



SISTEMA DE CONTAGEM AUTOMÁTICA DE OVOS DO FOLSOMIA CANDIDA EM TEMPO REAL E MONITORAMENTO DE ECLOSÕES

Palavras-Chave: MONITORAMENTO, PROCESSAMENTO DIGITAL DE IMAGEM, OPEN CV

Autores:

MIRIÃ LAÍSLA NASCIMENTO DE SOUSA, FT, UNICAMP

Prof. Dr. TALÍA SIMÕES DOS SANTOS XIMENES (orientadora), FT, UNICAMP

Prof. Dr. MARTA SIVIEIRO GUILHERME PIRES (coorientadora), FT, UNICAMP

Me. RODRIGO LUIZ XIMENES (colaborador) FT, UNICAMP

INTRODUÇÃO:

O uso de sensores disponíveis atualmente em pesquisas biológicas têm apresentado limitações, tornando essencial o desenvolvimento de novas técnicas de instrumentação. Diante dessa necessidade, a utilização de organismos como sensores biológicos vem sendo adotada, especialmente em estudos de toxicidade do solo, com foco na análise do comportamento dos organismos quando expostos a diferentes concentrações de substâncias químicas [1].

O *Folsomia candida* (Collembola) é um organismo integrante da fauna edáfica que desempenha funções cruciais no solo, como a ciclagem de nutrientes e a fertilidade, além de se mostrar um excelente bioindicador devido à sua sensibilidade às mudanças ambientais [2]. Dentre os sensores biológicos utilizados, destaca-se a utilização dos colêmbolos (*Folsomia candida*) como bioindicadores da Ecotoxicidade de solos contaminados, devido à facilidade de aplicação e ao tempo reduzido de

duração dos testes em comparação com outras abordagens [3]. Para a realização das análises, observam-se os efeitos na reprodução do *Folsomia* com idade entre 10 e 12 dias [4].

Conforme estabelecido pela norma ABNT NBR ISO 11267, é imprescindível o registro da data e hora da eclosão dos ovos dos organismos (ABNT). Para esse propósito, a contagem e o monitoramento da eclosão são realizados por meio de análise visual [5].

A identificação precisa do momento de eclosão dos ovos durante o monitoramento permitirá emitir alertas aos responsáveis pelo acompanhamento dos ovos de *Folsomia* no Laboratório de Ecotoxicidade do Solo (Laecos) - FT/Unicamp. Isso possibilitará evitar o desperdício de organismos com idade inferior a 10 a 12 dias, além de eliminar a necessidade de monitoramento diário por um indivíduo no laboratório. Além disso, será possível estimar a quantidade de testes que podem ser realizados com base no número médio de ovos contados. Essa abordagem otimizada contribuirá para a eficiência dos testes de Ecotoxicidade do solo,

fornecendo informações valiosas para a avaliação da qualidade ambiental.

METODOLOGIA:

Para realizar este estudo, foi desenvolvido um sistema de monitoramento para a eclosão dos ovos de *Folsomia candida*, com o objetivo de contar e identificar os organismos recém-nascidos. O sistema foi implementado com base na biblioteca de visão computacional *OpenCV*, utilizando a linguagem de programação *Python*. O esquema completo do sistema proposto pode ser visualizado na Figura 1.

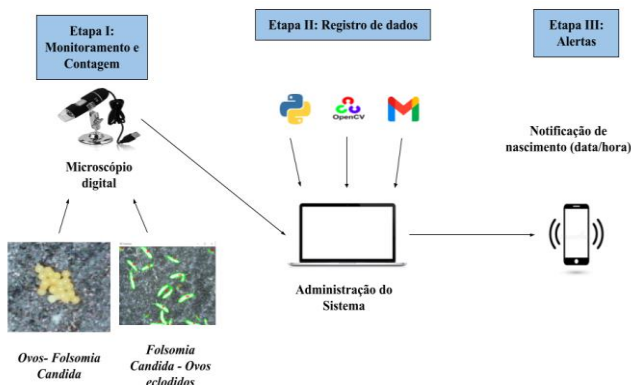


Figura 1 – Diagrama do sistema implementado. Fonte: autores.

