# Projeto de Pesquisa

## Estudo da Germinação de Sementes por Técnicas de Holografia Interferométrica

### 1- Justificativas e Metas

Este projeto está centralizado na pesquisa e desenvolvimento de um novo método, baseado em técnicas de holografia, para análise da germinação de sementes agrícolas monocotiledônias e dicotiledônias tais como: arroz, feijão, soja, etc. O projeto será conduzido por dois professores do departamento de física da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), um professor da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) com larga experiência em óptica e holografia, mantido através do programa PREVI da UFJF e por um pesquisador especialista em germinação de sementes do Departamento de Biologia da Empresa Brasileira de Pesquisas Agrícolas (EMBRAPA). A EMBRAPA tem grande interesse no desenvolvimento de um novo método de análise da germinação de sementes, por ser as técnicas usuais extremamente complexas e demoradas. A pesquisa e desenvolvimento de um novo método, rápido e eficiente baseado em técnicas ópticas (holografia interferométrica) além de relevante importância para análise de geminação de sementes representa, sem dúvida nenhuma, uma importante contribuição para a implementação de novos projetos na área de Física e Biologia.

Um dos métodos mais sensíveis para a detecção de pequenos movimentos de objetos (da ordem do comprimento de onda da luz) é utilizando técnicas de Holografia Interferométrica[1]. Com essas técnicas é possível detectar pequenos movimentos de sementes e fazer a distinção entre sementes vivas e mortas. A idéia deste trabalho é observar o movimentos de sementes durante tempos prolongados, acompanhando todo o processo de germinação. Desejamos acoplar ao processo holográfico um sistema isolado que permita controlar a temperatura e a umidade de sementes e fazer a correlação desses parâmetros com o desenvolvimento da semente.

A construção de Hologramas visíveis com luz branca pode ser realizado com mais simplicidade através da configuração de Denisyuk, onde a onda objeto sobrepõe coerentemente com a onda de referência, dando origem a um padrão tridimensional de ondas estacionárias (Fig.1)[2]. A distribuição espacial das franjas de interferência é registrada no interior do material

fotossensível espesso, constituindo assim um holograma em volume, cuja descrição teórica foi fundamentada por Kogelnik[3].

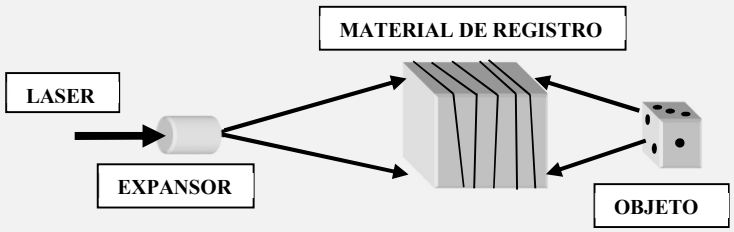


Fig.1- Configuração Holográfica de Denisyuk.

O movimento de sementes em condições de germinação pode ser monitorado pelo processo de **dupla exposição**, onde é gravado um primeiro holograma da semente não perturbada e, em seguida, antes da revelação e na mesma placa, é gravado um segundo holograma da semente quando esta principia a germinar. Como resultado obtém-se duas ondas reconstruídas que sobrepõem e interferem dando origem a um padrão de franjas que traduz o deslocamento dos vários pontos da semente.[4] .

As imagens holográficas podem ser feitas diretamente sobre emulsões holográficas tal como a E75 da AGFA sensível ao vermelho, ou registradas eletronicamente num monitor de TV utilizando uma câmera CCD por um processo denominado "Eletronic Speckle Pattern Interferometry" ou ESPI [5,6,7]. As vantagens deste método são a medida interferométrica dos deslocamentos serem realizados em tempo real e a não necessidade do uso de emulsões para a gravação de imagens holográficas. Um dos nossos objetivos é utilização do método ESPI em etapas iniciais do estudo da germinação de sementes onde serão necessários a realização de um números muito grande de experimentos, necessitando-se portando da gravação de uma grande quantidade de imagens em emulsões holográficas. Além disso, o método ESPI nos proporcionará o desenvolvimentos e a implementação de novos e importantes projetos futuros relativos ao estudo de pequenos movimentos e vibrações de sistemas físicos.

