

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE FÍSICA

MEDIDA DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE SEMENTES DE
SOJA UTILIZANDO IMAGENS DE LASER SPECKLE

MARCOS CAMILO DE OLIVEIRA E SILVA

Uberlândia - Minas Gerais, 2026

MARCOS CAMILO DE OLIVEIRA E SILVA

**MEDIDA DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE SEMENTES DE SOJA
UTILIZANDO IMAGENS DE LASER SPECKLE**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado ao **Bacharelado em Física
de Materiais** da **Universidade Federal
de Uberlândia**, como requisito parcial para
obtenção do título de **Bacharel em Física de
Materiais**.

Orientador: Prof.º Dr. Gustavo Foresto
Brito de Almeida.

Universidade Federal de Uberlândia – UFU

Instituto de Física – INFIS

Uberlândia - Minas Gerais, 2026

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, em especial minha mãe Sandra, por tornarem possível a minha graduação. Sempre foram minha base e serei eternamente grato pelo grande amor e ensinamentos que me levaram a ser quem sou hoje. Espero poder retribuir tudo um dia.

Ao meu professor, orientador e grande amigo Gustavo Almeida, uma imensa gratidão por tornar tudo isso possível. Foram anos de muito aprendizado, obstáculos vencidos e lições que vou levar sempre comigo na minha vida e carreira. Agradeço também ao professor Hugo César e sua aluna Ana Laura, por fornecerem as sementes de soja utilizadas nos experimentos e por todo o suporte técnico e científico durante a realização deste trabalho. Ao técnico Guilherme Fernandes, obrigado por toda a ajuda na construção experimental.

Expresso também minha gratidão aos colegas Marcella, Mariana e Erasmo pelas valiosas colaborações em nosso grupo de pesquisa, que foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos que fizeram parte dessa jornada, um muito obrigado. A amizade de todos vocês me possibilitou manter o astral alto e deixar a dificuldade e o desânimo longe de me alcançar. Levo todos comigo sempre no coração e sou muito grato pelos momentos incríveis que passamos juntos.

À Ana Júlia, minha companheira, que se tornou a minha maior luz e inspiração na reta final da minha formação. É um privilégio viver ao seu lado e, em virtude disso, me tornar um homem melhor a cada dia.

“Sobre oportunidades? Enquanto não tenho uma nova chance no futebol, vou pintando o que posso. Não são só quadros, até paredes da minha casa eu pinto, as da sala são de minha autoria.”

Sócrates, ex-jogador do S.C. Corinthians

RESUMO

Este trabalho apresenta a aplicação do *Laser Speckle* na análise das fases biológicas iniciais da semente de soja, desde a sua embebição em substrato úmido até a ativação do processo de germinação. Essa técnica demonstra elevada eficácia devido à sua alta sensibilidade óptica e ao seu caráter não destrutivo. A metodologia computacional aplicada envolve a captura do *Biospeckle*, o cálculo do Histórico Temporal do Padrão de *Speckle* (THSP), a construção da Matriz de Co-Ocorrência (MCO) e a extração do Momento de Inércia Normalizado (NMI). Este último quantifica a dinamicidade das imagens, refletindo o nível de atividade biológica da amostra no momento da aferição. A utilização do NMI é crucial, pois a normalização em função da intensidade média da imagem garante a reprodutibilidade do experimento. Sem esse ajuste matemático, variáveis físicas da montagem experimental, como o comprimento de onda do laser e a distância da câmera, poderiam gerar medições sem acurácia. Dessa forma, esta pesquisa consolida a técnica de metrologia óptica ao padronizar as medições por meio da normalização e compara os resultados dos estágios metabólicos da cultura com métodos tradicionais já estabelecidos na biologia de sementes. Os resultados experimentais revelaram que a atividade biológica, quantificada pelo NMI, atingiu um valor de pico de aproximadamente 0,15 da soja Olimpo IPRO e 0,065 do tipo NEO 790 IPRO, quantitativamente fundamental para a validação da técnica do *Laser Speckle*, mas a análise qualitativa dos resultados é também valiosa nesse estudo. Ao analisar o comportamento temporal da curva obtida, foi possível estabelecer uma correlação com o padrão trifásico de hidratação da semente, validando a técnica de *Biospeckle* como uma ferramenta sensível e viável para o monitoramento contínuo e não invasivo do desenvolvimento agrícola.

Palavras-chave: *speckle*, soja, momento de inércia, estágios de germinação, metrologia óptica.

ABSTRACT

This study presents the application of *Laser Speckle* in analyzing the initial biological phases of soybean seeds, from their imbibition in a moist substrate to the activation of the germination process. This technique demonstrates high efficacy due to its high optical sensitivity and non-destructive nature. The applied computational methodology involves capturing the *Biospeckle*, calculating the Time History of Speckle Pattern (THSP), constructing the Co-Occurrence Matrix (COM), and extracting the Normalized Moment of Inertia (NMI). The latter quantifies the dynamics of the images, reflecting the sample's level of biological activity at the time of measurement. The use of the NMI is crucial, as the normalization by the average image intensity ensures the reproducibility of the experiment. Without this mathematical adjustment, physical variables of the experimental setup, such as the laser wavelength and camera distance, could yield inaccurate measurements. Thus, this research consolidates the optical metrology technique by standardizing measurements through normalization and compares the results of the crop's metabolic stages with traditional methods already established in seed biology. The experimental results revealed that the biological activity, quantified by the NMI, reached a peak value of approximately 0.15 for the Olimpo IPRO soybean and 0.065 for the NEO 790 IPRO variety. While these quantitative findings are fundamental for validating the *Laser Speckle* technique, the qualitative analysis of the results is equally valuable in this study. By analyzing the temporal behavior of the obtained curve, it was possible to establish a correlation with the triphasic pattern of seed hydration, validating the *Biospeckle* technique as a sensitive and viable tool for the continuous and non-invasive monitoring of agricultural development.

Keywords: *speckle*, soybean, moment of inertia, germination stages, optical metrology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Ilustração de uma superfície irregular e do processo de formação do <i>speckle</i>	13
Figura 2.2 – Geometria de propagação no espaço livre na formação de <i>speckle</i>	14
Figura 2.3 – Caminhadas aleatórias mostrando (a) adição predominantemente construtiva e (b) adição predominantemente destrutiva.	17
Figura 2.4 – Distribuição de probabilidade da intensidade normalizada.	20
Figura 2.5 – Imagem característica do <i>speckle</i>	21
Figura 2.6 – THSP correspondente de uma amostra estática, nesse caso, o papel.	22
Figura 2.7 – THSP correspondente da folha de uma árvore com atividade dinâmica.	23
Figura 2.8 – Ilustração da construção da MCO de uma sequência de imagens de <i>speckle</i> nos casos (a) estático e (b) dinâmico.	23
Figura 2.9 – Comparação no caso estático entre a MCO padrão (a) e a MCO binarizada (b).	24
Figura 2.10 – Comparação no caso dinâmico entre a MCO padrão (a) e a MCO binarizada (b).	24
Figura 2.11 – Comportamento do MI em função do centro de massa da MCO normalizada (MCO_{cm}). A dinamicidade do padrão de <i>speckle</i> (σ) é definida pela magnitude da variação aleatória da fase, em radianos, a cada instante de tempo. Já a varredura do MCO_{cm} foi obtida multiplicando o THSP por escalares crescentes, simulando o aumento das intensidades e, conseqüentemente, dos valores de i e j na matriz, assim como em uma câmera de 8 <i>bits</i> . Além disso, o Coeficiente de Determinação (R^2) comprova estatisticamente o ajuste quadrático do modelo.	26
Figura 2.12 – Determinação experimental da relação linear entre MCO_{cm} e $I_{méd}$ por meio do ajuste de curvas no regime de um <i>speckle</i> estático de um papel.	28
Figura 2.13 – Determinação experimental da relação linear entre MCO_{cm} e $I_{méd}$ por meio do ajuste de curvas no regime dinâmico, na qual o <i>speckle</i> correspondente foi produzido por uma folha de árvore qualquer.	28

Figura 2.14–Comportamento do NMI em função da taxa de aquisição (FPS) de imagens simuladas de <i>Laser Speckle</i> para diferentes σ . Computacionalmente, o FPS não atua como tempo contínuo, mas modula a mudança dinâmica entre quadros através do parâmetro σ_{frame} , proporcionalmente definido pela razão entre o ruído de fase da amostra (σ) e o respectivo valor de FPS do eixo horizontal. Essa perturbação da fase gera transições suaves em altas taxas de aquisição e bruscas em baixas, reproduzindo a dinamicidade temporal do <i>speckle</i> . O ajuste gaussiano é empregado para evitar a divergência do NMI em valores baixíssimos de FPS. A saturação ocorre quando quadros sucessivos tornam-se totalmente descorrelacionados, ou seja, sem memória temporal, e os dados se distribuem quase uniformemente por toda a MCO. Nesse estado, o NMI atinge um limite máximo constante e, conseqüentemente, a informação da amostra é perdida.	29
Figura 2.15–Morfologia de uma semente de soja.	30
Figura 2.16–Germinação da semente de soja ilustrada por meio da protrusão da radícula.	32
Figura 2.17–Padrão Trifásico de Germinação caracterizado pela variação do teor de água absorvida em função do tempo.	33
Figura 3.1 – Esquema da montagem experimental da técnica biospeckle de uma semente germinando.	36
Figura 3.2 – Montagem Experimental constituída por: (a) <i>laser</i> DPSSL, (b) lâmina de meia-onda, (c) polarizador, (d) Arduino e motor de passo para o bloqueio do feixe, (e) Arduino e motor de passo para o estágio de rotação, (f) <i>Gerbox</i> , (g) webcam Logitech C270 HD e (h) câmera Basler® acA1300-200um. As linhas em verde representam os feixes de luz do <i>laser</i>	37
Figura 4.1 – Processo Trifásico de Germinação da soja Olimpo IPRO caracterizado por meio do <i>Biospeckle</i>	39
Figura 4.2 – Processo Trifásico de Germinação da soja NEO 790 IPRO caracterizado por meio do <i>Biospeckle</i>	40
Figura 4.3 – Mosaico da germinação da soja NEO 790 IPRO. A cor azul representa a Fase I, a verde a Fase II e a amarela a Fase III.	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

THSP	<i>Time History Speckle Pattern</i> (Histórico Temporal do Padrão de <i>Speckle</i>)
MCO	Matriz de Co-Ocorrência
MI	Momento de Inércia
NMI	Momento de Inércia Normalizado
FPS	<i>Frames Per Second</i>
PMG	Peso de Mil Grãos
DPSSL	<i>Diode-Pumped Solid-State Laser</i> (Laser de Estado Sólido Bombeado por Diodo)
CMOS	<i>Complementary Metal-Oxide-Semiconductor</i> (Semicondutor Complementar de Óxido de Metal)

LISTA DE SÍMBOLOS

λ	Comprimento de onda
k	Número de onda
ν	Frequência óptica da onda
$A(x, y, z)$	Amplitude complexa do campo elétrico
$A^{(r)}, A^{(i)}$	Componentes real e imaginária da amplitude complexa
α	Amplitude da onda secundária na superfície de espalhamento
θ	Fase resultante do campo óptico
I	Intensidade luminosa
N	Número total de centros espalhadores (fasores)
ϕ_k	Fase da k -ésima fonte secundária
σ^2	Variância da distribuição de intensidade do padrão de <i>speckle</i>
ρ	Densidade de probabilidade
$n!$	Fatorial de n (ordem do momento estatístico)
Γ	Função Gamma
$\langle I \rangle$	Intensidade média teórica (valor esperado)
C	Contraste do padrão de <i>speckle</i>
i	Intensidade no momento temporal t
j	Intensidade no momento temporal $t + 1$
N_{ij}	Contagem absoluta de transição de intensidade de i para j
M_{ij}	Probabilidade de transição de intensidade (MCO normalizada)
MCO_{cm}	Centro de massa da Matriz de Co-Ocorrência
$I_{méd}$	Intensidade média experimental da imagem de <i>Laser Speckle</i>
$p_{x,y}$	Probabilidades marginais da intensidade luminosa nos instantes t e $t + 1$, respectivamente
$\mu_{x,y}$	Valores esperados das distribuições marginais p_x e p_y , respectivamente

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
2.1	<i>LASER SPECKLE</i>	13
2.1.1	Padrão de <i>Speckle</i> Temporal	22
2.1.2	Matriz de Co-Ocorrência	23
2.1.3	Momento de Inércia Normalizado	25
2.2	GERMINAÇÃO DA SOJA	30
2.2.1	Fase I	31
2.2.2	Fase II	31
2.2.3	Fase III	32
2.2.4	Testes de vigor	33
3	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	36
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5	CONCLUSÃO E PERSPECTIVA	43
	REFERÊNCIAS	44
	APÊNDICE A – CÁLCULO DA INTENSIDADE $I(x, y, z)$	47
	APÊNDICE B – CÁLCULO DA DISTRIBUIÇÃO UNIFORME DE θ	49
	APÊNDICE C – CÁLCULO DE $\langle I \rangle$	51
	APÊNDICE D – SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DO <i>SPECKLE</i>	53

1 INTRODUÇÃO

Com o surgimento dos primeiros lasers de onda contínua no início da década de 1960, cientistas identificaram um efeito óptico peculiar associado ao espalhamento da luz coerente. Ao incidir o feixe luminoso sobre superfícies rugosas, como uma folha de papel, a radiação refletida exibia um padrão texturizado e pontilhado de alto contraste para o observador. Esse fenômeno de granulosidade visual foi cientificamente denominado *speckle* (GOODMAN, 2020).

O fenômeno do *Laser Speckle* é gerado quando um feixe de luz coerente incide em um meio difrativo. Ao interagir com esse meio, cada ponto iluminado passa a atuar como um emissor secundário de ondas com fases aleatórias. Quando esse sinal espalhado é captado por um anteparo, a sobreposição dessas ondas resulta em pontos de interferência construtiva, destrutiva, e situações intermediárias, formando o característico padrão granular de grãos majoritariamente claros e escuros, visto na Figura 2.5. Devido à sua extrema sensibilidade, em razão da ordem de grandeza do comprimento de onda do laser ser em nanômetros, esse padrão óptico codifica informações precisas sobre a dinâmica do objeto espalhador, permitindo o monitoramento não destrutivo de propriedades como tensões, vibrações e microdeformações (SILVA, 2011; SILVA; MURAMATSU, 2007).

Sistemas biológicos vivos, como as plantas, atuam como um espalhador dinâmico, produzindo um padrão de interferência conhecido como *Biospeckle*. Para detectar e quantificar essa atividade biológica intrínseca, o primeiro passo metodológico consiste na captura sequencial de imagens para a construção do Padrão de Speckle Temporal (THSP, do inglês *Time History Speckle Pattern*). Essa ferramenta computacional é responsável por registrar a evolução temporal da dinâmica granular ao registrar as variações de intensidade de uma mesma região ao longo dos quadros capturados sucessivamente. A partir do THSP, constrói-se a Matriz de Coocorrência (MCO), que mapeia a probabilidade de transição entre os níveis de cinza da imagem. Em um cenário de *speckle* perfeitamente estático, a intensidade temporal não sofre flutuações, enquanto no caso dinâmico são observadas variações luminosas com o tempo. Para quantificar essa dispersão, aplica-se o cálculo estatístico do Momento de Inércia (MI). Em uma analogia direta com a mecânica clássica, o MI funciona como um indicador de movimento: ele mede o quão espalhados os dados contidos na MCO ficam em relação a uma linha central de referência (a diagonal da matriz). Ao fim do processo, esse resultado é ajustado (normalizado) com base no brilho médio das imagens originais, permitindo uma comparação justa e padronizada entre diferentes testes (SILVA, 2007).

A soja é a principal oleaginosa cultivada no mundo, sendo o Brasil o maior produtor e exportador global, representando 8% do total das vendas externas. Vale ressaltar que ainda há o potencial de expansão da cultura em áreas aptas e disponíveis, sem a necessidade de substituição de outras culturas e sem necessidade de realizar novos desmatamentos. Além da importância econômica, a soja é um alimento rico em proteínas (40%) e óleo, desempenhando um papel crucial na alimentação humana e animal. Contudo, o consumo de óleo também deverá crescer, principalmente como matéria prima para o biodiesel, a nova alavanca de consumo da soja ([HIRAKURI et al., 2021](#)). Portanto, o desenvolvimento de tecnologias que possam contribuir para a melhoria da qualidade e produtividade da soja é de grande importância. Nesse contexto, a técnica de *Laser Speckle* surge como uma ferramenta promissora para a avaliação da qualidade das sementes, uma vez que a atividade biológica da semente é um indicador crucial de sua viabilidade e potencial de germinação ([VIDAL; SILVA, 2008](#)).

Dentre os métodos convencionais de análise, destaca-se o estudo da curva de embebição, que fornece subsídios essenciais sobre a reativação do metabolismo, os processos bioquímicos e a evolução fisiológica da plântula ([MARCOS FILHO, 2018](#)). Classicamente, o processo germinativo é descrito por um padrão trifásico de absorção de água. A Fase I caracteriza-se pela rápida hidratação dos tecidos por meio de gradiente de potencial hídrico, resultando na reativação metabólica, início da respiração e reparo de estruturas celulares. Em seguida, a Fase II é identificada como um período de estabilização da absorção de água, no qual ocorrem processos bioquímicos preparatórios, como a digestão e a translocação de reservas nutricionais para os pontos de crescimento do embrião. Por fim, a Fase III consiste na retomada do crescimento embrionário, culminando na protrusão da raiz primária — evento que define a germinação sob o ponto de vista botânico — e em um novo impulso na absorção de água para o desenvolvimento estrutural da plântula ([MARCOS FILHO, 2018](#); [SALOMÃO et al., 2023](#)).

