

Aplicabilidade do laser Biospeckle nas Ciências Agrárias

Josimar Rodrigues OLIVEIRA¹; Neimar de Freitas DUARTE²; Luciano Donizete GONÇALVES³; Francisco Vagner Pereira de SOUZA⁴; Júlio César de Oliveira SILVA⁵; Urbano Teixeira Guimarães e SILVA⁵.

¹Graduando em Engenharia Agrônômica e bolsista do CNPq – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Minas Gerais (IFMG) – Campus Bambuí

²Professor Orientador, Dr. IFMG – Campus Bambuí

³Professor Co-orientador, Dr. IFMG – Campus Bambuí

⁴Graduando em Engenharia Agrônômica e bolsista do PIBIC – IFMG – Campus Bambuí

⁵Graduando em Engenharia Agrônômica – IFMG – Campus Bambuí
Bambuí – MG – Brasil

RESUMO

O Brasil é um país que possui uma economia baseada principalmente em torno das várias atividades voltada as Ciências Agrárias. Pode ser considerado um dos maiores produtores e processadores de alimentos, tanto de origem vegetal, quanto de origem animal. Para que a qualidade de seus produtos continue sendo cada vez melhor e para que o consumidor possa ter em sua mesa produtos de alta qualidade e saudáveis são necessários o uso de diversas técnicas modernas de caráter laboratorial para monitoramento, onde as amostras são destrutivas e necessita da utilização de reagentes caros e técnicas complexas de extração e análises, o que muitas vezes torna muito elevado o custo e viabilidade destas amostras. Após a descoberta do laser de He-Ne, tem se estudado intensamente suas propriedades e aplicações, no intuito de se utilizar a iluminação de materiais biológicos como uma alternativa de análise de baixo custo e fácil operabilidade, através da identificação dos níveis de atividade biológica em diferentes materiais, através de diferentes metodologias de processamento das imagens geradas. O objetivo deste trabalho é apresentar a comunidade acadêmica, pesquisadores e profissionais da área, trabalhos que foram desenvolvidos na área de ciências agrárias com a utilização do Biospeckle com o intuito de viabilizar tais análises com a aplicação desta nova tecnologia, visto que se têm vários resultados de trabalhos com feijão, detecção de fungos em sementes, viabilidade de sementes, sêmen animal, entre outras, mostrando o potencial deste equipamento para análise de tecidos biológicos.

Palavras-chave: Atividade biológica, Speckle dinâmico, Laser He-Ne, Sementes.

INTRODUÇÃO

O Brasil tem inúmeras atividades ligadas ao setor de conhecimento das ciências agrárias que demanda grande uso de análises laboratoriais para manter a qualidade de seus produtos. Portanto é necessário o uso de métodos como cromatografia gasosa, cromatografia líquida de alta performance (HPLC), espectrofotometria de massa, ou mesmo utilizam-se de métodos que apresentam caráter subjetivo.

Isto confere um alto custo para realização destas análises. Com o surgimento da tecnologia laser, esta vem sendo largamente utilizada em experimentos com materiais biológicos a fim de desvendar se há a possibilidade de utilizar este equipamento para determinadas análises nos setores de agricultura, veterinária e alimentos, através da análise das imagens geradas pelo laser, denominado speckle dinâmico ou biospeckle.

O speckle pode ser notado quando se ilumina, com luz laser, material biológico, como por exemplo: sementes, frutos, folhas ou em fenômenos não biológicos como a secagem de pintura, corrosão, dentre outros. Se o objeto difusor se modifica, os grãos individuais do padrão de speckle também alteram. Isso permite supor que os padrões de speckle dinâmico contêm informações sobre o movimento do objeto (Rodrigues et al., 2007).

A atividade do “biospeckle” tem sido extensamente estudada e têm sido propostas algumas formas para se medir a atividade de espécimes biológicos, como por exemplo, fluxo sanguíneo (Dainty, 1970, Asakura et al., 1981, Oulamara et al., 1989, Ruth, 1988).

O objetivo deste trabalho é apresentar a comunidade acadêmica, pesquisadores e profissionais da área, trabalhos que foram desenvolvidos na área de ciências agrárias com a utilização do Biospeckle com o intuito de analisar a viabilidade de sementes, umidade do solo, umidade de sementes, análise da qualidade de sêmen animal, entre outras.

PRINCÍPIOS BÁSICOS DO PADRÃO SPECKLE

Segundo Howarth e Stanwood (1993), as metodologias de análise que envolvem visão artificial e processamento de imagens tem ocupado lugar de destaque nas pesquisas. O biospeckle é uma figura de interferência formada pela reflexão difusa da luz coerente espalhada ao interagir com um objeto que apresenta algum tipo de atividade, biológica ou não. O padrão de interferência se modifica ao longo do tempo devido às estruturas responsáveis pelo espalhamento estarem em atividade. Esse fenômeno tem sido estudado com o intuito de se desenvolver um método rápido e não destrutivo para avaliação de materiais biológicos.