## 2- Metodologia

Nosso laboratório conta atualmente com um sistema holográfico, adquirida temporariamente como empréstimo do departamento de física da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Este sistema mostrado na Fig.2, opera no vermelho utilizando um laser de He-Ne polarizado de baixa potência (4mW) cuja óptica foi projetada para o visível numa configuração de Denisyuk e, está montado sobre uma bancada óptica mecanicamente isolada.

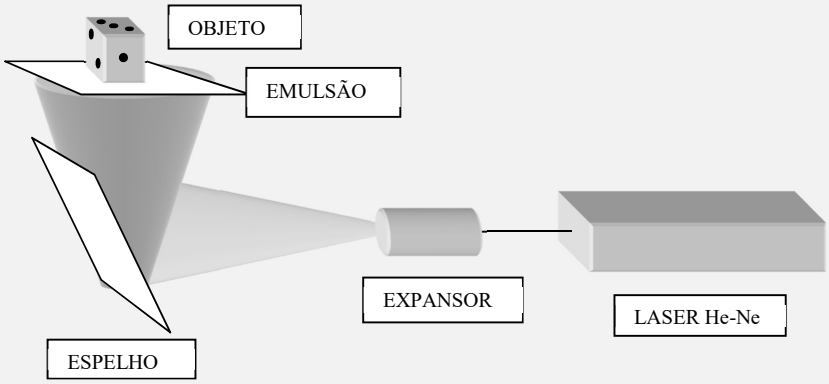


Fig.2- Diagrama esquemático da montagem holográfica

O interferômetro com registro eletrônico de imagens ESPI que montaremos para os testes preliminares da germinação das sementes está esquematizado na Fig.3. O feixe laser de He-Ne de potência de 15mW, é separado pelo divisor de feixe BS1 formando feixe objeto e referência. O feixe objeto é expandido pelo expansor FE1 e direcionado ao objeto pelo espelho M2. O feixe referência atinge o expansor FE2 através dos espelhos M1 e M3. Esta configuração permite a formação de um padrão interferométrico no sensor da câmera, resultante da imagem do objeto formado pela lente L, e uma onda esférica do feixe de referência, através do divisor de feixe BS2. A razão entre as intensidades do feixe referência e objeto devem ser da ordem de (1:10). São produzidas "moires" provenientes da subtração de dois padrões estáticos devida a duas posições do objeto antes e depois do movimento. As imagens gravadas podem ser quantizadas em 8 bits e exibidas em 512×480 pixels. A subtração das duas imagens em módulo pode ser realizada

utilizando-se um software KHOROS em tempo real, através de linguagem C e bibliotecas de processamento de imagens do "frame grabber" [5] .