O objetivo geral deste trabalho é aplicar a técnica de *Biospeckle Laser* para monitorar e quantificar a atividade biológica de sementes de soja durante as fases iniciais do processo de germinação. Para alcançar o objetivo geral proposto, o trabalho foi estruturado em etapas específicas. Inicialmente, procedeu-se à montagem de um sistema óptico para a captação de padrões de interferência *speckle* em geometria de reflexão. Em seguida, foram implementadas rotinas computacionais voltadas à construção da História Temporal do Padrão de Speckle (THSP) e da Matriz de Coocorrência (MCO). Tais ferramentas permitiram o cálculo do Momento de Inércia Normalizado (NMI), visando quantificar a dinâmica celular das sementes em diferentes tempos de embebição. Por fim, realizou-se a comparação dos resultados obtidos por meio do *biospeckle* com o comportamento fisiológico trifásico descrito na literatura especializada, validando a eficácia da técnica óptica.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Este capítulo apresenta os conceitos teóricos essenciais que fundamentam a metodologia e a análise de resultados desta pesquisa. Inicialmente, a Seção 2.1 aborda o *Laser Speckle*, detalhando o caráter, a formação e a estatística de primeira ordem desse fenômeno. Em seguida, são descritas as bases matemáticas e computacionais utilizadas para extrair dados quantitativos desse fenômeno, com destaque para a formulação do THSP, da MCO e do subsequente cálculo do NMI, que atua como o principal índice de avaliação da atividade biológica da amostra. Por fim, a Seção 2.2 contextualiza o objeto fisiológico deste estudo: a germinação da soja. Serão descritas as fases e o vigor da semente. Essa estruturação fornece o embasamento biológico necessário para correlacionar o comportamento óptico capturado pelo *speckle* com a evolução da semente ao longo do tempo.

2.1 LASER SPECKLE

O padrão de *Laser Speckle* manifesta-se na interação de radiação coerente com superfícies irregulares, comparáveis ao comprimento de onda da luz, ou objetos difrativos (Figura 2.1). Nessas condições, cada ponto iluminado atua como uma fonte secundária, emitindo frentes de onda com fases aleatórias entre $-\pi$ e π (GOODMAN, 2020). A interferência mútua desses feixes espalhados, registrada por um detector óptico, gera uma textura granular característica, formada por regiões de máximos e mínimos de intensidade. Graças à sua alta resolução espacial, esse fenômeno viabiliza a análise cinética não invasiva de deformações microscópicas, vibrações e tensões mecânicas (SILVA, 2011; SILVA; MURAMATSU, 2007).

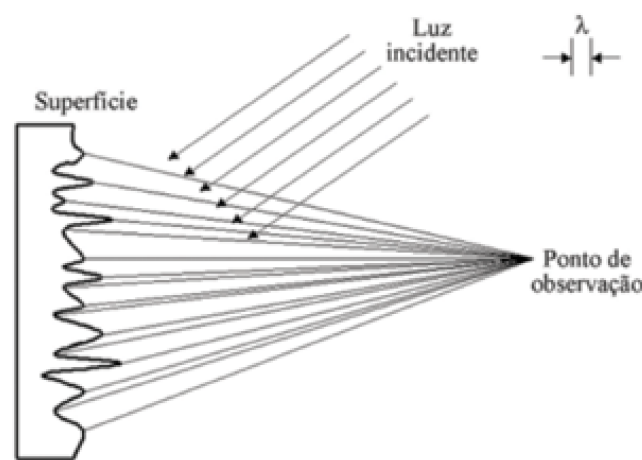


Figura 2.1 – Ilustração de uma superfície irregular e do processo de formação do *speckle*.

Fonte: Adaptado de (SILVA; MURAMATSU, 2007).

Este estudo do *speckle* focará na descrição do Princípio de Huygens-Fresnel aliada à análise estatística para a formação dos padrões de interferência. Embora o Princípio de Huygens-Fresnel descreva individualmente a propagação das frentes de onda a partir de cada centro espalhador da amostra, a natureza aleatória da superfície biológica exige uma abordagem estatística. Assim, a sobreposição desses campos é tratada matematicamente como um passeio aleatório de fasores — que representam a amplitude e a fase das frentes de onda secundárias no plano complexo — levando à caracterização do padrão de interferência granular observado (GOODMAN, 2020).

O Princípio de Huygens-Fresnel estabelece que cada ponto da frente de onda pode ser considerado uma fonte secundária de ondas esféricas e elas podem interferir umas com as outras. No caso do *Laser Speckle*, cada irregularidade da superfície rugosa ou cada partícula do meio difusor funciona como uma fonte pontual. Portanto, em cada ponto do espaço o campo elétrico total é a soma vetorial de todas essas ondas secundárias, levando em conta as amplitudes e as fases (HECHT, 2017).

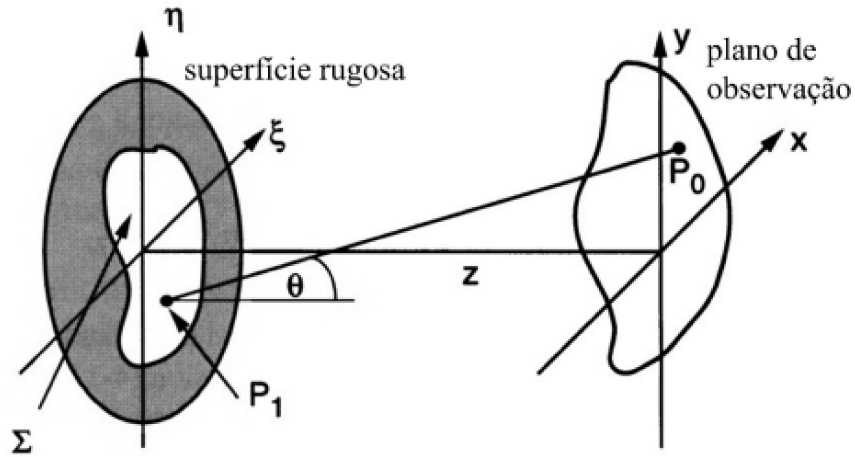


Figura 2.2 – Geometria de propagação no espaço livre na formação de *speckle*.

Fonte: Adaptado de (GOODMAN, 2017).

O princípio de Huygens-Fresnel é matematicamente expresso pela seguinte integral:

$$A(P_0) = \frac{1}{i\lambda} \iint_{\Sigma} \alpha(P_1) \frac{e^{ikr_{01}}}{r_{01}} \cos(\theta) dS. \quad (1)$$

Onde, na Figura 2.2, $A(P_0)$ é a amplitude do campo elétrico no ponto de observação P_0 , λ é o comprimento de onda da luz, $\alpha(P_1)$ é a amplitude da onda secundária na superfície Σ , k é o número de onda dado por $k = \frac{2\pi}{\lambda}$, r_{01} é a distância entre o ponto de observação P_0 e o ponto de emissão P_1 , θ é o ângulo entre a normal à superfície e a linha que conecta

P_1 a P_0 , e dS é um elemento infinitesimal da superfície Σ . A integral é calculada sobre toda a superfície iluminada (GOODMAN, 2020).

Além disso, conforme a Figura 2.2, a análise trigonométrica mostra que:

$$\cos(\theta) = \frac{z}{r_{01}}. \quad (2)$$

Assim, ao substituir na integral de Huygens-Fresnel, a Equação 1 pode ser reescrita como:

$$A(P_0) = \frac{z}{i\lambda} \iint_{\Sigma} \alpha(P_1) \frac{e^{ikr_{01}}}{r_{01}^2} dS. \quad (3)$$

A fim de simplificar o cálculo do campo elétrico, é possível assumir que a distância entre a superfície de espalhamento e o plano de observação é suficientemente grande, ou seja, $z \gg r_{01}$. Sob essa aproximação, é possível realizar duas simplificações. Em primeiro lugar, o termo no denominador r_{01}^2 da Equação 3 pode ser aproximado por z^2 , visto que a variação de r_{01} em relação a z é desprezível. Por fim, como pequenas mudanças de r_{01} geram grandes variações de fase devido à presença do termo $e^{ikr_{01}}$, é realizada uma expansão em série de Taylor. Geometricamente, a Equação 4 calcula a distância espacial tridimensional percorrida pela luz através de uma dupla aplicação do Teorema de Pitágoras: primeiro para determinar a projeção transversal no plano xy e, em seguida, incorporando a distância de propagação z para obter a hipotenusa final. A distância r_{01} pode ser expressa da seguinte forma:

$$r_{01} = \sqrt{z^2 + (x - \xi)^2 + (y - \eta)^2} = z \sqrt{1 + \frac{(x - \xi)^2 + (y - \eta)^2}{z^2}}. \quad (4)$$

Os termos ξ e η representam as coordenadas dos pontos na superfície de espalhamento, enquanto x e y correspondem às coordenadas no plano de observação. Ao realizar a expansão em série de Taylor, a expressão para r_{01} é aproximada por:

$$r_{01} \approx z \left[1 + \frac{(x - \xi)^2 + (y - \eta)^2}{2z^2} \right]. \quad (5)$$

Ao substituir essa aproximação no termo exponencial da Equação 3, tem-se que:

$$e^{ikr_{01}} \approx e^{ikz} e^{i \frac{k}{2z} [(x - \xi)^2 + (y - \eta)^2]}. \quad (6)$$

Além disso, os termos quadráticos podem ser expandidos para:

$$(x - \xi)^2 + (y - \eta)^2 = x^2 + y^2 + \xi^2 + \eta^2 - 2(x\xi + y\eta). \quad (7)$$

Portanto, a Equação 3 pode ser reescrita como:

$$A(x, y) = \frac{e^{ikz}}{i\lambda z} e^{i\frac{k}{2z}(x^2+y^2)} \iint_{\Sigma} \alpha(\xi, \eta) e^{i\frac{k}{2z}(\xi^2+\eta^2)} e^{-i\frac{k}{z}(x\xi+y\eta)} d\xi d\eta. \quad (8)$$

Por fim, substitui-se $k = \frac{2\pi}{\lambda}$ e é possível omitir o fator de fase global e^{ikz} porque ele representa apenas um atraso constante de propagação comum a toda a frente de onda. Como os sensores óticos registram apenas a intensidade luminosa (o módulo quadrado do campo) e não a fase absoluta, este termo não tem qualquer impacto no padrão de interferência final, visto que $|e^{ikz}|^2$ é sempre igual a 1. Assim, a expressão final é dada por:

$$A(x, y) = \frac{e^{i\frac{\pi}{\lambda z}(x^2+y^2)}}{i\lambda z} \iint_{\Sigma} \alpha(\xi, \eta) e^{i\frac{\pi}{\lambda z}(\xi^2+\eta^2)} e^{-i\frac{2\pi}{\lambda z}(x\xi+y\eta)} d\xi d\eta. \quad (9)$$

A Equação 9 é chamada de Integral de Difração de Fresnel, a qual modula a amplitude e a fase da onda esférica (GOODMAN, 2020; Bessa Júnior, 2025). Essa expressão também revela que o campo $A(x, y)$ é proporcional à Transformada de Fourier bidimensional da função $\alpha(\xi, \eta) e^{i\frac{k}{2z}(\xi^2+\eta^2)}$, avaliada nas frequências espaciais $f_x = \frac{k}{2\pi z}x$ e $f_y = \frac{k}{2\pi z}y$. Assim, a distribuição de intensidade do padrão de *speckle* no plano de observação é diretamente relacionada à estrutura espacial da superfície de espalhamento, permitindo a extração de informações sobre as características físicas do objeto analisado (GOODMAN, 2017).

A estatística de primeira ordem do padrão de *speckle* descreve a distribuição de probabilidade da intensidade luminosa em um ponto qualquer do padrão, independentemente da relação entre as intensidades dos demais pontos. Por “primeira ordem”, entende-se que a análise concentra-se exclusivamente em um ponto no espaço ou, para speckles dinâmicos, no espaço-tempo. Nesse sentido, as propriedades da amplitude e da fase de um campo elétrico resultante em um ponto de observação (x, y, z) serão tratadas como uma soma aleatória de fasores (GOODMAN, 2020). Seja $u(x, y, z; t)$ a amplitude do campo óptico representando uma componente de polarização do campo elétrico no ponto (x, y, z) e no instante t . Para uma onda monocromática, o campo óptico é escrito como:

$$u(x, y, z; t) = A(x, y, z) e^{i(2\pi\nu t)}. \quad (10)$$

Sendo ν a frequência óptica e $A(x, y, z)$ a amplitude complexa do campo, dada por:

$$A(x, y, z) = |A(x, y, z)|e^{i\theta(x, y, z)}. \quad (11)$$

Na qual $\theta(x, y, z) = \vec{k} \cdot \vec{r}$ representa a parte espacial da fase do campo óptico. A intensidade $I(x, y, z)$ do campo é o valor médio temporal do quadrado do módulo do campo elétrico:

$$I(x, y, z) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_{-T/2}^{T/2} |u(x, y, z; t)|^2 dt = |A(x, y, z)|^2. \quad (12)$$

A demonstração da Equação 12 é apresentada no apêndice A. A amplitude complexa resultante no plano de observação $A(x, y, z)$ é a soma de N contribuições de fasores elementares, cada um com amplitude $|a_k|$ e fase ϕ_k estatisticamente independentes — como em um *Random Walk*, como visto na Figura 2.3.

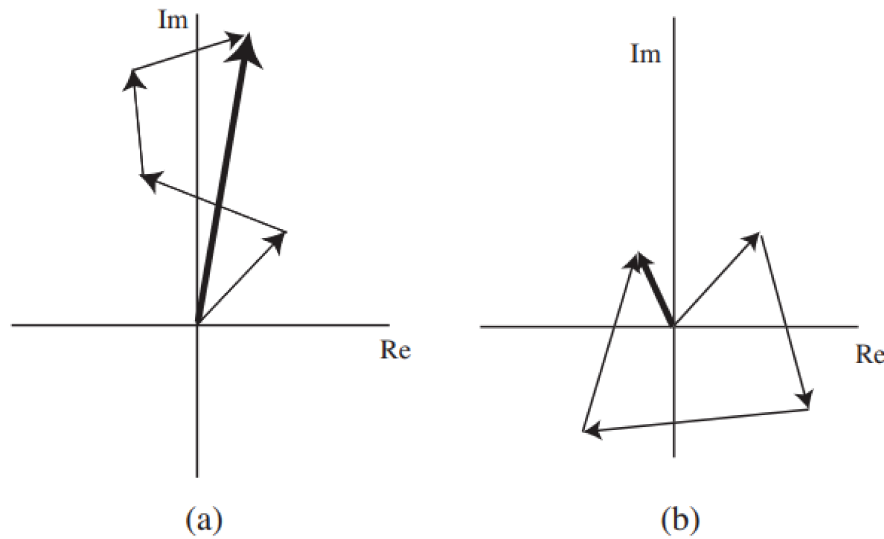


Figura 2.3 – Caminhadas aleatórias mostrando (a) adição predominantemente construtiva e (b) adição predominantemente destrutiva.

Fonte: Adaptado de (GOODMAN, 2020).