O padrão formado pela luz espalhada é uma figura de interferência complexa que se modifica com o tempo, pois as estruturas responsáveis pelo espalhamento estão em constante atividade, que lhes modifica as propriedades ópticas (Nascimento et al., 2007).

Uma célula, por si só, pode atuar como forte centro espalhador, porém este espalhamento obedece ao regime geométrico, de modo que a luz penetra a membrana plasmática e os espalhamentos dominantes ocorrem nas estruturas internas, que refletem a luz incidente separadas por espaços vazios, que absorvem a luz incidente (Silva, 2007; Nascimento et al., 2007).

ANÁLISES BIOLÓGICAS COM LASER EM TECIDO VEGETAL

Conforme Rabelo (2000), ao incidir e penetrar em um material biológico, a luz laser sofre espalhamentos múltiplos pelas estruturas microscópicas presentes na superfície e em camadas subsuperficiais do tecido analisado. O Biospeckle configura-se como uma valiosa ferramenta no auxílio a estudos de diversas áreas do conhecimento, especialmente a Biologia, Agronomia e a Biomedicina, onde pode entre outras coisas, servir a avaliação do potencial germinativo de sementes e ao mapeamento de vascularização em organismos animais e vegetais (Silva, 2007). De acordo com Rodrigues et al. (2007), a técnica do Biospeckle consegue separar tecidos vivos de tecidos mortos em sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L) para uma dada umidade da semente.

Botega et al., (2009) destaca que a incidência do laser não afeta significativamente a atividade de folhas, confirmando experimentos de Seitz (1979) e os de Rabelo (2000) que avaliou a influência do laser no metabolismo de laranjas, evidenciando que o tecido sujeito a um laser de baixa potência não alterou os resultados do biospeckle no tempo.

Ressalta-se que a influência do laser de baixa potência em outros materiais deve ser avaliada, uma vez que não pode estender os resultados conseguidos pela folha se considerar aspectos como a fotofobia de alguns espécimes ou a fotoativação de espécimes, mesmo com pouca

luz. A análise visual do fenômeno permite apenas observar um fervilhamento sobre o material biológico analisado como mostra a figura 1.

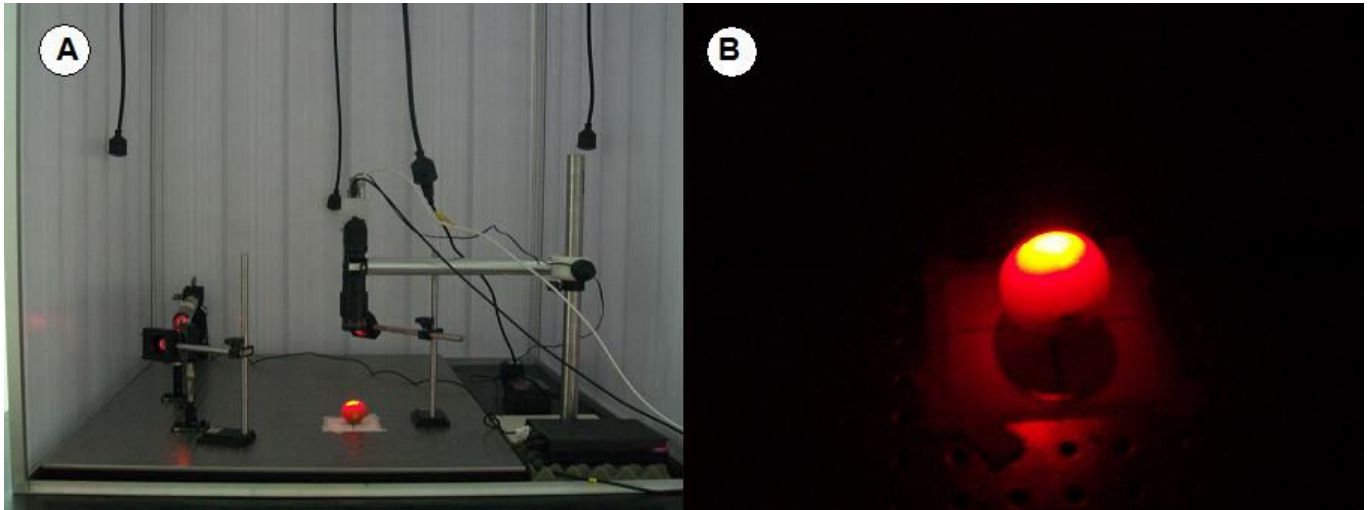


Figura 1 – A) Configuração do Laser para análise de tomate; B) Fervilhamento produzido em fruto de Tomate pela iluminação com o Laser He-Ne.

