Análise de rugosidade de fungos através de dimensão fractal *

MUCHERONI, MARCOS L. MATIAS, VALÉRIO DA ROCHA

UFSCar - Universidade Federal de São Carlos Grupo de Arquitetura, Processamento de Imagens e Sinais marcos,valerio@dc.ufscar.br

Abstract: This work presents some preliminary results of the use of the fractal box counting method to estimate the roughness in fungal mycelia colonies, named *pellets*. A relationship between fractal dimension and roughness is stablished. Considering that the format of fungal colonies is aproximately spherical and symmetric, a section of a microscopic image of a *pellet* is used in a threshold method to detect its border, which determines a curve. The fractal box couting method is applied to this curve.

1 Introdução

Trabalhos recentes [Kent & Thomas (1994)] e [Lendenfeld (1993)] analisam um conjunto de técnicas de processamento de imagens na caracterização e diferenciação das diversas etapas de crescimento de microorganismos.

Técnicas para caracterização da estrutura inicial ramificada destes microorganismos, na forma de hifas, têm sido desenvolvidas para determinação do Fator de Crescimento das Hifas (em inglês HGU, Hyphal Growth Unit), e seus resultados iniciais foram apresentados recentemente [Mucheroni & Reis(1995)].

A produção de antibióticos a partir de microorganismos filamentosos, tais como *Penicillium crysogenum*, está relacionada ao estado fisiológico das células destes fungos, o qual depende do modo complexo de crescimento do ambiente no qual ocorre a fermentação.

Em uma etapa posterior a estrutura ramificada forma colônias de microorganismos tomando forma aproximadamente esféricas, sendo então chamadas de *pellets*.

Para caracterização fisiológica destes *pellets* um método utilizando o Modelo Espectral Auto-Regressivo foi desenvolvido [Ribeiro e outros (1995)], porém este método apresenta necessidade de precisão na aquisição e controle de escala das imagens, além de custo computacional bastante alto.

Assim procurou-se um método mais simples baseado na medida de dimensão fractal do perfil de uma seção transversal da imagem dos *pellets* usando o método *box counting*, sobre o qual alguns trabalhos recentes apontam cuidados que devem ser tomados na sua aplicação [Coelho & Costa (1995)].

A definição de dimensão D de Hausdorff-Besicovitch diz que uma curva pode ser medida encontrando-se o número $N(\delta)$ de segmentos de comprimento δ que a formam. Para uma curva qualquer, portanto, tem-se, tomando um comprimento inicial L_0 e seu comprimento total L:

$$L = N(\delta) \to L_0 \delta^0$$
 (1)

Ou seja, no limite a medida L torna-se assintoticamente igual ao comprimento da curva e é independente de δ .

A área associada portanto seria:

$$A = N(\delta)\delta^{2}_{\delta \to 0} \to L_{0}\delta^{1}$$
 (2)

Para estabelecer uma medida de tamanho sobre um conjunto de pontos, uma função teste é tomada:

$$h(\delta) = \gamma(d) \, \delta^d \tag{3}$$

onde γ (d) é um fator geométrico igual a 1 para linhas, quadrados e cubos, π /4 para discos e π /6 para esferas.

Observando isto e que a relação entre perímetro/ (área)^{1/2} para curvas fechadas é constante, tem-se:

$$\delta_D = \left[L(\delta)\right]^{1/D}/[A(\delta)]^{1/2} \tag{4}$$

onde $L(\delta)$. $A(\delta)$ e D são perímetro, área a Dimensão Fractal, respectivamente [Mandelbrot (1985)].

² Medidas de dimensão fractal

^{*}Projeto apoiado pelo CNPq proc. n. 520975/95-2

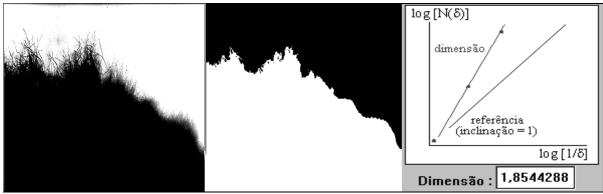


Figura 1 - (a) imagem de um pellet; (b) threshold bi-nível, e (c) a dimensão fractal e reta de referência.

