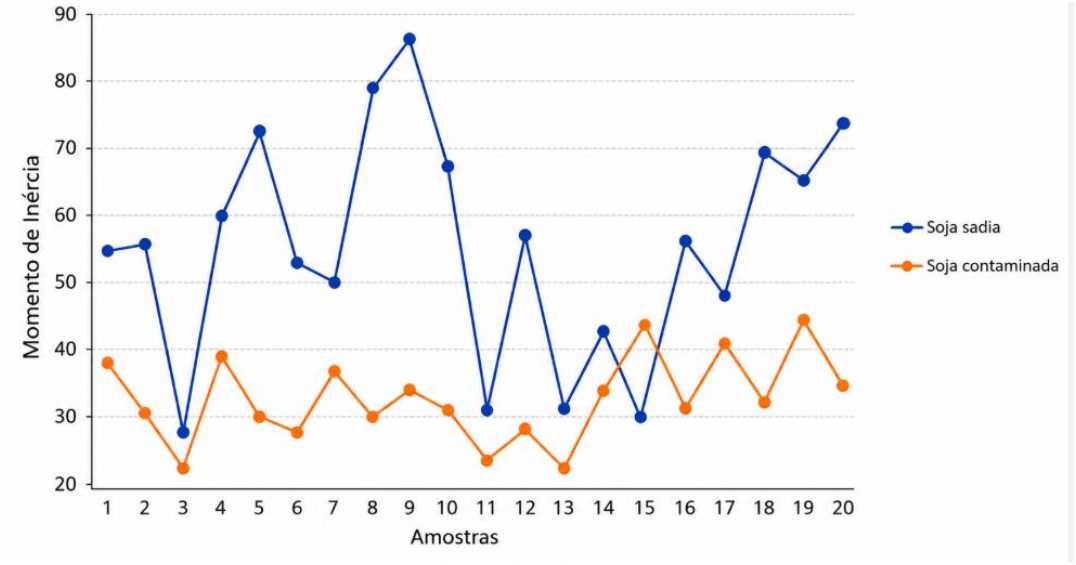


Tabela 3. Dados Estatísticos do MI para o ensaio óptico de fungos contaminados por *C. kikuchii*

Grupo	Repetições	Soma dos Dados	Média	Desvio-padrão
Soja sadia	20	781.9561	39.097805	12.74161495
Contaminação Total	20	462.7307	23.136535	6.429791624

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

Tabela 4. Análise de Variância (ANOVA) para o ensaio óptico de fungos contaminados por *C. kikuchii*

Fonte de Variação	SQ	gl	MQ	F	Valor-P	F-crítico
Entre grupos	2547.6214	1	2547.6214	25.0145	$1.32161x10^{-5}$	4.098171731
Dentro dos grupos	3870.1284	38	101.8454			
Total	6417.7498	39				

O gráfico 3 mostra que há uma nítida variação de valor de MI para as sojas contaminadas e sadias, sendo que a grande maioria dos pontos da curva azul esteve acima dos pontos da curva laranja. Os dados estatísticos mostram ainda que se chegou a uma média de M.I igual à 39.097805 e um desvio padrão (D.P) igual à 12.74161495 para sementes de soja sadia.

Para a soja com severo grau de contaminação, a média do MI obtida foi de 23.136535 com desvio-padrão de 6.429791624. Sendo assim, é possível afirmar que, nesse teste, de forma geral, as sementes sadias apresentam valores de M.I. maiores quando comparadas com os valores de M.I. de sementes contaminadas, tendo um valor médio 15.96127 maior. Ainda, a partir do valor de F calculado e F crítico, é concluído que há diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, rejeitando a hipótese nula de que os grupos têm médias iguais, ou seja, dentro do nível de significância utilizado (0,05) é observado diferença significativa estatisticamente afirmando. Dessa forma, é possível concluir que a diferença entre o M.I. que a técnica de BioSpeckle Laser foi hábil em detectar sojas com problemas de contaminação com fungo.

As sementes utilizadas já estavam em nível avançado de contaminação, sendo possível observar a mancha púrpura nas suas superfícies e, o fungo *Cercospora kikuchii* reduz de forma significativa a qualidade fisiológica das sementes de soja, sendo que quanto mais contaminada, ou seja, quanto mais visível são as manchas causadas pelo fungo, maior o comprometimento das sementes e menor o seu percentual germinativo, podendo essa semente ser afetada por danos na plúmula, danos cotiledonares e danos/comprometimento do hipocótilo (BERNARDO *et al.*, 2021). Sendo assim, a média menor das sementes contaminadas está coerente com o esperado e com metodologias, fundamentando assim a técnica de BioSpeckle para análise de *Cercospora kikuchii* em sementes de soja.