Assim, a amplitude complexa $A(x, y, z)$ pode ser expressa como:

$$A(x, y, z) = \sum_{k=1}^N \frac{1}{\sqrt{N}} a_k(x, y, z) = \frac{1}{\sqrt{N}} \sum_{k=1}^N |a_k| e^{i\phi_k}. \quad (13)$$

Essa soma pode ser interpretada como um passeio aleatório de fasores, na qual cada fasor representa a contribuição de uma fonte secundária de luz espalhada. Devido à natureza aleatória da superfície de espalhamento, as fases dos fasores ϕ_k são distribuídas uniformemente entre $-\pi$ e π . O termo $\frac{1}{\sqrt{N}}$ é um fator de normalização que garante que a amplitude total do campo permaneça finita à medida que o número de fontes secundárias N aumenta. Com isso, segundo a relação de Euler, $e^{i\phi} = \cos(\phi) + i \sin(\phi)$, a amplitude complexa $A(x, y, z)$ pode ser decomposta nas componentes real e imaginária:

$$A^{(r)} = \text{Re}\{A\} = \frac{1}{\sqrt{N}} \sum_{k=1}^N |a_k| \cos(\phi_k), \quad (14)$$

$$A^{(i)} = \text{Im}\{A\} = \frac{1}{\sqrt{N}} \sum_{k=1}^N |a_k| \sin(\phi_k). \quad (15)$$

O Teorema Central do Limite afirma que a soma de N variáveis aleatórias independentes tende a uma distribuição gaussiana com média zero e variância (σ^2) à medida que N tende ao infinito (SILVEIRA, 2015). Logo, a densidade de probabilidade conjunta das componentes real e imaginária do campo óptico é dada por:

$$\rho_{r,i}(A^{(r)}, A^{(i)}) = \frac{1}{2\pi\sigma^2} e^{-\frac{(A^{(r)})^2 + (A^{(i)})^2}{2\sigma^2}}. \quad (16)$$

Entretanto, experimentalmente é desejável obter as distribuições de probabilidade de grandezas físicas mensuráveis, tais como a intensidade I e a fase θ do campo óptico — sendo esta a resultante global no plano de observação. Tais grandezas estão diretamente relacionadas às componentes real e imaginária do campo por meio dos seguintes cálculos no plano complexo:

$$I = |A|^2 = (A^{(r)})^2 + (A^{(i)})^2, \quad (17)$$

$$\theta = \arctan\left(\frac{A^{(i)}}{A^{(r)}}\right). \quad (18)$$

A densidade de probabilidade conjunta de I e θ é obtida por meio da transformação de variáveis:

$$\rho_{I,\theta}(I, \theta) = \rho_{r,i}(\sqrt{I} \cos(\theta), \sqrt{I} \sin(\theta)) \cdot |J|. \quad (19)$$

Sendo $|J|$ o valor absoluto do determinante da matriz jacobiana da transformação, dado por:

$$|J| = \begin{vmatrix} \frac{\partial A^{(r)}}{\partial I} & \frac{\partial A^{(r)}}{\partial \theta} \\ \frac{\partial A^{(i)}}{\partial I} & \frac{\partial A^{(i)}}{\partial \theta} \end{vmatrix}, \quad (20)$$

$$\begin{aligned} |J| &= \left(\frac{1}{2\sqrt{I}} \cos(\theta) \right) (\sqrt{I} \cos(\theta)) - (-\sqrt{I} \sin(\theta)) \left(\frac{1}{2\sqrt{I}} \sin(\theta) \right), \\ |J| &= \frac{1}{2} \cos^2(\theta) + \frac{1}{2} \sin^2(\theta) = \frac{1}{2}. \end{aligned}$$

Assim, ao substituir a Equação 16 na Equação 19 e considerando o valor do determinante da jacobiana, tem-se que:

$$\rho_{I,\theta}(I, \theta) = \frac{1}{4\pi\sigma^2} e^{-\frac{I}{2\sigma^2}}. \quad (21)$$

Sendo as imagens de *Laser Speckle* medidas apenas das intensidades e não das fases, a dependência com a fase pode ser eliminada considerando todos os seus valores possíveis de forma que a densidade de probabilidade marginal da intensidade I é dada por:

$$\rho_I(I) = \int_{-\pi}^{\pi} \rho_{I,\theta}(I, \theta) d\theta = \frac{1}{2\sigma^2} e^{-\frac{I}{2\sigma^2}}. \quad (22)$$

Essa é uma distribuição exponencial decrescente, que descreve a estatística de primeira ordem da intensidade em um padrão de *speckle* polarizado, o qual ocorre sempre quando a radiação *laser* ilumina superfícies onde a luz polarizada sofre uma única difusão (SANTOS, 2003). No contexto deste trabalho, mesmo com a amostra sendo um material biológico, o *speckle* é bem desenvolvido e pode ser aproximado por uma distribuição exponencial. A fase θ , por sua vez, segue uma distribuição uniforme no intervalo $[-\pi, \pi]$. A demonstração da Equação 23 é apresentada no apêndice B.

$$\rho_{\theta}(\theta) = \int_0^{\infty} \rho_{I,\theta}(I, \theta) dI = \frac{1}{2\pi}. \quad (23)$$

Conclui-se que a intensidade em um ponto P em um padrão de *speckle* polarizado segue a distribuição de uma exponencial decrescente, enquanto a fase é uniforme. Como a intensidade é a grandeza de principal interesse, suas propriedades estatísticas serão investigadas em mais detalhes. No estudo de fenômenos ópticos aleatórios, a intensidade I medida em cada ponto do padrão não é determinística, mas sim uma variável aleatória. Sendo assim, uma forma de descrever uma variável aleatória é por meio de seus momentos

estatísticos, onde o n -ésimo momento $\langle I^n \rangle$ da intensidade fornece informações quantitativas sobre a forma da distribuição de probabilidade da intensidade (LIBERAL, s.d.), e pode ser calculado da forma:

$$\langle I^n \rangle = \int_0^\infty I^n \rho_I(I) dI = (2\sigma^2)^n n!. \quad (24)$$

A demonstração da Equação 24 é apresentada no apêndice C. Na qual $\rho_I(I)$ é a densidade de probabilidade da intensidade definida anteriormente pela Equação 22. Para observar o valor do primeiro momento, ou seja, a média da intensidade, basta substituir $n = 1$. Logo, $\langle I \rangle = 2\sigma^2$. Ao substituir na Equação 22, tem-se que:

$$\rho_I(I) = \frac{1}{\langle I \rangle} e^{-\frac{I}{\langle I \rangle}}. \quad (25)$$

Essa expressão mostra que a densidade de probabilidade normalizada da intensidade I ($\langle I \rangle \rho_I(I)$) decai exponencialmente com um fator $\left(\frac{1}{\langle I \rangle}\right)$, conforme a Figura 2.4. A curva exibe um decaimento exponencial característico, refletindo a natureza estocástica – na qual o valor não é previsto, mas o comportamento sim – do fenômeno de *speckle*. Então, em um padrão de speckle ideal, a maioria dos pixels será composta por tons escuros (interferências destrutivas).

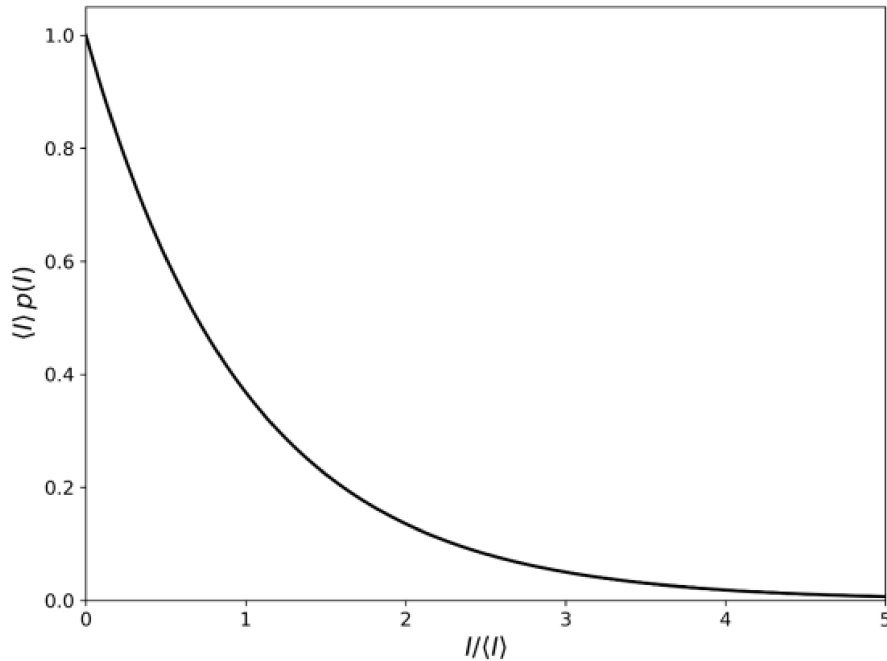


Figura 2.4 – Distribuição de probabilidade da intensidade normalizada.

Fonte: Adaptado de (GOODMAN, 2020).

Do caso $n = 2$, nota-se que:

$$\langle I^2 \rangle = 2\langle I \rangle^2, \quad (26)$$

e, portanto:

$$\sigma^2 = \langle I^2 \rangle - \langle I \rangle^2 = \langle I \rangle^2. \quad (27)$$

O fato do desvio padrão ser igual à média da intensidade leva à definição do conceito de contraste do *speckle* que é dado pela razão $C = \frac{\sigma}{\langle I \rangle}$. Nesse sentido, o contraste de um padrão de *speckle* polarizado é igual a 1. Isso significa que a variação é tão grande quanto a média, ou seja, a “flutuação” de brilho entre um ponto e outro da imagem é enorme (GOODMAN, 2020).

Finalmente, a Figura 2.5 apresenta uma imagem característica do padrão de *speckle*. A distribuição de brilho é altamente irregular, refletindo a natureza aleatória da interferência entre as ondas espalhadas. A presença de áreas brilhantes (interferência construtiva) e áreas escuras (interferência destrutiva) é evidente, ilustrando a complexidade do fenômeno de *speckle* e a importância da análise estatística para compreender suas propriedades.

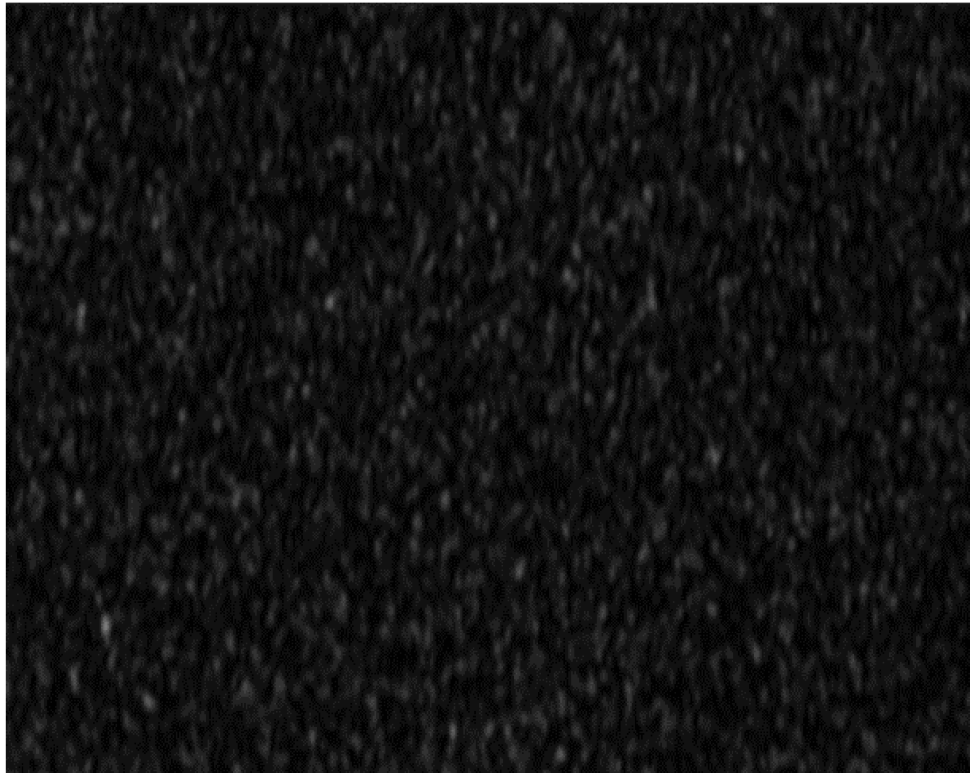


Figura 2.5 – Imagem característica do *speckle*.

2.1.1 Padrão de *Speckle* Temporal

Para o aprofundamento do estudo sobre o fenômeno do *Laser Speckle*, é fundamental introduzir ferramentas de análise capazes de quantificar a dinâmica do objeto espalhador. Nesse contexto, o *Time History Speckle Pattern* (THSP) atua como um indicador das flutuações de intensidade em várias imagens de Biospeckle registradas ao longo do tempo. Este monitoramento consiste na construção de um perfil espaço-temporal, onde uma linha fixa do padrão de interferência é amostrada em sucessivos quadros e alocada sequencialmente. Essa abordagem permite distinguir a componente estática do speckle (decorrente de estruturas fixas) da componente dinâmica (gerada pela atividade biológica ou cinética da amostra), viabilizando a caracterização da atividade da semente (SILVA, 2007; JUNIOR et al., 2007).

A Figura 2.6 exemplifica um THSP, no qual o eixo horizontal compreende a resolução espacial de 1280 pixels, representando uma linha capturada no sensor CMOS de 8 bits. O eixo vertical é composto por 200 quadros (*frames*) processados sucessivamente ao longo do tempo de uma mesma linha em todas as imagens de *Laser Speckle*, mapeando todas as transições possíveis entre os níveis de cinza de 0 a 255. A formação de estrias verticais contínuas e bem definidas evidencia a ausência de variações temporais na intensidade luminosa, caracterizando a estabilidade óptica do sistema e a falta de atividade dinâmica na amostra.

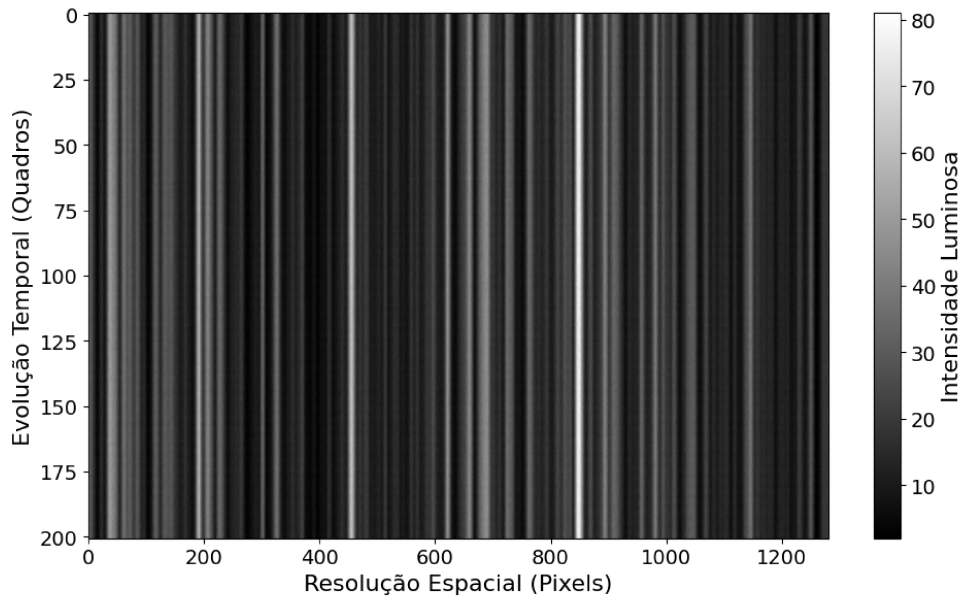


Figura 2.6 – THSP correspondente de uma amostra estática, nesse caso, o papel.

Diferente do caso estático, a textura da Figura 2.7 exibe uma granulação aleatória decorrente das rápidas flutuações de fase dos fasores, causadas pelo movimento dos centros espalhadores biológicos, o que altera continuamente os caminhos ópticos e a figura de interferência observada (JUNIOR et al., 2007).

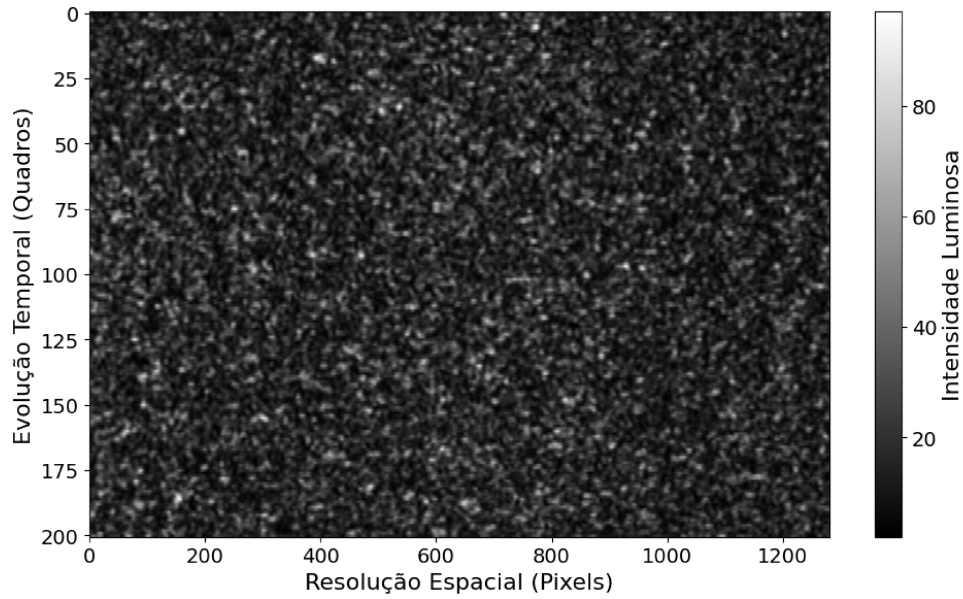


Figura 2.7 – THSP correspondente da folha de uma árvore com atividade dinâmica.

2.1.2 Matriz de Co-Ocorrência

A Matriz de Coocorrência (MCO) é estruturada a partir das intensidades temporais registradas no THSP, quantificando a dinamicidade do *Biospeckle* e fornecendo a base estatística para os índices de atividade biológica na semente de soja. Cada elemento N_{ij} representa a frequência com que a intensidade i é imediatamente sucedida por j , conforme a Figura 2.8. Assim, amostras estáticas concentram valores em sua diagonal principal, enquanto amostras dinâmicas resultam em maior dispersão dos elementos N_{ij} (JUNIOR et al., 2007).