A) PREPARAÇÃO DO SISTEMA DE MONITORAMENTO

Inicialmente, os ovos de *Folsomia candida* foram transferidos para um recipiente de vidro especialmente projetado para este propósito. Esse recipiente foi equipado com iluminação embutida, utilizando LEDs e resistores, controlados por um regulador de tensão. Essa configuração é adotada para evitar o embaçamento do vidro durante as gravações e garantir a nitidez das imagens capturadas pelo sistema. O recipiente pode ser visualizado na Figura 2.



Figura 2 – Recipiente projetado como "incubadora" para os ovos. Fonte: autores.

Adicionalmente, o recipiente é inserido dentro de uma BOD, que basicamente é uma geladeira que possui o intuito de criar condições ideais de temperatura, umidade e ausência de luz para que as amostras sejam analisadas. Essa medida permite manter os ovos em uma condição estável, com temperatura entre 20°C e 22°C, de acordo com as diretrizes estabelecidas pela norma ABNT NBR ISO 11267, proporcionando um ambiente propício para o desenvolvimento dos ovos.

A presença dos resistores no recipiente assegurou que a temperatura externa se mantenha igual à temperatura interna da placa de vidro, prevenindo a formação de umidade durante o processo de monitoramento. Essa abordagem é fundamental para garantir a integridade dos dados e a precisão das informações coletadas.

B) MONITORAMENTO DA ECLOSÃO DOS OVOS

O algoritmo de monitoramento consiste em capturar frames de um vídeo em tempo real, realizar a detecção de movimento utilizando técnicas de limiarização e contornos, e notificar automaticamente via e-mail quando ocorre a eclosão dos ovos. Para isso, é necessário posicionar adequadamente a câmera microscópica digital e aplicar filtros para eliminar ruídos e obter uma imagem nítida dos ovos.

A captura das imagens é realizada por meio da câmera microscópica digital posicionada estrategicamente para obter imagens de alta resolução dos ovos em culturas separadas. O recipiente projetado em A) apresenta um menor diâmetro. Essa medida tem como propósito reduzir a área que a câmera iria focalizar, facilitando o monitoramento dos ovos.

O algoritmo desenvolvido possibilita a detecção da primeira movimentação dos organismos recém-nascidos, permitindo a gravação da data/hora do nascimento.

C) CONTAGEM DOS OVOS ECLODIDOS

Após a identificação da movimentação, uma contagem dos organismos é realizada depois de alguns dias da eclosão, utilizando uma combinação de filtros de Processamento Digital de Imagens (PDI) - *cv2.Laplacian*, *cv2.GaussianBlur*, *cv2.threshold* e *cv2.Canny*.

Esses filtros foram aplicados para obter imagens nítidas e claras, permitindo a estimativa da quantidade de ovos que eclodiram por meio da identificação e numeração dos contornos presentes na imagem. Através da aplicação de técnicas de limiarização e processamento de contornos, o algoritmo detecta e conta a quantidade de *Folsomia candida* presente na imagem.

D) NOTIFICAÇÃO DA DETECÇÃO DE MOVIMENTO E QUANTIDADE DE OVOS ECLODIDOS

Além disso, um sistema de notificação por e-mail foi implementado para fornecer informações relevantes aos pesquisadores. Quando ocorre a detecção da primeira eclosão, o sistema envia automaticamente e-mails com a data/hora do nascimento dos organismos e a

contagem realizada após 10 dias. Após alguns dias da eclosão, uma contagem é feita e esses dados também são enviados via e-mail.

Essa opção de notificação via e-mail foi escolhida em detrimento de um aplicativo Android inicialmente proposto, devido à facilidade de comunicação e acesso rápido às informações. A notificação por e-mail mostrou-se mais relevante para as pessoas responsáveis pela separação das culturas de *Folsomias*, pois permitiu o conhecimento imediato do nascimento dos organismos, sem a necessidade de acessar um banco de dados.

E) FLUXOGRAMA DO ALGORITMO E PRINCIPAIS FUNÇÕES

O algoritmo de monitoramento e contagem foi desenvolvido utilizando a biblioteca *OpenCV* (*Open Source Computer Vision Library*) para manipulação de imagens e vídeos, além das bibliotecas padrão do *Python*, como *'datetime'*, *'smtplib'*, *'os'*, *'email.mime'*, para manipulação de data e hora, envio de e-mails e interação com o sistema operacional.

