
PROJETO DE PESQUISA

Programa de Iniciação Científica e Tecnológica – CBPF

Nome do Orientador e Coordenação (Pesquisador/Tecnologista/Pós-doc):

Fábio de Oliveira Borges (docente do MP do CBPF)

Nome do pesquisador ou tecnologista e Instituição de Pesquisa Externa: (Coorientador ou Colaborador externo, se houver):

Nome do Supervisor e Coordenação: (Pesquisador/Tecnologista):

Título do Projeto: Desenvolvimento de um Sistema Integrado de Análise por Biospeckle para Monitoramento da Germinação de Sementes

Palavra-chave: Speckle dinâmico, atividade biológica, interferência, coerência óptica, processamento de imagens.

Área de conhecimento: Óptica e Laser

Pré-requisitos desejáveis (se houver):

Pré-requisitos obrigatórios (se houver): conhecimento em programação

Possibilidade de orientação remota:

() Sim

(X) Não

1. Introdução

A técnica de biospeckle a laser é uma ferramenta promissora para analisarmos a atividade biológica em tecidos vegetais. Ela se baseia no fenômeno físico da interferência da luz coerente quando esta é espalhada por estruturas internas que estão em movimento. As flutuações temporais no padrão de "speckle" observado estão diretamente relacionadas a processos metabólicos celulares essenciais, como o movimento do citoplasma, o transporte de água através das membranas, a atividade enzimática e a reorganização estrutural durante o desenvolvimento. Em nossa avaliação, a falta de sistemas integrados, financeiramente acessíveis e de operação simplificada, tem limitado substancialmente sua ampla aplicação, tanto na agricultura comercial quanto na pesquisa básica em vegetais.

O processo de germinação envolve uma sequência complexa de transformações fisiológicas e bioquímicas que podemos monitorar de forma eficiente pela detecção do movimento intracelular e do fluxo de água, ambos perfeitamente detectáveis pela técnica de biospeckle. Em nosso projeto, a integração complementar dos métodos LASCA – que nos fornece uma análise espacial da distribuição de atividade por meio de mapas de contraste – e THSP – que nos permite a quantificação temporal da dinâmica metabólica através do cálculo do Momento de Inércia – proporcionará uma visão abrangente e multidimensional do processo germinativo. Esta abordagem dual nos permitirá não apenas a caracterização global da atividade metabólica, mas também a identificação de padrões espaciais específicos associados a diferentes fases do desenvolvimento.

A justificativa técnica e científica do nosso trabalho se assentam em múltiplos pilares: o desenvolvimento de tecnologia nacional acessível para pesquisa em óptica aplicada; a criação de um sistema integrado de hardware e software específico para análise vegetal; o estabelecimento de uma metodologia não destrutiva para avaliação contínua do vigor de sementes; o avanço na compreensão fundamental da relação entre atividade metabólica e desenvolvimento germinativo; e a formação de recursos humanos em instrumentação científica e óptica aplicada à biologia. Vemos a relevância acadêmica e social do projeto na sua interdisciplinaridade entre Física, Computação e Biologia, no seu potencial impacto no setor agrícola por meio de um melhor controle de qualidade de sementes, e no desenvolvimento de competências técnicas em prototipagem e programação científica.

2. Objetivos

Nosso objetivo geral consiste no desenvolvimento de um sistema completo de análise por biospeckle para monitorarmos a germinação de sementes. Isto inclui o projeto, a construção e a validação do aparato experimental, o desenvolvimento de software especializado para processamento LASCA e THSP, e a aplicação na caracterização temporal da atividade metabólica durante o processo germinativo. Esta meta principal se divide em objetivos específicos que organizamos em três dimensões principais.

No âmbito do desenvolvimento de hardware, planejamos:

Projetar e construir uma estrutura mecânica robusta para estabilização óptica com controle de vibrações; Desenvolver um sistema de iluminação coerente com laser diodo e sistema de lentes expansoras; Implementar um sistema de aquisição de imagens; Criar uma câmara ambiental controlada para germinação com monitoramento de temperatura e umidade; Desenvolver um sistema de posicionamento preciso para as amostras vegetais.

Relativamente ao desenvolvimento de software, pretendemos:

Implementar um algoritmo para aquisição de sequências de imagens; Desenvolver um módulo completo de processamento LASCA para geração de mapas de contraste; Implementar a análise THSP com cálculo do Momento de Inércia e matriz de co-ocorrência; Criar uma interface gráfica integrada para controle de aquisição, processamento e visualização; Desenvolver um módulo de análise estatística e exportação de dados.