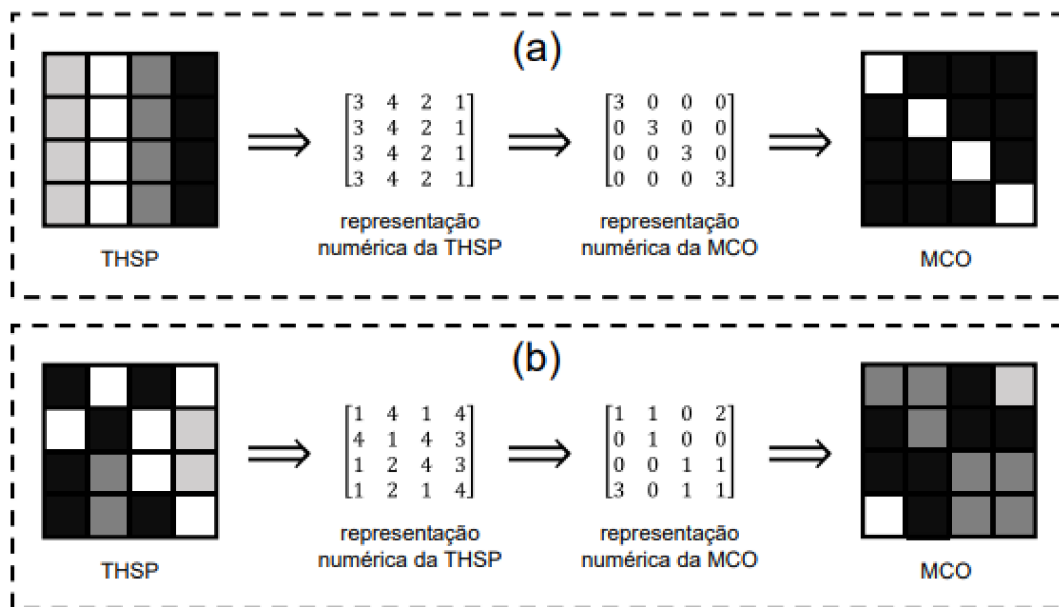


Figura 2.8 – Ilustração da construção da MCO de uma sequência de imagens de speckle nos casos (a) estático e (b) dinâmico.

É importante ressaltar que a diferença visual observada nos limites dos eixos das MCOs (Figuras 2.9 e 2.10) não corresponde a uma alteração na dimensão matemática da matriz. Como os dados originais são capturados por um sensor de 8 *bits*, a MCO possuirá, invariavelmente, uma estrutura fixa de 256×256 elementos. A variação no “tamanho” das representações gráficas reflete apenas a adequação da escala para a região ativa da matriz, ou seja, onde há elementos não nulos ($N_{ij} > 0$). Assim, os eixos são visualmente reduzidos de acordo com o maior valor de intensidade registrado no THSP correspondente. A seguir estão as MCO’s dos THSP’s das Figuras 2.6 e 2.7, respectivamente (JUNIOR, 2020).

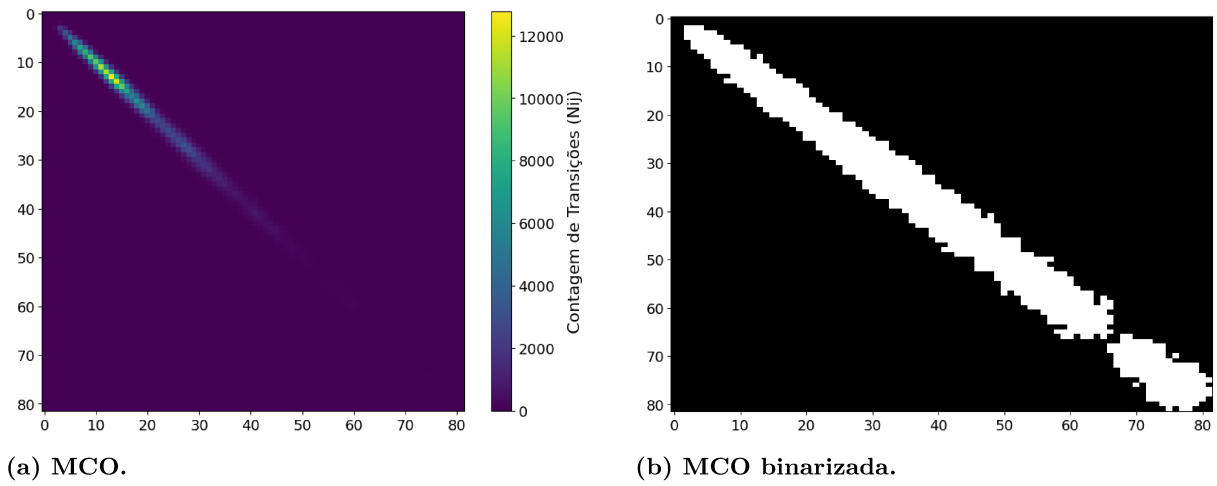


Figura 2.9 – Comparação no caso estático entre a MCO padrão (a) e a MCO binarizada (b).

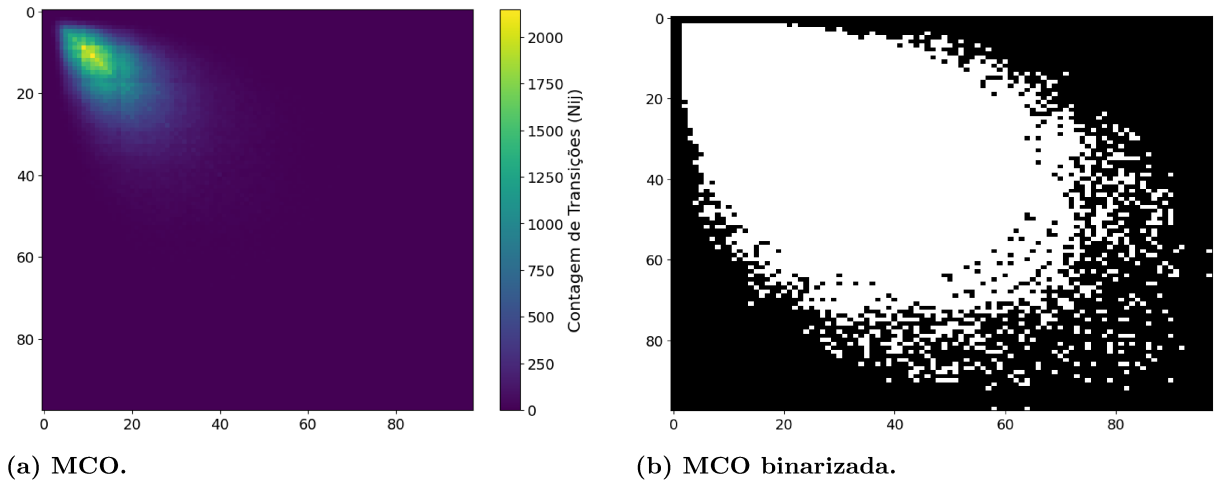


Figura 2.10 – Comparação no caso dinâmico entre a MCO padrão (a) e a MCO binarizada (b).

Na representação binarizada (Figuras 2.9b e 2.10b), todos os elementos não nulos da matriz são normalizados para a unidade ($N_{ij} = 1$), preservando-se os valores nulos para fins de contraste visual. Essa abordagem permite evidenciar que, em amostras sem atividade dinâmica, a ocupação da matriz concentra-se estritamente sobre a diagonal principal, indicando a ausência de transições significativas entre diferentes níveis de intensidade ao longo do tempo.

2.1.3 Momento de Inércia Normalizado

Antes do cálculo final do Momento de Inércia Normalizado (NMI) em função da intensidade média das imagens de *Laser Speckle*, é necessário quantificar a dispersão dos pontos em torno da diagonal principal da MCO (SILVA, 2007). O termo N_{ij} da MCO representa a frequência absoluta, ou seja, a contagem exata de quantas vezes o pixel com intensidade i transitou para a intensidade j no quadro seguinte. Por exemplo, se a intensidade de valor 1 mudou para o valor 2 em 5 ocasiões no THSP, isso significa que $N_{1,2} = 5$. No entanto, a utilização direta dessa contagem bruta pode gerar distorções estatísticas ao se comparar experimentos distintos. Uma situação clássica ocorre quando, em uma medida, foram capturados 100 *frames* e, na outra, 500 *frames*. Naturalmente, a segunda MCO terá um número muito maior de contagens de eventos (N_{ij}), o que forneceria um falso aumento do valor da atividade biológica em relação à primeira medida. Portanto, é imprescindível normalizar a MCO:

$$M_{ij} = \frac{N_{ij}}{\sum_{ij} N_{ij}}. \quad (28)$$

Matematicamente, o denominador $\sum_{ij} N_{ij}$ representa a soma de todos os elementos da matriz, correspondendo ao número total absoluto de transições de intensidade ocorridas no histórico temporal. Ao dividir cada contagem individual N_{ij} por esse total, converte-se a contagem bruta em uma frequência relativa, isto é, uma probabilidade de transição. Como resultado desse processo, obtém-se a matriz M_{ij} , que atua como a MCO normalizada, visto que a soma de todos os seus elementos passa a ser exatamente igual a 1 (JUNIOR et al., 2007). Agora com a MCO normalizada, é possível calcular a dispersão dos pontos em torno da diagonal principal. Traçando um paralelo com a mecânica clássica, o Momento de Inércia (MI) é derivado da seguinte forma:

$$MI = \sum_{ij} M_{ij} (i - j)^2. \quad (29)$$

Os elementos M_{ij} correspondem às entradas da matriz normalizada, as quais expressam a probabilidade de um pixel com intensidade i no instante t transitar para uma intensidade j no instante temporal consecutivo $t + 1$. O termo multiplicador $(i - j)^2$ representa a distância ao quadrado de cada elemento em relação à diagonal principal da matriz. Sob essa formulação, se a intensidade de um pixel permanece inalterada ($i = j$), a contribuição desse termo para o somatório é nula. Em contrapartida, em eventos de mudanças drásticas de luminosidade, a diferença entre os níveis de intensidade torna-se elevada. Ao elevar essa diferença ao quadrado, o modelo matemático atua como um

amplificador, atribuindo um peso estatístico significativamente maior às transições bruscas de intensidade (JUNIOR et al., 2007).

Tendo em mãos o cálculo do MI, a última etapa consiste em corrigir a influência de variações experimentais para fins de comparação entre resultados e garantia de reprodutibilidade dos experimentos. Em casos de diferenças de potências dos lasers utilizados, da distância do sensor óptico em relação à amostra ou até a quantidade de luz espalhada pelo objeto analisado, diferentes níveis de intensidade podem ser registrados, o que impactaria diretamente no valor do MI. Para contornar esse problema, é necessário aprofundar a análise estatística do comportamento do MI em função da intensidade média das imagens de *Laser Speckle*. É demonstrado, como na Figura 2.11, que o MI cresce de forma quadrática conforme o centro de massa da MCO normalizada (MCO_{cm}) aumenta. O código base para a simulação de um *speckle* encontra-se no Apêndice D. Para ilustrar, considere um caso em que a variação de intensidade de um pixel ocorra de 20 para 25; o termo espacial $(i - j)^2$ resultará em 25. Se a potência do *laser* for multiplicada por 5, a mesma dinâmica biológica registrará uma transição de 100 para 125. Isso fará com que o valor de $(i - j)^2$ dispare para 625, demonstrando claramente como um aumento linear na iluminação afeta de forma quadrática o cálculo do MI associado a esse novo MCO_{cm} .

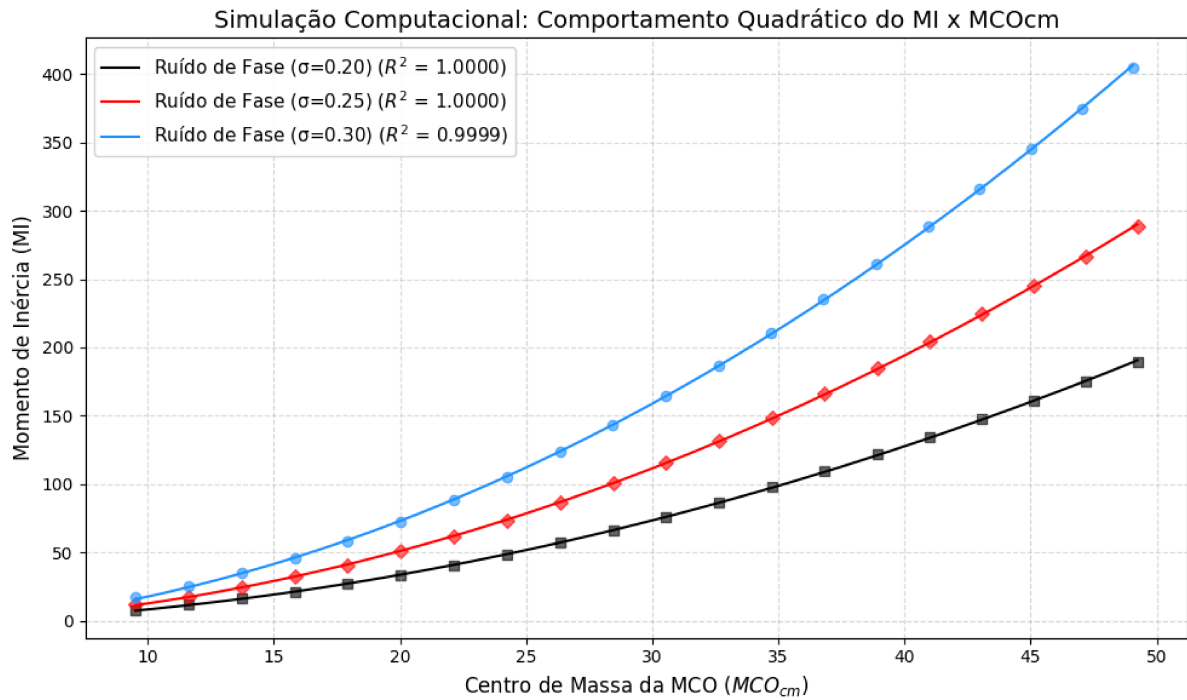


Figura 2.11 – Comportamento do MI em função do centro de massa da MCO normalizada (MCO_{cm}). A dinamicidade do padrão de speckle (σ) é definida pela magnitude da variação aleatória da fase, em radianos, a cada instante de tempo. Já a varredura do MCO_{cm} foi obtida multiplicando o THSP por escalares crescentes, simulando o aumento das intensidades e, conseqüentemente, dos valores de i e j na matriz, assim como em uma câmera de 8 *bits*. Além disso, o Coeficiente de Determinação (R^2) comprova estatisticamente o ajuste quadrático do modelo.

O cálculo do centro de massa tradicional é definido pela soma dos produtos de cada massa pela sua posição, dividida pela massa total do sistema:

$$X_{cm} = \frac{\sum_{i=1}^n m_i x_i}{\sum_{i=1}^n m_i}. \quad (30)$$

Nesta analogia, a massa é substituída pela frequência de transições M_{ij} e a posição pelos níveis de intensidade (coordenadas i e j da matriz) — nesse caso, calculado bidimensionalmente. Embora esse o cálculo forneça duas coordenadas espaciais, o MCO_{cm} é graficamente por meio de um único valor escalar (conforme os eixos verticais das Figuras 2.12 e 2.13). No regime estático, quase a totalidade dos dados concentra-se sobre a diagonal principal da matriz, com exceção de pequenas flutuações experimentais inerentes ao ruído do sistema. Consequentemente, as coordenadas de linha e coluna tornam-se equivalentes ($i = j$), colapsando-se a um único valor representativo.

Para o regime dinâmico, contudo, essa equivalência exige uma fundamentação baseada na estatística do processo. As probabilidades marginais p_x e p_y representam a chance estatística isolada de se observar uma determinada intensidade luminosa no primeiro e no segundo instantes de análise, respectivamente, e são obtidas ao se eliminar a dependência temporal conjunta da Matriz de Co-ocorrência. A partir dessas distribuições, derivam-se os parâmetros μ_x e μ_y , que correspondem aos valores esperados dessas marginais e indicam, na prática, o nível de brilho médio global da imagem em cada um dos momentos avaliados. O fenômeno do *speckle* gerado pela atividade biológica da semente comporta-se como um processo estocástico. Embora os *pixels* individuais sofram flutuações de intensidade de forma caótica e aleatória, o sistema macroscópico obedece à conservação de energia e às propriedades estatísticas de primeira ordem do campo óptico. Durante a medição, a média global da intensidade do *speckle* permanece constante; isto é, as transições locais para tons mais claros em determinados pontos são estatisticamente compensadas por transições para tons mais escuros em outros. Logo, o valor esperado μ_x (no tempo t) é rigorosamente igual ao valor esperado μ_y (no tempo $t + 1$). Devido a essa simetria estatística de transição, as coordenadas do MCO_{cm} também recaem sobre a diagonal principal ($i = j$) da MCO, mantendo o comportamento linear e justificando a análise unidimensional do centro de massa (YATES; GOODMAN, 2014; HARALICK et al., 1973).

O MCO_{cm} é, portanto, segundo as Figuras 2.12 e 2.13, diretamente proporcional à intensidade média das imagens de *Laser Speckle*. Para eliminar a influência do brilho — que pode variar de acordo com a montagem experimental —, o MI é normalizado pelo quadrado da intensidade média ($I_{méd}^2$), resultando no Momento de Inércia Normalizado (NMI). Essa etapa é crucial para garantir que o índice obtido reflita exclusivamente a

dinamicidade biológica da amostra, independentemente das condições de iluminação do *laser* ou do laboratório.