Como pode ser observado na Figura 2, para que o biospeckle seja quantificado, realiza a captura de imagens em intervalos baixos de tempo sendo aplicado tratamentos matemáticos e estatísticos através de técnicas de processamento de imagens. Na figura 2A são mostrados os equipamentos necessários para a coleta de dados e na Figura 2B pode-se verificar que no momento da Aquisição de dados a câmera CCD captura 512 imagens, no intervalo de 80 milissegundos, que são sobrepostas gerando uma única imagem final.

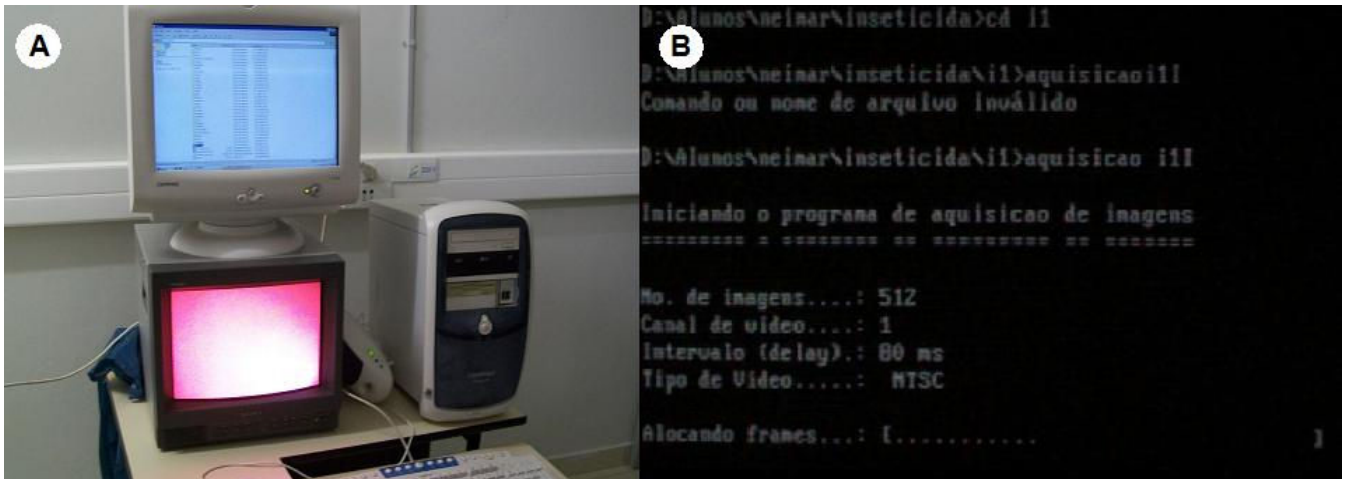


Figura 2 – Sistema de Processamento de Imagens do Laser: A) Microcomputador acoplado a Monitor que exibe atividade biológica do material; B) Aquisição de Imagens via MS-DOS.

Vários autores tem estudado a aplicabilidade desta ferramenta com o intuito de criar uma metodologia mais específica e precisa, eliminando alguns métodos que possam apresentar caráter subjetivo, como o teste do Tetrazólio, utilizado para verificar a viabilidade de sementes.

A técnica do biospeckle foi apresentada como uma metodologia potencial para a análise de sementes, porém indicando a necessidade de maior domínio dos diferentes fatores que podem estar interferindo no fenômeno (Rabal, 1998). Um destes fenômenos a serem isolados seriam os teores de

água do material biológico analisado, que contribui diretamente para o aumento nos valores de Momento de Inércia (MI). Devido a tal fato, Enes et al., (2005) explica que deve ser levado em conta que a atividade biológica das sementes vivas era maior do que a das sementes mortas a ponto de compensar o acréscimo devido à umidade.

Braga Jr. et al. (2001), observou em sementes de feijão que onde a área era iluminada, depois de devidamente processadas as imagens, apresenta um padrão de cinza claro na área de maior atividade biológica e cinza mais escuro na área de menor atividade. Observou-se também que a impureza da semente foi bem reproduzida, obtendo-se uma região mais escura de acordo com o que se esperava. Os resultados conseguidos na Argentina pelo mesmo autor foram similares aos conseguidos no Brasil.