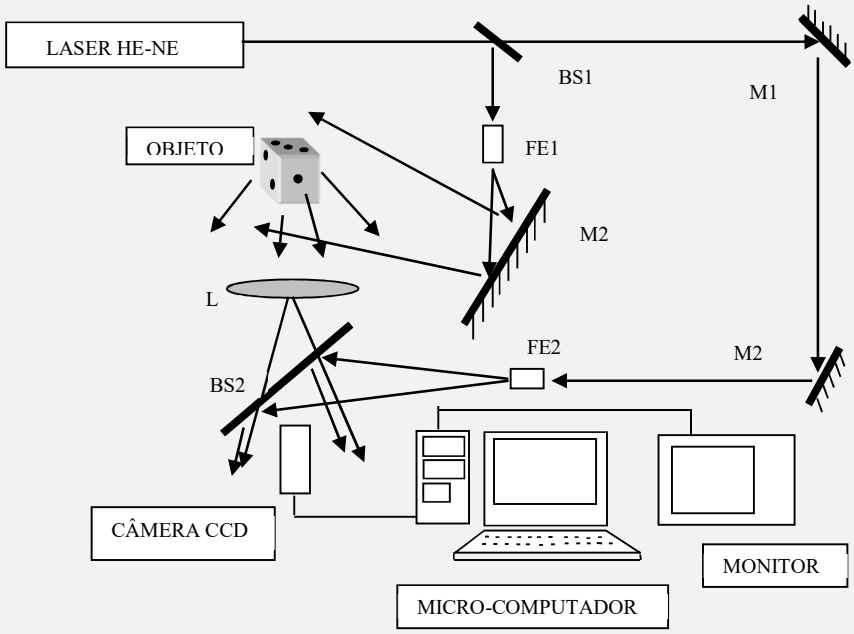


Fig.3- Diagrama Esquemático de um sistema ESPI.

Atualmente os testes de viabilidade que visam determinar se uma semente é ou não, capaz de germinar podem ser diretos ou indiretos. Os testes diretos avaliam diretamente a germinação, promovendo a emergência e avaliação de plântulas das sementes que estão sendo analisadas. Os principais métodos são o teste de germinação e o teste de areia[8]. Os testes indiretos estimam a capacidade germinativa da semente pela medição de outros parâmetros tais como atividades metabólicas e enzimáticas. O teste indiretos que vem apresentando os melhores resultados e difundindo-se em maior escala devido também à uma rapidez relativa da obtenção da estimativa de germinação, é o teste de tetrazólio[8,9].A grande dificuldade desses métodos são a complexidade e o tempo prolongado (até 15dias) para a obtenção de resultados satisfatórios. Assim, um método holográfico poderia se mostrar como uma técnica alternativa, de considerável vantagens em relação à métodos convencionais.

O procedimento que utilizaremos para a determinação das franjas de interferência relativas aos movimentos das sementes que estão germinando baseia-se nas seguintes etapas: Primeiramente é gravado um holograma de um lote de sementes em seu estágio inicial. Em seguida esse lote de sementes é levado a uma câmara de germinação com determinada temperatura (~30º) por 3 horas para estimular a sua germinação, e novamente é feito um holograma dessas sementes. Espera-se

que algumas sementes do lote inicia-se o seu processo de germinação durante o tempo de exposição do holograma. Novamente o mesmo lote de sementes é levado à câmara de germinação onde permanecem por mais 3 horas e, mais uma vez é gravado um holograma desse lote. Repete-se este procedimento por 18 horas e periodicamente toma-se medidas da velocidade dos movimentos das sementes. A história desses movimentos seriam então correlacionadas com a vitalidade das sementes, medidas com os métodos convencionalmente utilizados pelos biólogos.

## 3- Cronograma

O projeto completo está sendo previsto para ter uma duração de dois anos. O primeiro semestre será dedicado para a montagem dos sistemas ópticos e testes preliminares, . No 2° e 3° semestres os experimentos já deverão estar numa fase final de execução. Ainda no 3° e no 4° semestres os resultados experimentais serão analisados e caracterizados. A tabela abaixo mostra o cronograma físico de execussão do projeto.

| CRONOGRAMA | | | | |
|---|---|---|---|---|
| ATIVIDADES | 1º semestre | 2º semestre | 3º semestre | 4º semestre |
| Montagem dos Sistemas ópticos | | | | |
| Realização dos Experimentos | | | | |
| Análise e Caracterização dos Resultados | | | | |

## 4- Materiais

Nesta seção é apresentado todos os materiais permanentes e de consumo, nacionais e importados, juntamente com as respectivas cotações atuais de mercado. No final, é calculado o montante total necessário para a concretização do projeto.