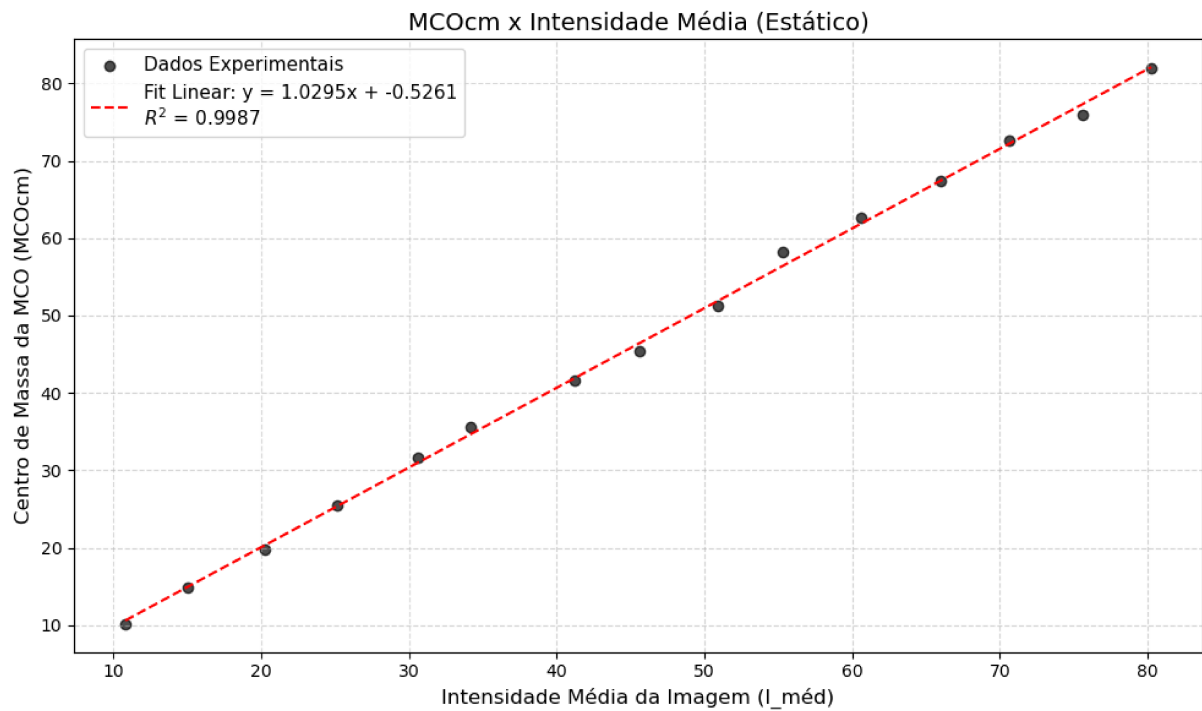


Figura 2.12 – Determinação experimental da relação linear entre MCO_{cm} e $I_{méd}$ por meio do ajuste de curvas no regime de um *speckle* estático de um papel.

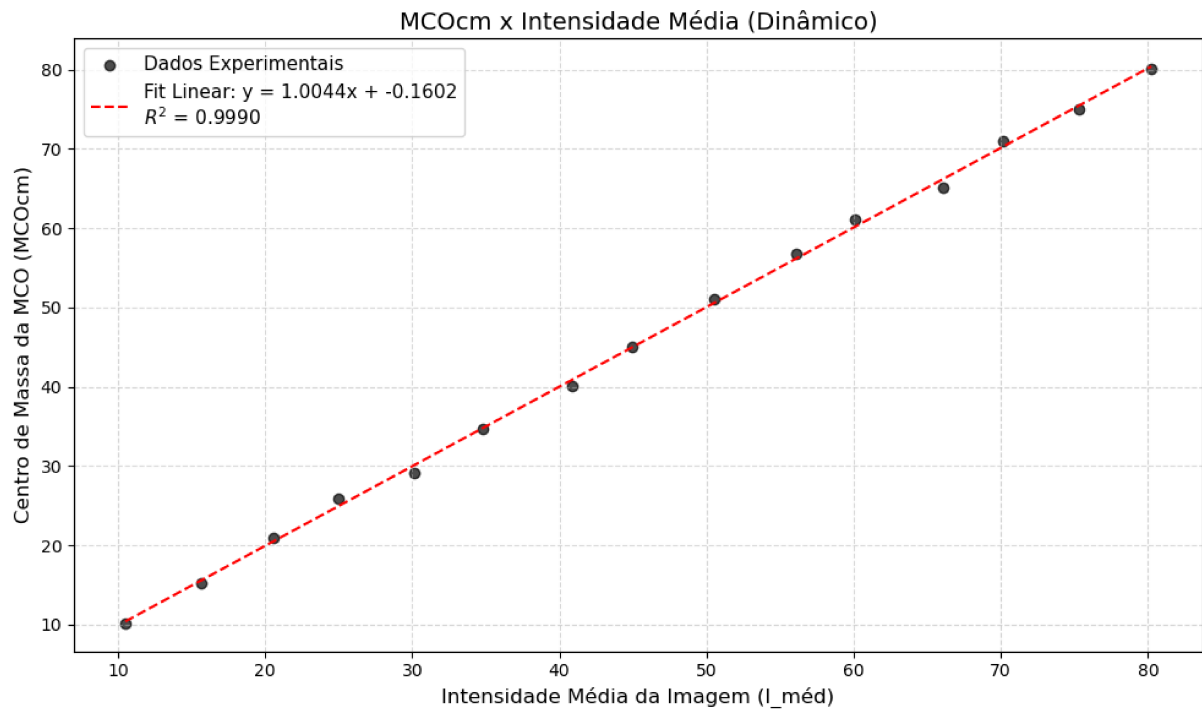


Figura 2.13 – Determinação experimental da relação linear entre MCO_{cm} e $I_{méd}$ por meio do ajuste de curvas no regime dinâmico, na qual o *speckle* correspondente foi produzido por uma folha de árvore qualquer.

Portanto, o NMI é calculado da seguinte forma:

$$NMI = \frac{MI}{I_{méd}^2}. \quad (31)$$

Utilizando o exemplo sobre a variação em 5 vezes da potência do *laser*, o MI aumentaria em 25 vezes, mas o NMI permaneceria inalterado, visto que a intensidade média também aumentaria em 5 vezes, e ao elevar ao quadrado, o denominador da equação também aumentaria em 25 vezes, anulando o efeito do aumento da potência do *laser* no valor final do índice. No entanto, o NMI é inversamente proporcional à taxa de aquisição (FPS), conforme a Figura 2.14. Taxas elevadas reduzem o intervalo temporal entre capturas e as transições de intensidade, concentrando a MCO em sua diagonal principal e minimizando o NMI. Contudo, esse é um parâmetro de fácil controle experimental, visto que câmeras de visão industrial permitem ajustes precisos do FPS.

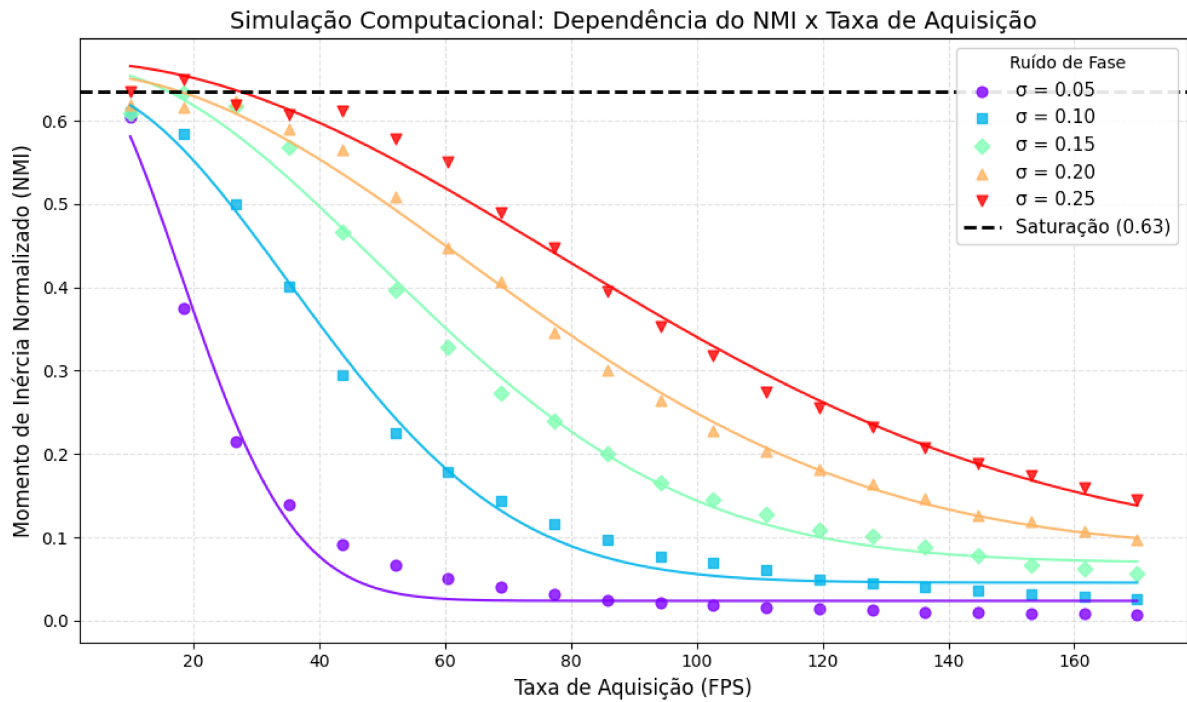


Figura 2.14 – Comportamento do NMI em função da taxa de aquisição (FPS) de imagens simuladas de *Laser Speckle* para diferentes σ . Computacionalmente, o FPS não atua como tempo contínuo, mas modula a mudança dinâmica entre quadros através do parâmetro σ_{frame} , proporcionalmente definido pela razão entre o ruído de fase da amostra (σ) e o respectivo valor de FPS do eixo horizontal. Essa perturbação da fase gera transições suaves em altas taxas de aquisição e bruscas em baixas, reproduzindo a dinamicidade temporal do *speckle*. O ajuste gaussiano é empregado para evitar a divergência do NMI em valores baixíssimos de FPS. A saturação ocorre quando quadros sucessivos tornam-se totalmente descorrelacionados, ou seja, sem memória temporal, e os dados se distribuem quase uniformemente por toda a MCO. Nesse estado, o NMI atinge um limite máximo constante e, conseqüentemente, a informação da amostra é perdida.

No contexto da análise das sementes de soja, o NMI carrega informações preciosas dos grãos e atua como um índice quantitativo direto da atividade biológica da amostra (BARBOSA, 2011).

2.2 GERMINAÇÃO DA SOJA

A cultura da soja detém posição estratégica na economia brasileira, sendo o principal produto de exportação do agronegócio nacional. Diante dessa relevância, desenvolver metodologias para o monitoramento preciso das fases iniciais das sementes é fundamental para assegurar plantios com alto vigor e produtividade (BRASIL, 2026). A seguir, abordam-se os principais aspectos da germinação da soja, seus fatores de influência e as características microscópicas que ocorrem no grão durante a análise.

Estruturalmente, a semente divide-se em tegumento, tecido de reserva e eixo embrionário (Figura 2.15). O tegumento atua como camada externa protetora contra danos físicos e patógenos, regulando a entrada de água. O tecido de reserva fornece a energia inicial por meio de nutrientes como amido, proteínas e lipídios. Já o eixo embrionário é a estrutura que dará origem à nova planta (plântula). Ele abriga os meristemas apicais, que são regiões de intensa multiplicação celular responsáveis por formar as primeiras raízes e o caule.

A germinação compreende as transformações biológicas desde o estágio de semente até a emergência da plântula a partir do eixo embrionário. Para que esse processo ocorra com sucesso e supere a dormência — uma adaptação evolutiva contra cenários desfavoráveis —, são essenciais condições ambientais adequadas, destacando-se a presença de água, oxigênio e temperatura ideal entre 20 °C e 30 °C (LOPES; BOSCHIERO, 2024).

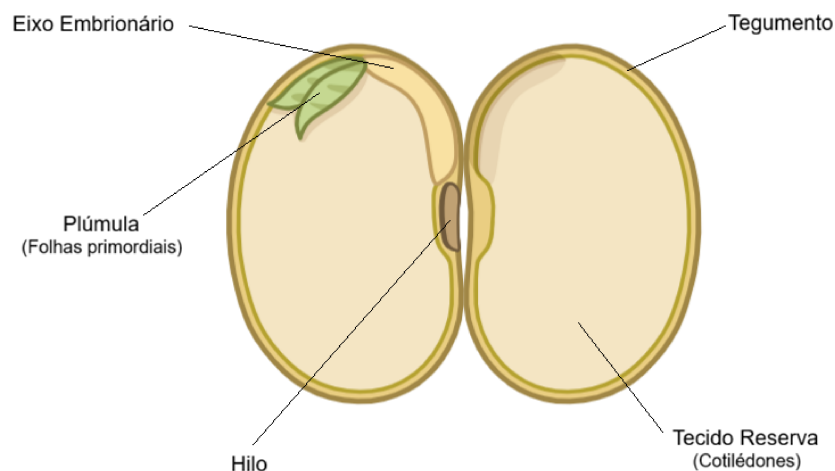


Figura 2.15 – Morfologia de uma semente de soja.

A primeira etapa fisiológica desencadeada a partir do contato da semente com a água, devido à diferença de potencial hídrico entre o substrato úmido e a soja, é a respiração ativa no interior do grão, onde é gerada energia para o desenvolvimento do embrião em raiz, caule e folhas, bem como a síntese de várias substâncias, como enzimas e hormônios. As enzimas são produzidas para destruir a cobertura externa da semente, dando passagem para a nova planta que irá surgir. Os hormônios são responsáveis pela transformação do eixo embrionário em radícula, caule e folhas e pelo crescimento destas partes.

A absorção de água pelas sementes (embebição) se faz de maneira diferenciada pelos distintos tecidos da semente. O tegumento, ou outras estruturas que envolvem o embrião, absorve muito pouca água, expandindo bem menos que os tecidos internos, a fim de ser rompida, facilitando, assim, a difusão de oxigênio para os tecidos internos. O tecido de reserva vem após as estruturas que revestem o embrião, em volume de água absorvido, e absorve água até um certo ponto, funcionando daí por diante como um reservatório. O tecido embrionário, justamente por crescer, é o que absorve as maiores quantidades de água (SALOMÃO et al., 2023).

Assim, é possível destrinchar todo o processo metabólico ativo da soja em 3 fases distintas, conhecido como Padrão Trifásico de Germinação.

2.2.1 Fase I

A fase I ocorre como uma consequência do potencial matricial dos vários tecidos das sementes, independente da semente ser viável ou não, dormente ou não, a não ser que se trate de dormência por impermeabilidade do tegumento à água. A embebição pode ocorrer com maior ou menor velocidade, dependendo: da permeabilidade do tegumento, da disponibilidade de água no ambiente, da pressão hidrostática, da temperatura, da área de contato existente entre a semente e a água e da composição química da semente. Durante esta fase, as sementes iniciam a ativação de mecanismos de reparo de danos acumulados durante a maturação, secagem e armazenamento. Incluem a reestruturação do sistema de membranas, reparo e multiplicação de mitocôndrias e reparo de DNA (SALOMÃO et al., 2023; LOPES; BOSCHIERO, 2024).

2.2.2 Fase II

Nesta fase, há a liberação de fitormônios (hormônios vegetais), a produção de enzimas e são observadas altas taxas de respiração celular. Embora a olho nu pareça que o processo estacionou e a absorção de água desacelerou drasticamente, o metabolismo interno está extremamente ativo. A semente altera profundamente a sua composição química. Neste momento, as reservas de energia começam a ser intensamente quebradas e

transformadas, o que resulta no aumento da digestibilidade de suas proteínas e na redução significativa de fatores antinutricionais – compostos químicos naturais que a própria planta produz como um mecanismo de defesa contra, por exemplo, fungos e bactérias. O grão apenas pausou o “choque de hidratação” para focar em processar seus estoques, gerando o combustível exato que o embrião precisará para a próxima etapa. Uma vez hidratado, o embrião inicia a liberação do fitormônio giberelina (GA), que estimula a produção de enzimas que vão consumir os tecidos de reserva da semente, disponibilizando energia para a respiração celular e mais espaço para a emergência da radícula (MARTINEZ et al., 2011; LOPES; BOSCHIERO, 2024).

2.2.3 Fase III

Na terceira fase ocorre acréscimo na taxa de absorção de água, que culminará com a emissão da raiz primária. Esse aumento na absorção de água está relacionado à retomada do crescimento do embrião, caracterizada pela expansão e/ou divisão celular. Além disso, o oxigênio é fundamental para a germinação, pois é necessário para a respiração celular, que fornece a energia necessária para o crescimento e desenvolvimento da plântula. Durante a reação oxidativa, ocorrem as quebras de carboidratos, proteínas e lipídios em glicose ou sacarose, aminoácidos e ácidos graxos, respectivamente. Tais reações ocorrem na presença de enzimas. Ao fim, ocorre a liberação de calor e a produção de ATP (Adenosina Trifosfato, a principal molécula de armazenamento e transferência de energia química nas células) e de compostos intermediários. Os produtos resultantes da respiração aeróbia são transportados constantemente à região do eixo embrionário na presença de água, e desempenham importante papel no alongamento das células e nas divisões mitóticas, processos envolvidos no crescimento da planta. Nessa fase ocorrem modificações morfológicas visíveis nas sementes, como o alongamento da radícula (protrusão da raiz primária), ilustrado pela Figura 2.16, (LOPES; BOSCHIERO, 2024).



Figura 2.16 – Germinação da semente de soja ilustrada por meio da protrusão da radícula.

Portanto, a Figura 2.17 representa um gráfico teórico típico do Padrão Trifásico de Germinação do teor de água absorvido em função do tempo, na qual a fase I é caracterizada por um rápido aumento na absorção de água, seguido por uma estabilização durante a fase II, e um novo aumento na fase III, que culmina com a emissão da radícula.