MONITORAMENTO DE SÊMEN ANIMAL COM O BIOSPECKLE

Nas áreas de veterinária, associações verificadas entre o momento de inércia gerado pelo sistema de visão artificial laser e o turbilhonamento e vigor, avaliados pela microscopia de luz, indicam que esta técnica apresenta boa sensibilidade na medida da cinética espermática em ejaculados de animais reprodutores.

Nascimento et al., (2004) destaca que os diferentes padrões de MI apresentados quando foram iluminadas amostras de sêmen ovino não diluído, ou em preparações com o diluidor, demonstram que a concentração espermática influencia as leituras do biospeckle, com a possibilidade de utilização desta tecnologia na andrologia veterinária de forma segura e objetiva a um preço acessível.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente, a busca por recursos nas áreas de ciência e tecnologia, que possuam aplicabilidade e menor custo tem sido intensa. Pode-se dizer que pouco ainda se sabe sobre as aplicabilidades do laser nas ciências agrárias, sendo necessários inúmeras pesquisas a fim de se desenvolver novas metodologias e aplicações deste equipamento, visto o seu grande potencial na detecção de diferenças na atividade biológica dos materiais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASAKURA, T., TAKAI, N. Dynamic laser speckles and their application to velocity measurements of the diffuse object. **Journal of Applied Physics**, v. 25, p. 179-194, 1981.

BOTEGA, J.V.L, BRAGA JR, R.A.; MACHADO, M.P.P.; LIMA, L.A.; FARIA, R.O. Avaliação da interferência do laser no material biológico vivo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.13, n.4, p.483–486, Campina Grande, PB, UAEEA/UFCG, 2009.

BRAGA JR, R.A., BORÉM, F.M., RABAL, H.J., TRIVI, M.R., ARIZAGA, R., DAL FABBRO, I.M., SALEH, B.B. Avaliação da influência da umidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L) na análise pela técnica do biospeckle laser. **Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v.21, n.1, p.101-106, jan. 2001.

DAINTY, J. C. Some statistical properties of random speckle patterns in coherent and partially coherent illumination. **Optical Acta**, v. 17, p. 761-772, 1970.

ENES, A.M.; BRAGA JR., R.A.; RABELO, G.F.; BOREM, F.M.; CARVALHO, M.L.M.; TRIVI, M.; RABAL, H.; ARIZAGA, R.; FABBRO, I.M.D. XXXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola, **Anais....**, Canoas, RS, 2005.

HOWARTH, M. S.; STANWOOD, P. C. Tetrazolium staining viability seed test using color image processing. **Transactions of the ASAE**, Saint Joseph, v. 36, n. 6, p. 1937-1940, Nov./Dec. 1993.

NASCIMENTO, A.L. ; CARVALHO, P.H.A.; RABELO, G.F.; BARRETO FILHO, J.B.; BRAGA JR, R.A.; ALBUQUERQUE, F.T.; RIBEIRO, L.C. Utilização do laser (Biospeckle) para a avaliação de ejaculados *in natura* de reprodutores ovinos. XIII Congresso dos Pós-Graduandos da UFLA, **Anais...**, Lavras, MG, 2004

NASCIMENTO, A.L.; COSTA JR., A.T.; RABELO, G.F.; BRAGA JR., R.A. Desenvolvimento de um modelo para o Biospeckle na análise de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 31, n. 2, p. 456-461, mar./abr., 2007.

OULAMARA, A.; TRIBILLON G.; DUVERNOY J.; ARIZAGA, R.; TRIVI, M.R.; RABAL, H.J. Speckle time evolution characterization by co-occurrence matrix analysis. **Optico e Laser Technology**, v.4-5, n.3, p.1-7, 1989.

RABAL, H.J. Laser na Agricultura Capítulo do Livro: Energia, Automação e Instrumentação. XXVII CONBEA, **Anais...**, 1998.

RABELO, G. F. Avaliação da aplicação do speckle dinâmico no monitoramento da qualidade da laranja. **Tese Doutorado**. Campinas: UNICAMP, 2000. 149p.

RODRIGUES, S.; BRAGA JR., R.A.; RABELO, G.F.; FABBRO, I.M.D.; ENES, A.M. Aplicação do speckle dinâmico na análise de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.9, n.2, p.119-124, 2007.

RUTH, B. Non-contact blood flow determination using a laser speckle method. **Optic laser technology**, v. 20, p. 309-16, 1988.

SEITZ, K. Cytoplasmic streaming and cyclosis of chloroplasts. In: HAUPT, W.; FELNLEIB, M. E.(ed.). **Encyclopedia of plant physiology, new ser.** Berlin: Springer-Verlag, p.150-169, 1979.

SILVA, E.R. Estudo das propriedades do biospeckle e suas aplicações. **Tese de mestrado**, Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, 2007.