Acerca da relação entre os dados quantitativos de MI e o poder de germinação acima levantados, os dados quantitativos mostraram que para as sementes com leve e médio grau de contaminação, seus momentos de inércia foram superiores ao da soja sadia, porém, quando

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

comparado os dados quantitativos da semente com alto grau de contaminação, o MI foi menor. Uma hipótese levantada seria de que esse grau de contaminação já pudesse ter comprometido o poder de germinação da semente e detectado pela técnica analisada. Essa hipótese é confirmada quando se analisa o MI da semente com severo grau de contaminação, onde esse caso utilizou-se amostras com a certeza do comprometimento de seu poder germinativo. Analisando tal caso, notou-se que o MI foi menor em comparação com a soja sadia, apresentando o mesmo comportamento acima levantado para a *A. niger*.

Estatisticamente, a análise de variância indicou diferenças significativas entre os tratamentos ($F = 39,15$; $p < 0,001$), evidenciando que o BioSpeckle Laser foi capaz de detectar alterações decorrentes do desenvolvimento fúngico. Os maiores valores de MI observados nos tratamentos com baixa e média contaminação sugerem que o sistema registrou uma intensa atividade metabólica associada ao crescimento inicial do fungo e à interação fungo-semente. Segundo Enes (2011), o Momento de Inércia é diretamente influenciado pelas variações temporais dos padrões de *speckle*, refletindo a atividade biológica presente no material analisado. Por outro lado, sementes submetidas a alta contaminação apresentaram os menores valores de MI, possivelmente em decorrência do comprometimento severo de seus tecidos e da redução da atividade fisiológica. Esse comportamento sugere que, em estágios avançados de deterioração, a degradação dos tecidos da semente supera a atividade metabólica associada ao crescimento do fungo, resultando em menor dinâmica do padrão *speckle*.

Os resultados encontrados reforçam o potencial da técnica para aplicações na patologia de sementes e no controle de qualidade agrícola. Estudos desenvolvidos por Enes *et al.* (2022) demonstraram que sistemas portáteis de BioSpeckle Laser podem ser empregados para avaliações rápidas e não destrutivas, ampliando as possibilidades de utilização da técnica em laboratórios de análise de sementes e em condições de campo. Além disso, a capacidade de detectar alterações fisiológicas sem a necessidade de destruir as amostras representa uma vantagem significativa em relação aos métodos convencionais de diagnóstico fitopatológico.

Apesar dos resultados promissores, algumas limitações devem ser consideradas. O número de amostras analisadas e as condições controladas de inoculação podem restringir a extrapolação dos resultados para situações de campo. Dessa forma, estudos futuros devem contemplar diferentes cultivares de soja, níveis de infecção, condições ambientais e períodos de armazenamento, visando consolidar a aplicação do BioSpeckle Laser como ferramenta de diagnóstico sanitário de sementes.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conforme o que foi apresentado, pode-se concluir que a técnica de BioSpeckle Laser foi hábil em detectar presença de fungos em sementes de soja baseado nas diferenças significativas do Momento de Inércia entre sementes sadias e contaminadas pelos fungos *Cercospora kikuchii* e *Aspergillus niger*. Os resultados obtidos por meio do parâmetro Momento de Inércia evidenciaram alterações consistentes na atividade biológica das sementes em função da presença e do grau de contaminação fúngica. Além disso, a técnica foi hábil em relacionar os dados quantitativos com seu poder germinativo. Dessa forma, conclui-se também que a técnica de BioSpeckle Laser constitui uma ferramenta promissora para a detecção precoce e não destrutiva de doenças em sementes de soja, podendo contribuir para programas de controle de qualidade e para o desenvolvimento de métodos rápidos de diagnóstico fitossanitário.

6. FONTES DE FINANCIAMENTO

Este trabalho foi financiado pelo Centro de Ciências Agrárias da UFSCar (CCA) - projeto FAI RTI-CCA.

REFERÊNCIAS

AMARAL Jr., L.; SUGAI, P. D. S.; ARAUJO, E. F. L. Como a mancha-púrpura afeta as características fisiológicas e morfológicas de cultivares de soja?. REVISTA OBSERVATORIO DE LA ECONOMIA LATINOAMERICANA, Curitiba, v.23, n.8, p. 01-22. 2025.

BELLETTINI, N. M. T. *et al.* Patogenicidade de fungos associados às sementes e plântulas de amendoim cv. Tatu. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 26, n. 2, p. 167-172, 2005.