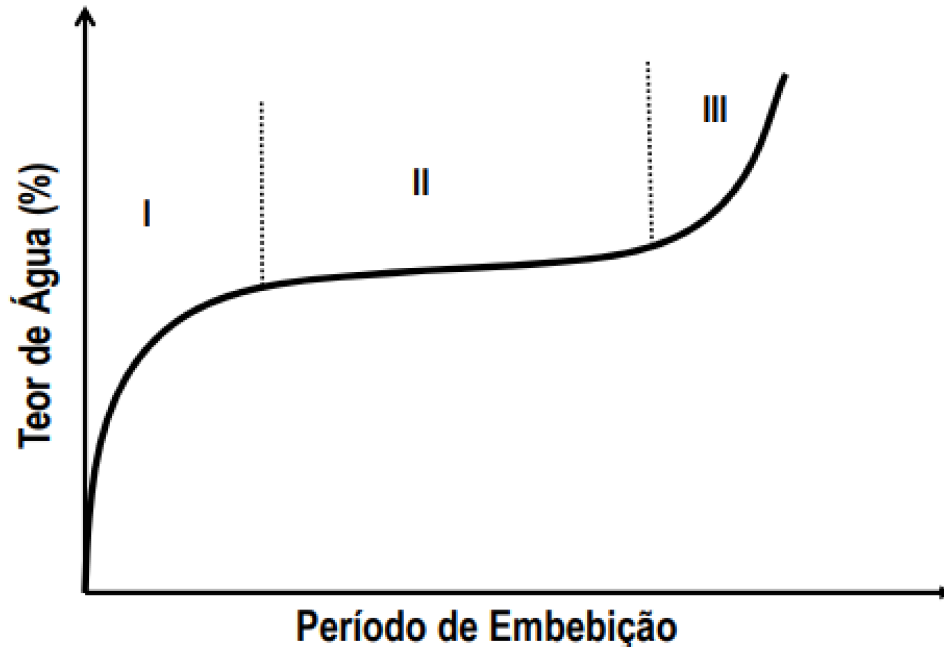


Figura 2.17 – Padrão Trifásico de Germinação caracterizado pela variação do teor de água absorvida em função do tempo.

Fonte: Adaptado de (SALOMÃO et al., 2023).

2.2.4 Testes de vigor

As cultivares de soja utilizadas neste trabalho são a Olimpo IPRO e a NEO 790 IPRO. Embora partilhem a tecnologia Intacta RR2 PRO (IPRO) — que confere tolerância a herbicidas e resistência a insetos —, apresentam comportamentos fisiológicos e morfológicos distintos. A cultivar Olimpo IPRO, com um Peso de Mil Grãos (PMG) médio de 171 g, destaca-se no cenário agrícola pelo seu elevado vigor inicial, vulgarmente referido como “arranque agressivo”, o que implica uma mobilização de reservas extremamente eficiente logo nas primeiras horas de embebição (BRASMAX, 2023). Em contrapartida, a NEO 790 IPRO, que apresenta um PMG de aproximadamente 168 g, possui exigências nutricionais específicas, requerendo ambientes de alta fertilidade para expressar o seu potencial produtivo. Estas diferenças intrínsecas de vigor e massa entre as linhagens são determinantes para a cinética metabólica da semente, uma vez que o vigor dita a velocidade e a intensidade das reações bioquímicas durante a germinação. A dimensão física das sementes é quantificada pelo parâmetro PMG, definido como a massa, em gramas, de uma amostra aleatória de 1000 unidades de um determinado lote. Fisiologicamente, sementes com um PMG superior exigem um volume maior de água para a hidratação completa

dos tecidos, embora disponham de uma reserva energética significativamente maior nos cotilédones ([MARCOS-FILHO, 2015](#); [MATOS, 2021](#)).

Dentre os testes de vigor mais utilizados para a avaliação da qualidade das sementes, destacam-se o teste de condutividade elétrica e o de tetrazólio. O primeiro baseia-se nas manifestações iniciais de deterioração da semente, fase em que ocorre a desestruturação das membranas celulares. O teste de condutividade elétrica fundamenta-se na quantificação de solutos, aminoácidos e íons inorgânicos liberados na água de embebição em decorrência da perda de integridade dessas membranas. Essa integridade estrutural é fundamental para o funcionamento normal das reações químicas nas células vivas, bem como para a preservação da compartimentalização celular. Portanto, quanto menor o valor medido de condutividade elétrica, maior será o vigor da semente ([KRZYZANOWSKI et al., 2023](#)).

Por sua vez, o teste de tetrazólio consiste na imersão das sementes em uma solução incolor de TCT (cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio). Essa solução difunde-se através dos tecidos e, nas células vivas, sofre uma reação que resulta na formação de um composto de coloração vermelha. Esse processo evidencia a presença de atividade respiratória nas mitocôndrias, atestando a viabilidade celular e tecidual. Dessa forma, a coloração resultante atua como um indicador positivo de viabilidade, por meio da detecção indireta da respiração em nível celular. Tecidos não viáveis não reagem com a solução e, consequentemente, permanecem incolores ([FRANÇA-NETO; KRZYZANOWSKI, 2018](#)).

Vale destacar também uma aplicação metodológica alternativa do *Biospeckle*. Nesse procedimento, as sementes de soja são submetidas a um processo de embebição por aproximadamente 12 horas e, em seguida, seccionadas, conforme ilustrado na Figura 2.15. As amostras são então posicionadas sob a incidência do feixe *laser* para o registro óptico das imagens. Com o objetivo de induzir um estresse térmico controlado, o material é aquecido, o que reduz sua atividade biológica e provoca danos estruturais nos tecidos. Na sequência, realiza-se uma nova medição da mesma amostra para fins de comparação. Após o processamento computacional dos dados, obtém-se uma imagem na qual as regiões de maior atividade biológica (tecidos vigorosos) destacam-se em tons de cinza mais claros, enquanto as áreas danificadas ou com menor atividade apresentam-se em tons mais escuros ([VIDAL; SILVA, 2008](#)).

Embora consagrados e altamente confiáveis no meio agrícola, esses métodos convencionais apresentam limitações metodológicas: fornecem apenas um “retrato” estático de um momento específico e, no caso do tetrazólio, demandam interpretação visual subjetiva. É justamente nesse cenário que a caracterização temporal baseada no Momento de Inércia Normalizado (NMI), foco deste trabalho, demonstra o seu grande diferencial. Ao substituir

a secção física do grão pela captura sequencial e automatizada da luz espalhada, a técnica avança ao permitir o monitoramento contínuo, quantitativo e totalmente não invasivo da dinâmica metabólica celular, conectando as fases de absorção de água diretamente aos eventos fisiológicos de germinação.

3 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

A montagem experimental empregada na técnica de *biospeckle* utiliza como fonte de luz coerente um *laser* DPSSL (*Diode-Pumped Solid-State Laser*) operando a 532 nm com potência máxima de 200 mW. O controle da intensidade luminosa que incide sobre a amostra é realizado por um atenuador óptico composto por uma lâmina de meia-onda ($\frac{\lambda}{2}$) seguida de um polarizador fixo. A rotação mecânica da lâmina altera o plano de polarização do feixe, permitindo ajustar a potência transmitida de forma a evitar a saturação do sensor da câmera. O estágio de rotação motorizado é utilizado para abrir e fechar a tampa da *Gerbox*, garantindo a captura de imagens em momentos específicos da semente de soja e também mantendo a amostra em um ambiente controlado, minimizando interferências externas. O motor de passo é controlado via Arduino, programado para realizar movimentos precisos e repetitivos, garantindo a consistência dos experimentos. A câmera utilizada é o modelo Basler® acA1300-200um, que possui um sensor CMOS de 8 bits com pixels de dimensões horizontais e verticais de $4,8 \mu\text{m}$, permitindo níveis de intensidade de 0 a 255. Um esquema da montagem experimental pode ser visualizado na Figura 3.1.

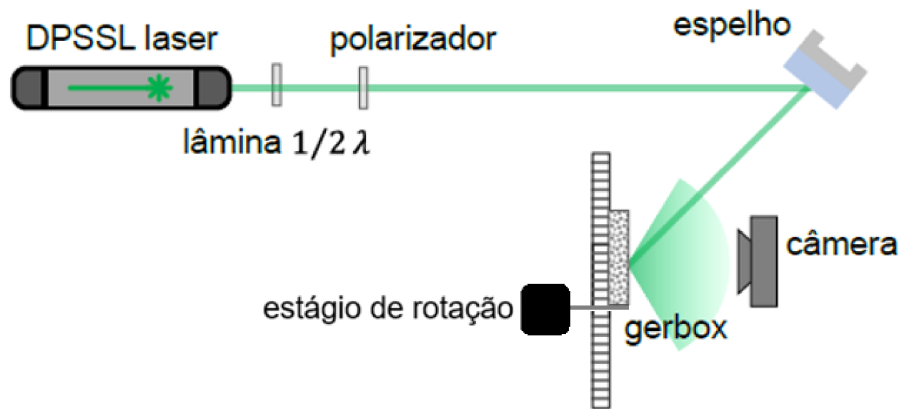


Figura 3.1 – Esquema da montagem experimental da técnica biospeckle de uma semente germinando.

O estágio de rotação utilizado na configuração experimental foi desenvolvido por nós, com o auxílio técnico de Guilherme de L. Fernandes, utilizando partes produzidas em uma impressora 3D e um motor de passo. Além disso, outro motor de passo, controlado por um segundo Arduino, foi empregado a fim de realizar o bloqueio temporário da luz do *laser*, permitindo a captura de fotos da soja durante as medidas com o intuito de monitorar o processo de germinação remotamente via armazenamento em nuvem. Para isso, o dispositivo utilizado é o modelo Logitech C270 HD Webcam com resolução de 1280×720 pixels.

A Figura 3.2 apresenta a montagem experimental utilizada para a realização dos experimentos, destacando os principais componentes e sua disposição.

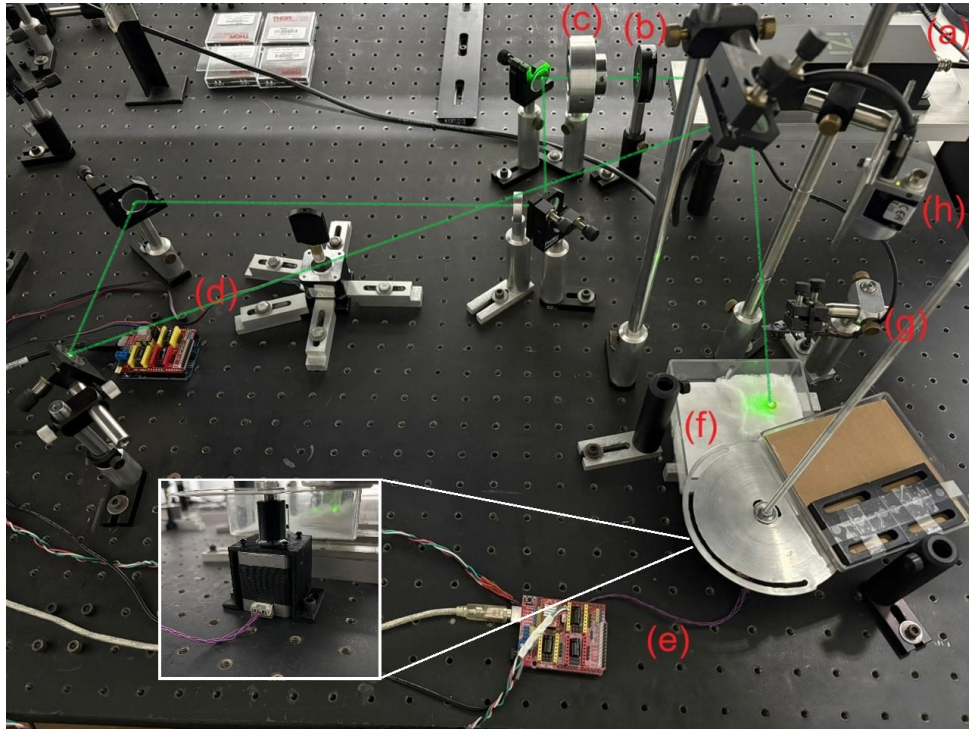


Figura 3.2 – Montagem Experimental constituída por: (a) *laser* DPSSL, (b) lâmina de meia-onda, (c) polarizador, (d) Arduino e motor de passo para o bloqueio do feixe, (e) Arduino e motor de passo para o estágio de rotação, (f) *Gerbox*, (g) webcam Logitech C270 HD e (h) câmera Basler® acA1300-200um. As linhas em verde representam os feixes de luz do *laser*.

Foram realizadas duas medições para cada tipo de soja analisada: Olimpo IPRO e NEO 790 IPRO. Ambas as cultivares foram fornecidas pelo Prof. Dr. Hugo César R. Moreira Catão e pela doutoranda Ana Laura Costa Santos, do Instituto de Ciências Agrárias (ICIAG) da Universidade Federal de Uberlândia. O algodão foi utilizado como substrato para as amostras, visto que possui uma boa capacidade de retenção hídrica, e foi umedecido com água em uma quantidade equivalente a 2,5 vezes o peso do algodão seco, conforme a literatura agrícola recomenda (SANTOS, 2026). As sementes foram mantidas à temperatura ambiente, em torno de 25°C.

Assim, as sementes foram posicionadas sobre o algodão umedecido dentro da *Gerbox* com o *laser* incidindo na região embrionária da soja. A câmera Basler® acA1300-200um foi posicionada verticalmente acima da amostra para capturar a luz espalhada, enquanto a webcam Logitech C270 HD foi posicionada lateralmente para monitorar o processo de germinação. Todos os dispositivos, incluindo os dois Arduinos, foram integrados aos programas em Python, também desenvolvidos por nós, para automatizar a captura de imagens e o controle dos motores de passo, garantindo a sincronização entre os diferentes

componentes da montagem experimental. Portanto, os parâmetros de captura foram definidos em: tempo de exposição de 5000 μ s, 15 *fps* e 300 frames por medida, totalizando 20 segundos de captura para cada aferição. Embora na Figura 2.14 o valor de 15 *fps* está próximo da saturação, é importante ressaltar que se trata de uma simulação arbitrária para compreender o comportamento do sistema, e, no caso experimental, houveram testes para determinar o melhor conjunto de parâmetros. A fim de reduzir o consumo de memória e armazenamento do computador, o tamanho das imagens de *biospeckle* foi reduzido para 512×512 pixels, sem comprometer a qualidade dos dados em razão de serem estatisticamente representativas e suficientes para mapear as distribuições das flutuações de intensidade óptica. Além disso, foi determinada uma quantidade de 50 linhas da imagem de *speckle* a serem analisadas para aumentar a precisão dos resultados.

Com o intervalo de tempo entre as medidas estipulado em 10 minutos e duração total de 3 a 4 dias, de acordo com a evolução fisiológica da soja, o programa em Python iniciava as etapas do experimento. Primeiramente, o motor de passo do estágio de rotação abria a tampa da *Gerbox* para expor a semente à luz do *laser*, e a câmera Basler® acA1300-200um iniciava a captura das imagens de *biospeckle*. Após isso, o segundo motor de passo bloqueava o feixe de luz para que a webcam Logitech C270 HD pudesse capturar fotos da semente, e a *Gerbox* era fechada novamente. Em seguida, iniciavam-se os cálculos computacionais do THSP, da MCO normalizada, do MI, da intensidade média das imagens de *biospeckle* e, por fim, do NMI. Para cada aferição, esse processo se repetia por 50 vezes e o NMI médio com o desvio padrão é construído graficamente ao longo do tempo.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em primeiro lugar, a utilização do Momento de Inércia Normalizado (NMI) demonstrou ser uma ferramenta eficaz e robusta para a quantificação da atividade biológica intrínseca da soja. O NMI permitiu uma análise detalhada e precisa da dinâmica temporal, proporcionando compreensões valiosas sobre as fases do processo de germinação. Esse resultado é notável considerando a suscetibilidade a pequenas flutuações inerentes a medições ópticas de longa duração e ao uso compartilhado da instrumentação. Nesse sentido, mesmo diante da extrema sensibilidade da técnica de *Laser Speckle* e aos ruídos externos, o algoritmo do NMI provou ser capaz de fornecer dados consistentes, precisos e reproduzíveis – sendo o último fundamental para trabalhos experimentais – das amostras das cultivares analisadas.

Após a coleta e o tratamento dos resultados, é perceptível que a curva apresenta três comportamentos distintos ao longo das horas de experimento. Vale ressaltar que, embora os pontos não coincidam exatamente tanto nos valores de NMI quanto nos tempos, por se tratar de um organismo vivo, a tendência geral é clara e consistente, o que reforça a confiabilidade dos resultados. Portanto, a partir da técnica do *Biospeckle* aliada à teoria agrícola, ambos discutidos na parte de Fundamentação Teórica (Seção 2), foi possível caracterizar o processo trifásico de germinação da soja Olimpo IPRO (Figura 4.1) e da soja NEO 790 IPRO (Figura 4.2).