## 4.1- Materiais permanentes

### 4.1.1- Permanentes importados

| *Material* | *Preço(R$)* |
|---|---|
| *Lentes* | *630,00* |
| *Espelhos planos* | *450,00* |
| *Espelhos esféricos* | *450,00* |
| *Objetivas (40x, 20x, 10x, 5x)* | *2.160,00* |
| *Suportes para objetivas* | *112,00* |
| *Pin-Holes (5mμ, 10μm, 20μm)* | *360,00* |
| *Detectores calibrados com medidor (IR, UV, VI)* | *3000,00* |
| *Detectores convencionais (IR, UV, VI)* | *270,00* |
| *Laser de He-Ne (0.5mW, 2mW, 30mW)* | *4000,00* |
| *Filtros de interferência* | *1080,00* |
| *Amplificador Lock-in (modelo EGG 5210)* | *5174,00* |
| *Chopper* | *270,00* |
| *Goniômetro* | *1180,00* |
| *Diafragmas* | *300,00* |
| *Polarizadores* | *360,00* |
| *Bancadas óptica* | *2925,00* |
| *Osciloscópio* | *3150,00* |
| *TOTAL* | *25.871,00* |

### 4.1.2- Permanentes nacionais

| *Material* | *Preço(R$)* |
|---|---|
| *Aparelho de ar condicionado* | *1800,00* |
| *Micro computador e acessórios* | *2500,00* |
| *Impressora* | *600,00* |
| *Câmera CCD* | *2000,00* |
| *Monitor de TV* | *500,00* |
| *TOTAL* | *7400,00* |

## 4.2- Materiais de consumo

### 4.2.1- Consumo importado

| *Material* | *Preço(R$)* |
|---|---|
| *Filme holográfico* | *500,00* |
| *Revelador* | *300,00* |
| *TOTAL* | *800,00* |

### 4.2.2- Consumo nacional

| *Material* | *Preço(R$)* |
|---|---|
| *Suportes para espelhos* | *400,00* |
| *Transladadores horizontais* | *150,00* |
| *Suportes de placas* | *100,00* |
| *Bastões cilindricos* | *100,00* |
| *Grampos de mesa* | *120,00* |
| *Trilhos* | *300,00* |
| *Carrinhos para trilhos* | *200,00* |
| *Nitrogênio* | *500,00* |
| *Parafusos Halen (M3, M4, M6)* | *100,00* |
| *Polietileno para forração da pia* | *400,00* |
| *Materiais elétricos* | *200,00* |
| *Materiais hidráulicos* | *200,00* |
| *Consumo em geral ( metais, parafusos, colas, lâmpadas, etc.)* | *200,00* |
| *TOTAL* | *2970,00* |

## 5- Referências:

[1] José J. Lunazzi e Lauro Wickert, “Um Equipamento Prático para Holografia Interferométrica”, Atas do V Simpósio Nacional de Ensino de Física, Belo Horizonte (1982).

[2] Y. N. Denisyuk, “On the reflection of optical properties of an object in a wave field of light scattered by it”, Opt. Spektrosk. 18, 275-283 (1965).

[3] H. Kogelnik, “Coupled wave theory for thick hologram gratings”,Bell Syst. Tech. J. 48, 2909-2947 (1969).

[4] B. Lescher, “Holgrafia Aplicada à Germinação de Sementes”, XIX Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada, Julho de 1992.

[5] Gelio M. Ferreira, “Análise de Vibrações por Interferometria “Speckle”Utilizando Processamento Digital de Imagens”, Dissertação de Mestrado, USP(1994).

[6] J. R. Tyrer, “Critical Review of Recents Developments in Eletronic Speckle Pattern Interferometry”, Proc. Spie 604, 95 (1986).

[7] A. Albertazzi, A. G. Araújo e P. A. M. Rojas, “Análise de Tensões Residuais em Tubo de Aço através da Extensiometria e Holografia Eletrônica”, Proc. Simp. Bras. Sobre Tubos e Vasos de Pressão(1998).

[8] F. Popinigis, “Fisiologia da Semente”, ed. AGIPLAN(1977).

[9] A. de Almeida Lula, “Estudo Fisiológico da Germinação de Setaria anceps cv. Kazungula e Paspalum Paniculatum”, Dissertação de Mestrado, UFLA(1998).