BERNARDO, A. P. G.; KROHN, N. G.; GOMES, S. M. S. Germinação e vigor de sementes de soja com níveis de mancha púrpura. Revista de Agricultura Brasileira, 2021.

BRAGA JUNIOR, R. A.; SILVA, E. R.; DAL FABBRO, I. M.; BIASI, W. V. Aplicações do Biospeckle Laser na agricultura e na avaliação de materiais biológicos. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, Campina Grande, v. 20, n. 8, p. 747-754, 2016.

BRAGA, R. A. J. *et al.* A practical guide to Biospeckle laser analysis: theory and software. Lavras: UFLA, 2016.

CAROLLO, E. M.; FILHO, H. P. S. Manual Básico de Técnicas Fitopatológicas. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura BA, 2016.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

CEPEA. Cadeia da soja e do biodiesel: PIB, empregos e comércio exterior – Primeiros Resultados e metodologia. 2023. Disponível em: https://www.cepea.esalq.usp.br/br/pib-da-cadeia-de-soja.aspx. Acesso em: 15 jul. 2024.

CONAB. Boletim de Safra de Grãos: 12° Levantamento Safra 2021/22. 2022. Disponível em: https://www.gov.br/conab/pt-br/atuacao/informacoes-agropecuarias/safras/safra-de graos/boletim-da-safra-de-graos?b_start:int=30. Acesso em: 15 jul. 2024..

DORNELES, Keilor Rosa *et al.* Qualidade fisiológica de sementes de soja com mancha púrpura. Agropecuária Científica no Semiárido, Patos, v. 17, n. 1, p. 23–28, 2021. DOI: http://dx.doi.org/10.30969/acsa.v17i1.1251.

ENES, A. M. Aplicação do Biospeckle Laser na avaliação da qualidade biológica de sementes. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

ENES, A. M. *et al.* Desenvolvimento de dispositivo portátil para análise de BioSpeckle Laser aplicado à avaliação de materiais biológicos. Engenharia: a máquina que constrói o futuro. 11ed.Piracanjuba: Conhecimento, 2022, v. 1, p. 6-12. 2022.

GAZZOLA, J. *et al.* Use of Statistical Quality Control in Experimental Procedures for Mechanical Properties Determination of Vegetative Tissues. Revista Ciência Agronômica, v. 56, e202492873, 2025

HENNING, A. A. *et al.* Manual de identificação de doenças de soja. 5.ed. Londrina: Embrapa Soja, (Embrapa Soja Documentos 256), 2014. 76 p.

ITO, M. F. Principais doenças da soja e manejo integrado. Nucleus, Edição Especial, p.83- 102, 2013. DOI: 10.3738/nucleus.v0i0.908

MEDEIROS, José George Ferreira et al . Controle de fungos e qualidade fisiológica de sementes de soja (Glycine max L.) submetidas ao calor húmido. Rev. de Ciências Agrárias, Lisboa , v. 42, n. 2, p. 191-200, June 2019 . Disponível em: http://scielo.pt/scielo.php?script=sci_arttext?script=sci_arttext&pid=S0871018X2019000200019 &lng=en&nrm=iso.https://doi.org/10.19084/RCA.17182.

OLIVEIRA, J. F. F. Monitoramento investigativo *in vitro* dos fungos *Aspergillus niger* e *Penicillium* em suas primeiras horas de incubação aplicando a técnica de Biospeckle a laser. 2018. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2018.

RABELO, G. F.; ENES, A. M; BRAGA JUNIOR, R. A. Frequency response of biospeckle laser images of bean seeds contaminated by fungi. *Biosystems Engineering*, v. 110, n. 3, p. 297–301, 2011.

RODRIGUES, S.; BRAGA JUNIOR, R. A.; RABELO, G. F.; DAL FABBRO, I. M.; ENES, A. M. Aplicação do speckle dinâmico na análise de sementes de feijão. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, Campina Grande, v. 9, n. 2, p. 119–124, 2007.

SILVA, E. R. Biospeckle laser: desenvolvimento e aplicações na avaliação de materiais biológicos. 2007. Tese (Doutorado em Física Aplicada) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2007.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

SOUSA, Thatyane Pereira de *et al.* INCIDÊNCIA DE FUNGOS ASSOCIADOS A SEMENTES DE SOJA TRANSGÊNICA VARIEDADE BRS VALIOSA RR. Revista Agroecossistemas, [S.l.], v. 3, n. 1, p. 52-56, nov. 2013. ISSN 2318-0188. Disponível em: <https://www.periodicos.ufpa.br/index.php/agroecossistemas/article/view/1370>.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.