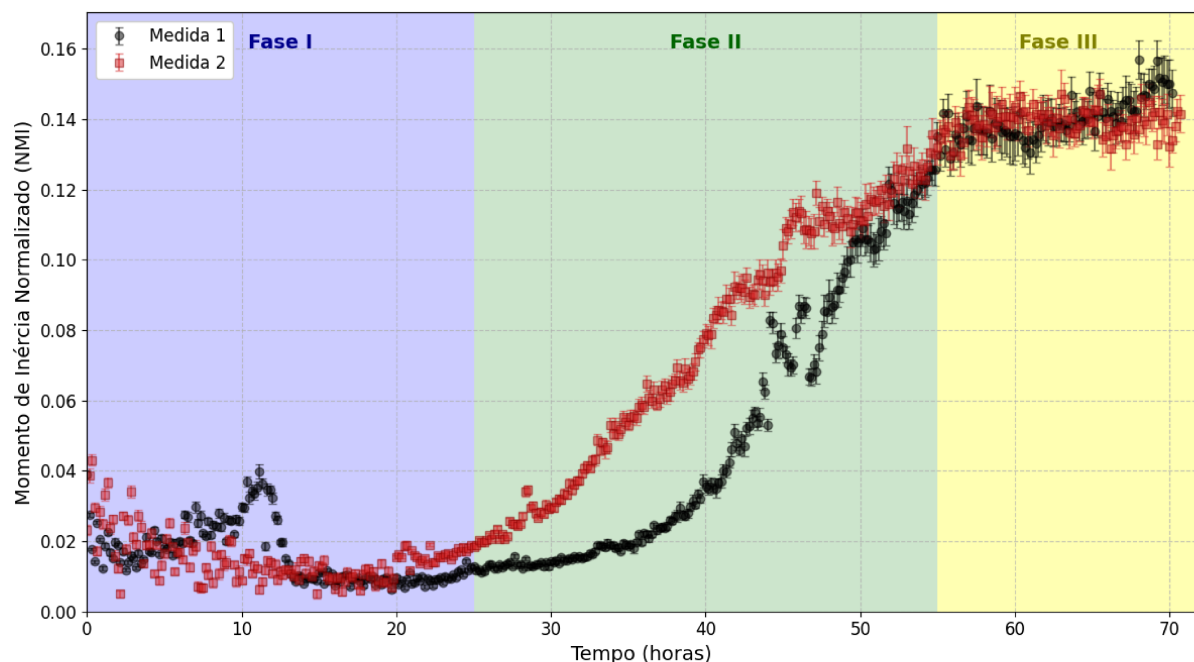


Figura 4.1 – Processo Trifásico de Germinação da soja Olimpo IPRO caracterizado por meio do *Biospeckle*.

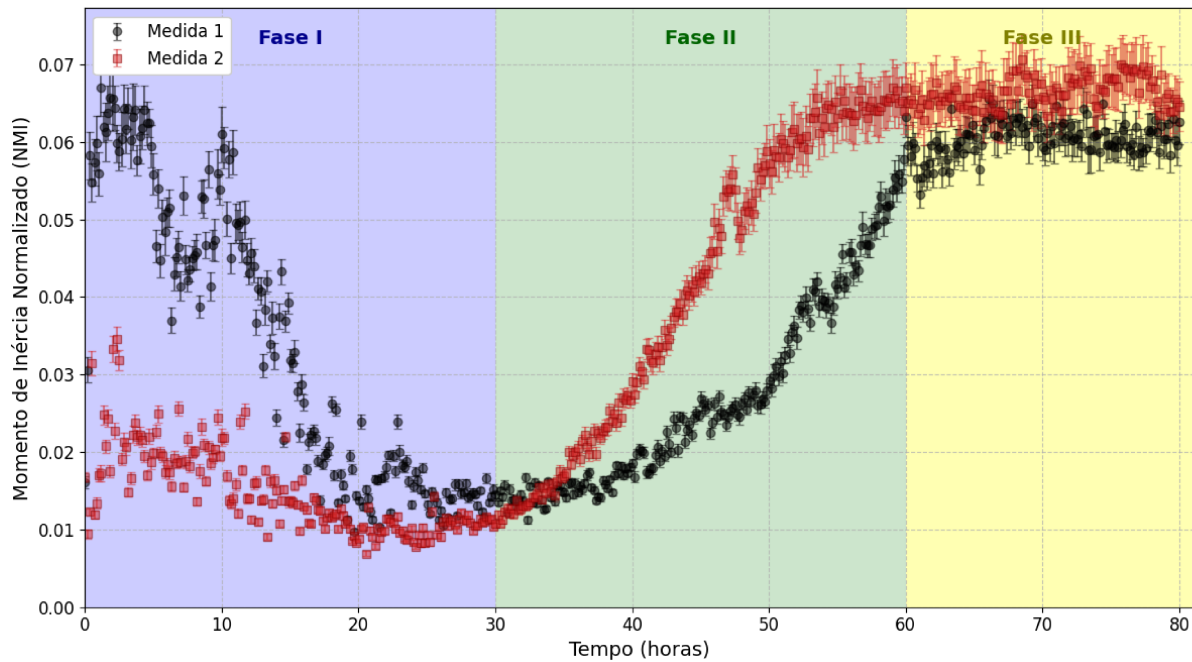


Figura 4.2 – Processo Trifásico de Germinação da soja NEO 790 IPRO caracterizado por meio do *Biospeckle*.

Nas duas amostras, a Fase I correspondeu a um período de absorção de água, evidenciado pela variação desordenada sem tendência aparente nos gráficos. Esse comportamento decorre do crescimento físico da semente causado pela hidratação. Assim, como o NMI é sensível à dinâmica interna da amostra, essa alta amplitude reflete o intenso fluxo hídrico e a expansão mecânica dos tecidos. Após o fim da embebição inicial, os valores de NMI diminuíram e estabilizaram-se, indicando a transição para a Fase II. Nessa etapa, a absorção de água desacelera drasticamente, e a semente inicia a reativação metabólica e a respiração celular, com o foco no processamento do estoque dos tecidos de reserva a fim de gerar o combustível que o embrião precisará na próxima etapa. Isso reflete-se diretamente no comportamento do NMI, que apresenta uma curva crescente acentuada, indicando um aumento significativo na atividade biológica da semente. Na Fase III, o NMI atinge o pico máximo, evidenciando a altíssima dinâmica interna da soja, e depois inicia um platô, o qual fisiologicamente reflete o estabelecimento de um fluxo contínuo e intenso no transporte de fluidos e nutrientes em direção ao eixo embrionário. Essa mobilização desempenha um papel crucial no alongamento celular e nas divisões mitóticas. Nesse momento, ocorre também a retomada da absorção de água, que impulsiona o crescimento do embrião, culminando, ao final da medida, na protrusão da radícula. Vale ressaltar que o *Biospeckle* é uma técnica complementar à curva de embebição (Figura 2.17), pois enquanto esta reflete o comportamento macroscópico da semente (variação da massa), o NMI captura a dinâmica interna, permitindo uma análise detalhada do processo de germinação. É também notável que em ambas as curvas o comportamento é contrastante nas três fases.

Ademais, a análise comparativa entre as cultivares Olimpo IPRO e NEO 790 IPRO revelou diferenças em seus perfis de germinação, embora a estabilização do sinal óptico na Fase I e o início da reativação metabólica (Fase II) tenham ocorrido em instantes próximos. Essa proximidade inicial se deve aos valores semelhantes de Peso de Mil Grãos (PMG) — 171 g para a Olimpo IPRO, o que é compatível com os 168 g da NEO 790 IPRO. Assim, quando atingiram a saturação hídrica, a cultivar Olimpo iniciou a Fase II às 25 horas e a finalizou às 55 horas, enquanto a NEO iniciou às 30 horas e encerrou às 60 horas, tendo em ambos os casos uma duração da segunda etapa fisiológica de 30 horas.

Apesar desses tempos próximos de hidratação, a discrepância na amplitude do sinal óptico sugere duas hipóteses para a Olimpo IPRO (platô máximo em $\sim 0,15$) em relação à NEO 790 IPRO (platô máximo em $\sim 0,065$). A primeira pauta-se no seu maior vigor inicial teórico, refletindo uma superior e rápida mobilização de reservas. A segunda hipótese considera o estresse por envelhecimento, visto que as sementes da Olimpo estavam armazenadas há meses; nessa condição, a semente eleva drasticamente sua taxa respiratória na tentativa de manter-se viável, o que justificaria o pico do índice de atividade. Ademais, é notável o aumento do desvio padrão ao longo da germinação, pois a intensa atividade biológica altera drasticamente os centros espalhadores de luz a cada instante, aumentando naturalmente a variância estatística do *speckle*.

No entanto, embora a cultivar NEO 790 IPRO necessite de condições mais específicas para expressar seu potencial máximo, ela apresenta alta estabilidade produtiva e uma arquitetura com menor ramificação. Essa característica permite o plantio de mais sementes por área, o que é um fator crucial para a agricultura moderna. Além disso, a utilização de diversas cultivares na lavoura é extremamente comum e eficaz, pois garante maior segurança produtiva, uma vez que as plantas podem responder de maneiras diferentes a condições ambientais adversas. Assim, a escolha entre as cultivares deve levar em consideração não apenas o vigor inicial, mas também a estabilidade produtiva e a adaptabilidade às condições locais de cultivo.

A seguir, a Figura 4.3 se refere à Medida 2 da soja NEO 790 IPRO (Figura 4.2), utilizada para melhor visualização do processo de germinação. A partir dessa análise visual, é possível observar claramente as mudanças morfológicas e fisiológicas ao longo das fases germinativas, corroborando os dados quantitativos obtidos pelo NMI. Nas molduras em azul (Fase I), nota-se o crescimento do grão devido à absorção hídrica, enquanto nas molduras verdes (Fase II), a semente permanece praticamente imutável visualmente devido à estabilização da hidratação. Já nas molduras amarelas, a partir da 60^a hora, torna-se macroscopicamente visível o rompimento do tegumento e o início do alongamento da radícula, evento que espelha perfeitamente a elevação abrupta e a posterior estabilização (platô) do sinal óptico (NMI) capturado pela câmera.

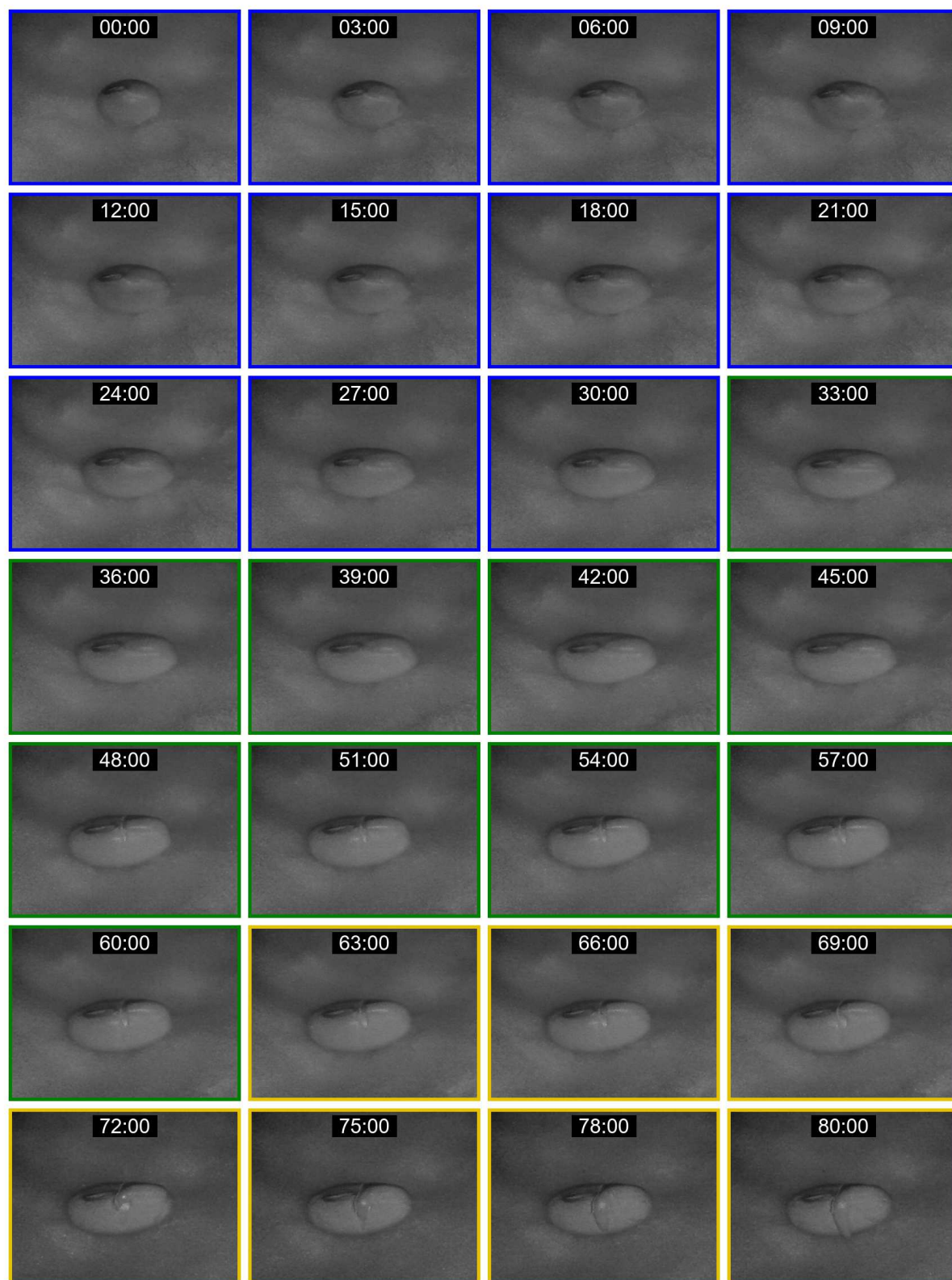


Figura 4.3 – Mosaico da germinação da soja NEO 790 IPRO. A cor azul representa a Fase I, a verde a Fase II e a amarela a Fase III.

5 CONCLUSÃO E PERSPECTIVA

Este trabalho aplicou com sucesso a técnica de *Biospeckle* para monitorar e quantificar a atividade biológica de sementes de soja durante o processo de germinação. Além disso, a técnica mostrou-se uma ferramenta sensível, capaz de capturar eventos microscópicos das cultivares, e não invasiva, permitindo a análise contínua e em tempo real do desenvolvimento fisiológico da amostra sem a necessidade de contato físico com as sementes, operando de forma automatizada.

O Momento de Inércia Normalizado (NMI) provou ser um índice robusto e confiável para a quantificação da atividade biológica, mesmo diante de flutuações inerentes a medições ópticas de longa duração e ao uso compartilhado da instrumentação. Ao adicionar a normalização em relação à intensidade média das imagens de *Laser Speckle* no cálculo computacional, a reprodutibilidade do experimento torna-se possível, independentemente do uso de diferentes instrumentos ópticos, variações nas potências do *laser* ou da distância entre a amostra e a câmera. Embora a taxa de aquisição (FPS) seja uma variável intrínseca ao cálculo, o valor empregado foi padronizado neste estudo, sendo este um parâmetro de fácil ajuste e controle nos *softwares* de câmeras científicas.

Ademais, a análise do comportamento temporal do NMI permitiu a caracterização do processo trifásico de germinação da soja, evidenciando as fases de absorção de água, reativação metabólica e crescimento do embrião, conseguindo espelhar os eventos biológicos macroscópicos. Também foi possível realizar a comparação entre as cultivares Olimpo IPRO e NEO 790 IPRO, revelando diferenças significativas em seus perfis de germinação. Nesse sentido, a técnica do *Biospeckle* demonstrou ser uma ferramenta inovadora para testes de vigor e envelhecimento de diferentes sementes.

Por fim, as perspectivas futuras para a aplicação do *Biospeckle* na agricultura são promissoras. A técnica pode ser ampliada com a integração de sistemas de esteira para viabilizar a análise simultânea de um volume maior de sementes. Outra possibilidade é aplicar a montagem experimental para avaliar sementes submetidas a patógenos, como fungos, estresse hídrico ou variações extremas de temperatura, a fim de verificar a resposta fisiológica da planta a essas condições adversas por meio de imagens de *Laser Speckle*. Portanto, espera-se que o *Biospeckle* seja amplamente adotado no setor, proporcionando dados valiosos para agricultores e pesquisadores e contribuindo para o avanço da ciência agrícola.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, F. D. **Avaliação de métodos para o monitoramento da qualidade do café**. 105 p. Dissertação (Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola)) — Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.
- Bessa Júnior, E. C. **Novo método para medição da largura de feixes gaussianos utilizando imagens de laser speckle**. 54 p. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Física de Materiais)) — Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2025.
- BRASIL. **Comex Stat: sistema oficial de estatísticas de comércio exterior do Brasil**. 2026. Disponível em: <<https://comexstat.mdic.gov.br/pt/home>>. Acesso em: 4 abr. 2026.
- BRASMAX. **Guia de Cultivares Brasmax: Portfólio de Verão**. Passo Fundo, 2023. Acesso em: 23 abr. 2026.
- FRANÇA-NETO, J. d. B.; KRZYZANOWSKI, F. C. **Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina, 2018. 108 p. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1098452/1/Doc406OL.pdf>>. Acesso em: 30 abr. 2026.
- GOODMAN, J. **Introduction to Fourier Optics**. W. H. Freeman, 2017. ISBN 9781319153045. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?id=9zY8DwAAQBAJ>>.
- GOODMAN, J. **Speckle Phenomena in Optics: Theory and Applications**. SPIE Press, 2020. (Press Monographs). ISBN 9781510631489. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?id=3FvmyAEACAAJ>>.
- HARALICK, R. M.; SHANMUGAM, K.; DINSTEN, I. Textural Features for Image Classification. **IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics**, SMC-3, n. 6, p. 610–621, 1973.
- HECHT, E. **Optics**. 5th. ed. Harlow, Essex: Pearson Education Limited, 2017. ISBN 978-1292096933.
- HIRAKURI, M. H.; DALL'AGNOL, A.; OLIVEIRA, A. B.; LAZZAROTTO, J. J. **Socioeconomia - Soja**. 2021. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/soja/pre-producao/socioeconomia>>. Acesso em: 16 abr. 2026.
- JUNIOR, C. A. C. **Estudo de modelos de Machine Learning para detecção de defeitos superficiais em placas de aço**. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Física)) — Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo (EEL-USP), Lorena, SP, 2020. Orientador: Prof. Dr. Durval Rodrigues Junior.
- JUNIOR, R. A. B.; SILVA, B. O.; RABELO, G.; COSTA, R. M.; ENES, A. M.; CAP, N.; RABAL, H.; ARIZAGA, R.; TRIVI, M.; HORGAN, G. Reliability of biospeckle image analysis. **Optics and Lasers in Engineering**, v. 45, n. 3, p. 390–395, 2007.

KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. d. B.; PRADO, J. P. d.; HENNING, F. A. **Teste de condutividade elétrica para avaliar o vigor da semente de soja**. Londrina, 2023. 20 p. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1158188/1/Circ-Tec-199.pdf>>. Acesso em: 30 abr. 2026.

LIBERAL, T. **Probabilidade I: Aula Função Geradora de Momentos**. s.d. Diapositivos de aula. Departamento de Estatística, Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

LOPES, G. R.; BOSCHIERO, B. N. B. **Germinação de Sementes: Guia completo para melhorar a taxa de germinação no campo**. 2024. Disponível em: <<https://agroadvance.com.br/blog-germinacao-de-sementes/>>. Acesso em: 16 abr. 2026.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2. ed. Londrina: ABRATES, 2015.

MARCOS FILHO, J. **Germinação de Sementes**. 2018. Material didático. Departamento de Produção Vegetal, USP/ESALQ.

MARTINEZ, A. P. C.; MARTINEZ, P. C. C.; SOUZA, M. C.; BRAZACA, S. G. C. Alterações químicas em grãos de soja com a germinação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 31, n. 1, p. 23–30, 2011. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cta/a/8vzRSycqnwntwzfC7dH6hMk/>>.

MATOS, M. E. S. d. **Posição das sementes soja com diferentes níveis de vigor no teste de comprimento de plântulas**. 18 p. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia)) — Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2021. Disponível em: <<https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/33268>>. Acesso em: 14 maio 2026.

SALOMÃO, A. N.; SANTOS, I. R. I.; GIMENES, M. A.; SANTANA, D. G. d.; CAVALCANTI, T. B. (Ed.). **Sementes: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa, 2023. Editores técnicos.

SANTOS, A. L. C. **Potencial fisiológico e sanitário de sementes de soja tratadas com *Trichoderma* spp. no controle de *Sclerotinia sclerotiorum***. Dissertação (Dissertação (Mestrado em Agronomia)) — Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, 2026. Disponível em: <<http://doi.org/10.14393/ufu.di.2026.88>>.

SANTOS, F. M. F. dos. **Novos métodos de interferometria de speckle com lasers de impulso: aplicação ao estudo do comportamento dinâmico de estruturas**. Tese (Tese de Doutorado em Engenharia Mecânica) — Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto, 2003.

SILVA, D. M. d. **Interferometria speckle com lasers de diodo multimodo para análise de materiais e dispositivos**. Dissertação (Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Materiais)) — Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

SILVA, E. R. d. **Estudo das propriedades do biospeckle e suas aplicações**. Dissertação (Dissertação (Mestrado em Ciências)) — Instituto de Física, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

SILVA, E. R. d.; MURAMATSU, M. O fenômeno do speckle como introdução à metrologia óptica no laboratório didático. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 29, n. 2, p. 283–286, 2007.

SILVEIRA, F. L. da. **Teorema Central do Limite: exemplificações utilizando o Método de Monte Carlo**. 2015. Material da Disciplina de Métodos Quantitativos. Programa de Pós-Graduação em Ensino de Física (PPGEnsFis), Instituto de Física (IF), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Documento de suporte pedagógico.

VIDAL, M. C.; SILVA, F. T. C. d. Biospeckle laser na determinação de atividade biológica em sementes de milho e soja. In: JORNADA CIENTÍFICA DA UNEMAT. **Anais do Congresso de Iniciação Científica (CONIC)**. 2008. Disponível em: <https://www.unemat.br/eventos/jornada2008/resumos_conic/Expandido_00513.pdf>. Acesso em: 6 maio 2026.

YATES, R. D.; GOODMAN, D. J. **Probability and Stochastic Processes: A Friendly Introduction for Electrical and Computer Engineers**. 3rd. ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2014.

APÊNDICE A – CÁLCULO DA INTENSIDADE $I(x, y, z)$

Neste apêndice, a integral do valor médio temporal do quadrado do módulo do campo elétrico, Equação 12, é calculada detalhadamente.

A definição formal do valor médio temporal da intensidade exige o fator de normalização $\frac{1}{T}$ antes da integral:

$$I(x, y, z) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_{-T/2}^{T/2} |u(x, y, z; t)|^2 dt. \quad (\text{A1})$$

Para resolver essa integral, primeiramente avalia-se o quadrado do módulo do campo elétrico. Considerando que o campo óptico monocromático é dado por:

$$u(x, y, z; t) = A(x, y, z) e^{i2\pi\nu t}, \quad (\text{A2})$$

seu módulo ao quadrado é obtido pelo produto da função pelo seu respectivo complexo conjugado ($|u|^2 = u \cdot u^*$). O termo conjugado u^* inverte o sinal da parte imaginária da exponencial e conjuga a amplitude espacial, resultando em:

$$u^*(x, y, z; t) = A^*(x, y, z) e^{-i2\pi\nu t}. \quad (\text{A3})$$

Multiplicando-se as duas expressões, obtém-se:

$$\begin{aligned} |u(x, y, z; t)|^2 &= u \cdot u^* \\ |u(x, y, z; t)|^2 &= \left(A(x, y, z) e^{i2\pi\nu t} \right) \cdot \left(A^*(x, y, z) e^{-i2\pi\nu t} \right) \\ |u(x, y, z; t)|^2 &= A(x, y, z) A^*(x, y, z) \cdot e^{i2\pi\nu t - i2\pi\nu t}. \end{aligned}$$

Sabendo que $A \cdot A^* = |A|^2$ e que $e^0 = 1$, nota-se que a dependência temporal da expressão desaparece:

$$|u(x, y, z; t)|^2 = |A(x, y, z)|^2. \quad (\text{A4})$$

Em seguida, substitui-se esse resultado na definição original da integral de intensidade, o que fornece:

$$I(x, y, z) = \lim_{T \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_{-T/2}^{T/2} |A(x, y, z)|^2 dt. \quad (\text{A5})$$

Uma vez que o termo $|A(x, y, z)|^2$ não possui dependência em relação à variável de integração t , ele atua como uma constante e pode ser retirado do interior da integral:

$$I(x, y, z) = \lim_{T \rightarrow \infty} \left(|A(x, y, z)|^2 \cdot \frac{1}{T} \int_{-T/2}^{T/2} 1 dt \right). \quad (\text{A6})$$

A avaliação da integral no intervalo de $-T/2$ a $T/2$ resulta no próprio período T :

$$\int_{-T/2}^{T/2} dt = [t]_{-T/2}^{T/2} = \frac{T}{2} - \left(-\frac{T}{2} \right) = T. \quad (\text{A7})$$

Substituindo esse valor de volta na equação da intensidade, os termos temporais se cancelam:

$$\begin{aligned} I(x, y, z) &= \lim_{T \rightarrow \infty} \left(|A(x, y, z)|^2 \cdot \frac{1}{T} \cdot T \right) \\ &= \lim_{T \rightarrow \infty} \left(|A(x, y, z)|^2 \right). \end{aligned}$$

Como o termo resultante independe de T , a aplicação do limite tendendo ao infinito não altera o seu valor, consolidando a identidade final que relaciona a intensidade luminosa ao módulo da amplitude espacial:

$$I(x, y, z) = |A(x, y, z)|^2. \quad (\text{A8})$$

APÊNDICE B – CÁLCULO DA DISTRIBUIÇÃO UNIFORME DE θ

A seguir, detalha-se o passo a passo da resolução da integral da Equação 23.

O objetivo desta integral é encontrar a distribuição de probabilidade marginal da fase θ . Para isso, integra-se a função de densidade de probabilidade conjunta $\rho_{I,\theta}(I, \theta)$ em relação à intensidade I em todo o seu domínio possível (de 0 a ∞):

$$\rho_{\theta}(\theta) = \int_0^{\infty} \rho_{I,\theta}(I, \theta) dI. \quad (\text{B1})$$

Substituindo a expressão da densidade conjunta (Equação 21) na integral e notando que os termos independentes da variável de integração I comportam-se como constantes, é possível retirá-los do integrando:

$$\rho_{\theta}(\theta) = \frac{1}{4\pi\sigma^2} \int_0^{\infty} e^{-\frac{I}{2\sigma^2}} dI. \quad (\text{B2})$$

A integração da função exponencial resulta na própria função dividida pela constante que acompanha a variável no expoente, que neste caso é $-\frac{1}{2\sigma^2}$. Avaliando a primitiva encontrada nos limites de integração, tem-se:

$$\int_0^{\infty} e^{-\frac{I}{2\sigma^2}} dI = \left[-2\sigma^2 e^{-\frac{I}{2\sigma^2}} \right]_0^{\infty}. \quad (\text{B3})$$

No limite em que $I \rightarrow \infty$, o expoente negativo faz com que a função exponencial tenda a zero. Por outro lado, para o limite inferior $I = 0$, o termo exponencial reduz-se à $e^0 = 1$. A subtração desses valores fornece a solução do termo integrado:

$$0 - (-2\sigma^2) = 2\sigma^2. \quad (\text{B4})$$

Por fim, retorna-se à equação principal, multiplicando-se o resultado obtido pela constante que havia sido fatorada da integral:

$$\rho_{\theta}(\theta) = \frac{1}{4\pi\sigma^2} \cdot (2\sigma^2). \quad (\text{B5})$$

Cancelando-se os termos σ^2 e simplificando a fração matemática, obtém-se:

$$\rho_\theta(\theta) = \frac{1}{2\pi}. \quad (\text{B6})$$

Assim, demonstra-se formalmente que a fase de um padrão de *speckle* polarizado e totalmente desenvolvido apresenta uma distribuição de probabilidade uniforme ao longo do intervalo de $-\pi$ a π .

APÊNDICE C – CÁLCULO DE $\langle I \rangle$

A seguir, apresenta-se o cálculo detalhado da integral da Equação 24.

O valor esperado do momento de ordem n é definido pela integração do produto entre a n -ésima potência da intensidade e sua respectiva densidade de probabilidade, avaliada em todo o domínio possível (de 0 a ∞):

$$\langle I^n \rangle = \int_0^\infty I^n \rho_I(I) dI. \quad (C1)$$

Substituindo a expressão da densidade de probabilidade da intensidade, dada por $\rho_I(I) = \frac{1}{2\sigma^2} e^{-\frac{I}{2\sigma^2}}$, e isolando os termos constantes que independem da variável de integração I , a equação assume a seguinte forma:

$$\langle I^n \rangle = \frac{1}{2\sigma^2} \int_0^\infty I^n e^{-\frac{I}{2\sigma^2}} dI. \quad (C2)$$

Para solucionar essa integral analiticamente, emprega-se uma mudança de variáveis. Definindo o termo $u = \frac{I}{2\sigma^2}$, deduz-se que $I = 2\sigma^2 u$ e, conseqüentemente, o diferencial torna-se $dI = 2\sigma^2 du$. Aplicando essas correspondências no integrando, obtém-se:

$$\langle I^n \rangle = \frac{1}{2\sigma^2} \int_0^\infty (2\sigma^2 u)^n e^{-u} (2\sigma^2) du. \quad (C3)$$

Ao reagrupar e fatorar as constantes para fora da integral, a expressão simplifica-se para:

$$\langle I^n \rangle = (2\sigma^2)^n \int_0^\infty u^n e^{-u} du. \quad (C4)$$

Observa-se que a integral resultante corresponde à definição formal da função Gamma, na forma $\Gamma(n+1) = \int_0^\infty u^n e^{-u} du$. Sabendo que, para valores inteiros e não negativos de n , a função Gamma é rigorosamente equivalente ao fatorial de n ($n!$), a integral é solucionada de forma direta:

$$\int_0^\infty u^n e^{-u} du = n!. \quad (C5)$$

Por fim, combinando o termo constante previamente fatorado com o resultado exato da integração, estabelece-se a expressão geral para os momentos da intensidade de um padrão de *speckle*:

$$\langle I^n \rangle = n!(2\sigma^2)^n. \quad (\text{C6})$$

APÊNDICE D – SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DO *SPECKLE*

A seguir está a implementação computacional, em linguagem Python, utilizada como base na simulação das imagens de *speckle* das Figuras 2.11 e 2.14. Nesse sentido, embora se baseie em uma linguagem de programação, é imprescindível a análise física das etapas do programa.

O primeiro passo da simulação consiste em definir o plano de incidência do feixe por meio da distância radial ao quadrado (R^2), visto que os *lasers* de laboratório possuem simetria cilíndrica. Isso significa que a distribuição espacial da luz depende de sua distância em relação ao centro geométrico (eixo óptico) do sistema. Para garantir maior fidelidade física, gera-se computacionalmente um feixe com perfil Gaussiano, caracterizado por apresentar a amplitude máxima do campo elétrico em seu centro, decaindo exponencialmente em direção às bordas. O parâmetro w_0 (cintura do feixe) determina a largura dessa curva, representando o limite físico onde a intensidade luminosa decai para aproximadamente 13,5% do seu valor máximo.

Estabelecida a matriz espacial do sistema, gera-se uma máscara com valores de fase aleatórios, uniformemente distribuídos entre $-\pi$ e π , para simular a rugosidade microscópica de um meio difusor. Esse processo é realizado convertendo-se as fases sorteadas em números complexos, emulando matematicamente as diferenças de caminho óptico impostas à luz. Em seguida, a matriz de amplitude incidente do *laser* é multiplicada por essa máscara. Dessa forma, a frente de onda, inicialmente coerente e estruturada, sofre uma perturbação espacial estocástica. O campo elétrico emergente resultante possui sua distribuição de energia governada pelo perfil do *laser*, mas sua modulação de fase é inteiramente ditada pelas propriedades difrativas do material.

Por fim, a propagação óptica dessa luz espalhada é modelada com base na Teoria da Difração. No regime de Fraunhofer, estabelece-se que o padrão do campo elétrico propagado a uma determinada distância de observação é matematicamente análogo à Transformada de Fourier bidimensional do campo na superfície do objeto, conforme descrito na Equação 9. Como os sensores ópticos registram apenas a energia da luz, a imagem final do padrão de *speckle* é obtida calculando-se o quadrado do módulo desse campo complexo propagado.

```
1 import numpy as np
2 import matplotlib.pyplot as plt
3 from numpy.fft import fft2, fftshift
```

```

4
5 """
6 Função para simulação de Padrão Speckle com Feixe Gaussiano.
7 """
8
9 def simulation_gaussiana(l, w0, x0, y0):
10     # l: Dimensão da matriz
11     # w0: Cintura do feixe
12     # x0, y0: Centro do feixe
13
14     # PASSO 1: Mapeamento Espacial
15     # Geração da malha de coordenadas e cálculo da distância radial R2.
16     x = np.arange(l)
17     y = np.arange(l)
18     X, Y = np.meshgrid(x, y)
19     R2 = (X - x0)**2 + (Y - y0)**2
20
21     # PASSO 2: Perfil do Feixe Incidente
22     # Modelagem da amplitude gaussiana do campo elétrico.
23     amplitude_laser = np.exp(-R2 / w0**2)
24
25     # PASSO 3: Elemento Difractivo
26     # Geração da máscara de fase aleatória (estatística uniforme).
27     fase_aleatoria = np.random.uniform(-np.pi, np.pi, (l, l))
28     mascara_fase = np.cos(fase_aleatoria) + np.sin(fase_aleatoria)*1j
29
30     # PASSO 4: Interação Luz-Objeto
31     # Produto entre a amplitude incidente e a fase do difusor.
32     mask = amplitude_laser * mascara_fase
33
34     # PASSO 5: Propagação e Detecção
35     # Cálculo da difração via FFT2 e obtenção da intensidade final.
36     FT = fft2(mask)
37     FTcent = fftshift(FT)
38     spkl_simul = np.abs(FTcent)**2
39
40     return mask, spkl_simul
41
42 # -----

```

```

43 # EXECUÇÃO E PLOTAGEM
44 # -----
45
46 # Definição dos parâmetros globais da simulação.
47 l = 512
48 w0 = 100
49 x0 = 256
50 y0 = 256
51
52 # Chamada da função para geração do campo complexo e do speckle.
53 mascara, speckle = simulation_gaussiana(l, w0, x0, y0)
54
55 # Inicialização da figura para exibição dos resultados.
56 plt.figure(figsize=(15, 5))
57
58 # Visualização da distribuição de amplitude do feixe.
59 plt.subplot(1, 3, 1)
60 plt.imshow(np.abs(mascara), cmap='gray')
61 plt.title("Amplitude do Laser Incidente")
62 plt.axis('off')
63
64 # Visualização do mapa de fase do elemento difrativo.
65 plt.subplot(1, 3, 2)
66 plt.imshow(np.angle(mascara), cmap='hsv')
67 plt.title("Perfil de Fase Difrataada")
68 plt.axis('off')
69
70 # Visualização da intensidade do padrão speckle simulado.
71 plt.subplot(1, 3, 3)
72 plt.imshow(speckle, cmap='gray')
73 plt.title("Padrão Speckle Simulado")
74 plt.axis('off')
75
76 # Ajuste de layout e exibição final.
77 plt.tight_layout()
78 plt.show()

```