3 O método box-counting aplicado a pellets

Neste trabalho, é aplicada técnica de medida da dimensão fractal, na qual, considerando-se uma figura qualquer coberta por um conjunto de quadrados de lado δ, deve-se contar o número de quadrados necessários para cobrir a figura $N(\delta)$. De acordo com a definição (4), encontra-se a dimensão fractal da figura determinando-se a inclinação da reta obtida tracando-se $\log [N(\delta)]$ contra $\log 1/\delta$. Esta dimensão fractal D assim obtida é chamada box counting dimension ou box dimension. A análise é feita a partir de imagens microscópicas fotografadas de culturas de Penicillium crysogenum, em sua fase final, quando são chamadas de pellets e são aproximadamente esféricas. A determinação da rugosidade está relacionada com a dimensão fractal e é um fator importante no controle destes fungos.

A obtenção de informações sobre rugosidade nas imagens, no caso do *Penicillium Crysogenum*, seguirá a um tratamento de *threshold bi-nível*, no qual o perfil dos *pellets* é obtido traçando-se um limiar de 2 níveis dos tons de cinza, o que resulta nas formas de uma curva ou de pontos agrupados, para posteriormente realizarem-se medidas com o uso do método *box dimension* descrito anteriormente.

Na ilustração da figura 1 tem-se: 1(a) *pellet*, 1(b) *threshold bi-nível*, na figura, e 1(c) a medida da dimensão fractal incluindo uma reta de referência.

4 Conclusões

O método Box-Counting tem se revelado importante na medida de rugosidade em colônias de micro-organismos, denominadas *pellets*.

Desenvolvimentos posteriores, neste trabalho em andamento, devem possibilitar as medidas em diversas fases da cultura e relacionar de modo preciso o estágio da cultura com a rugosidade através da dimensão fractal D.

Agradecimentos

Ao prof. Dr.Claudio T. Suazo, coordenador do Projeto CNPq n. 520975/95-2, e à sua orientanda, aluna Ana Cláudia, que obteve pacientemente as fotos dentro dos padrões necessários para este trabalho.

Referências Bibliográficas

[Coelho & Costa (1995)] COELHO, R. C. & COSTA, L. da F. - "The Box-Counting Fractal Dimension: Does it Provide an Accurate Subsidy for Experimental Shape Characterization? If So, How to Use It?", Anais do Sibgrapi'95: p. 183-191, 1995.

[Kent & Thomas(1994)] KENT, G.J.F. & THOMAS, J. - Image Analysis for characterizing differentiation of *Penicillium crysogenum*, Trans. IChem,72C, 95-105, June 1994.

[Lendelfeld (1993)] LENDELFELD, T.; GHALLI, D.; WOLSEHEK, M.; e KUBICEK-PRANZ, C.P. Subcellular compartmentation of penicillin biosynthesis in *Penicillium crysogenum*. J. Biological Chemistry, 268, p. 665-571, 1993.

[Mandelbrot (1985)] MANDELBROT, B.B.: Self-affine fractals and fractal-dimension, Phys. Scr. 32, p. 257-260, 1995.

[Mucheroni & Reis (1995)] MUCHERONI, M.L. & REIS Jr., R.A. "Medidas em culturas de fungos com uso de operadores morfológicos", Anais do Sibgrapi'95:p. 289-290., 1995.

[Ribeiro e outros (1995)] RIBEIRO, E.; Mucheroni, M.L.; Suazo, C.T. e Cruvinel, P.E.; - "Análise de rugosidade em imagens microscópicas utilizando modelo espectral auto-regressivo com aplicação a biotecnologia", *Anais do 2º. Simpósio Brasileiro de automação inteligente*, Curitiba,p. 261-265, 1995.