Na parte de aplicação, almejamos:

Validar o sistema com sementes de leguminosas (feijão e soja); Estabelecer a correlação entre os parâmetros de biospeckle e os estágios morfológicos da germinação; Comparar a sensibilidade dos métodos LASCA e THSP na detecção precoce de viabilidade; Desenvolver um protocolo otimizado para análise de sementes por biospeckle.

3. Metodologia

Em nossa metodologia, organizamos o projeto numa arquitetura modular integrada, compreendendo sistemas complementares de hardware e software. O módulo óptico-mecânico consistirá numa estrutura em perfis de plástico com isolamento térmico, medindo 40x40x30 cm, uma mesa com um sistema para minimizarmos vibrações, um sistema de iluminação com laser diodo de 650nm (5mW) com colimador e filtro de densidade neutra, e um posicionador para alinhamento. O módulo de aquisição será integrado por um computador e uma câmera com foco fixo, iluminação difusa complementar com LEDs brancos, sensor para monitoramento ambiental e um sistema de controle de temperatura. Desenvolveremos a plataforma de software em Python com bibliotecas científicas, interface gráfica e um banco de dados para armazenamento de imagens.

Nosso protocolo experimental utilizará sementes de leguminosas (feijão e soja) distribuídas em três grupos experimentais: um grupo controle com sementes de alto vigor (taxa germinativa >90%), um grupo tratamento com sementes submetidas a envelhecimento acelerado (42°C, 48h) e um grupo teste com sementes de baixo vigor por armazenamento inadequado. Utilizaremos 15 repetições por grupo, totalizando 45 unidades experimentais, mantidas em condições controladas de germinação em papel filtro umedecido, temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade de $70 \pm 5\%$. Realizaremos a aquisição de dados a cada 3 horas durante 168 horas (7 dias), com parâmetros padronizados de 300 frames por sequência, resolução mínima de 512x512 pixels, em condições ambientais controladas e na ausência de vibrações.

Nossa metodologia de análise por biospeckle implementará o processamento LASCA através do cálculo do mapa de contraste espacial $K = \sigma / \langle I \rangle$ com uma janela deslizante de 7x7 pixels para cálculo local, normalização pela intensidade média temporal, geração de mapas de atividade pseudocor e análise de perfis espaciais de bioatividade. O processamento THSP envolverá a construção de matrizes THSP, o cálculo do Momento de Inércia (IM), a análise de matrizes de co-ocorrência (Absolute Value Difference) e o cálculo de parâmetros derivados, como a taxa de variação temporal e a estabilidade temporal.

A validação do sistema compreenderá testes de reprodutibilidade e análise de sensibilidade a variações ambientais. Realizaremos a validação biológica mediante a correlação com medidas tradicionais, como a taxa germinativa e o índice de velocidade de germinação.

4. Cronograma Detalhado (12 meses)

Trimestre 1: Projeto e Aquisição

- **Mês 1:** Pesquisa bibliográfica e especificação técnica.
- **Mês 2:** Aquisição de componentes e configuração do ambiente de desenvolvimento.
- **Mês 3:** Projeto mecânico e elétrico, e início da programação.

Trimestre 2: Desenvolvimento de Hardware

- **Mês 4:** Montagem da estrutura mecânica e do sistema óptico.
- **Mês 5:** Integração eletrônica, sensores e sistema de controle.
- **Mês 6:** Calibração do sistema e testes preliminares.

Trimestre 3: Desenvolvimento de Software

- **Mês 7:** Módulo de aquisição de imagens e controle da câmera.
- **Mês 8:** Implementação dos algoritmos LASCA e THSP.
- **Mês 9:** Interface gráfica e integração final do software.

Trimestre 4: Validação e Análise

- **Mês 10:** Testes com amostras e coleta de dados.
- **Mês 11:** Processamento de dados e análise estatística.
- **Mês 12:** Redação do relatório final e documentação.

5. Referências Bibliográficas

1. RABAL, H. J.; BRAGA JR, R. A. Dynamic Laser Speckle and Applications. CRC Press, 2008.
2. BRIERS, D. et al. Laser speckle contrast analysis (LASCA). Journal of Biomedical Optics, 2001.
3. AIZU, Y.; ASAKURA, T. Bio-speckle phenomena and applications. Optics & Laser Technology, 1991.
4. BRAGA, R. A. et al. Assessment of seed viability by laser speckle. Biosystems Engineering, 2003.
5. CARDOSO, R. R. et al. Biospeckle numerical complexity in seed analysis. Optics Communications, 2011.