A Fig. 3 mostra o fluxograma completo dos dois algoritmos em conjunto, visando a detecção completa. Essa integração se dá por meio da combinação das funcionalidades de monitoramento de *Folsomia* em tempo real e da sua contagem em imagens estáticas.

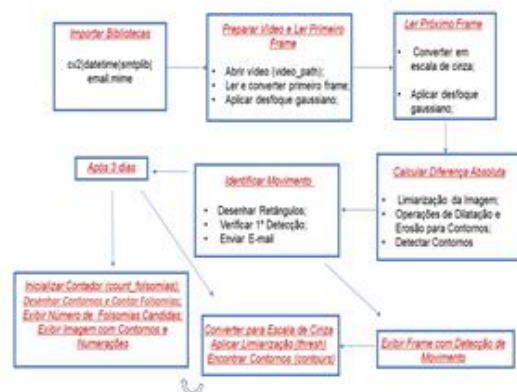


Figura 3 – Fluxograma dos algoritmos do projeto. Fonte: autores.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Após a detecção de movimentação, o sistema realiza o contorno da região identificada, marcando-a com um retângulo de cor verde, conforme pode ser visto na Figura 4. Além disso, o momento da detecção é arquivado como uma imagem no formato .png. Essa abordagem possibilita a documentação visual dos eventos de eclosão, proporcionando uma melhor compreensão e registro dos resultados obtidos ao longo do monitoramento. A Figura 4 exemplifica esse processo, demonstrando como a imagem é armazenada e preservando o momento exato da detecção para análises futuras.



Figura 4 – Detecção e arquivamento de movimentação de *Folsomia candida*. Fonte: autores.

É importante ressaltar que o intuito de arquivar como imagem o momento em que houve a detecção de movimento é para possibilitar o envio via e-mail da imagem como anexo, Figura 5, comprovando de forma visual que houve o nascimento do *Folsomia candida*. Essa medida reforça a confiabilidade das notificações enviadas aos pesquisadores, permitindo que eles tenham acesso direto à evidência visual do momento da eclosão dos ovos, tornando o processo de monitoramento mais transparente e preciso. Dessa forma, a utilização de imagens anexadas aos e-mails de notificação complementa as informações transmitidas, assegurando a comprovação dos

resultados e facilitando a compreensão do desenvolvimento dos organismos ao longo do estudo.

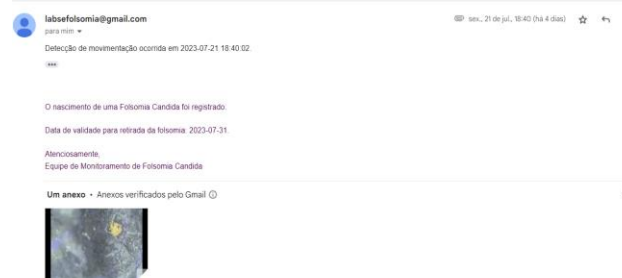


Figura 5 – Notificação do nascimento do *Folsomia* com data/hora e prazo máximo para retirada da cultura (10 dias). Fonte: autores.

Após a identificação da movimentação, uma etapa crucial do projeto foi conduzida para realizar a contagem dos organismos que eclodiram dos ovos. Esse processo ocorreu alguns dias após a detecção da eclosão e se baseou na aplicação de filtros avançados de Processamento Digital de Imagens (PDI), incluindo *cv2.Laplacian*, *cv2.GaussianBlur*, *cv2.threshold* e *cv2.Canny*.

A combinação desses filtros foi fundamental para aprimorar a nitidez e clareza das imagens obtidas, garantindo uma representação visual precisa dos organismos. Através dessa técnica de PDI, tornou-se possível destacar e contornar com precisão cada *Folsomia* que nasceu dos ovos após a eclosão.

Essa abordagem permitiu estimar de maneira confiável a quantidade de ovos que efetivamente eclodiram, revelando informações essenciais para a condução dos testes de ecotoxicidade do solo. A contagem e o contorno de *Folsomia* proporcionaram uma análise quantitativa robusta, complementando o monitoramento em tempo real e fornecendo dados relevantes para a seleção criteriosa das culturas ideais para os testes.

A Figura 6 ilustra o resultado desse processo, apresentando uma imagem com os organismos contornados individualmente e numerados após a aplicação dos filtros de PDI.

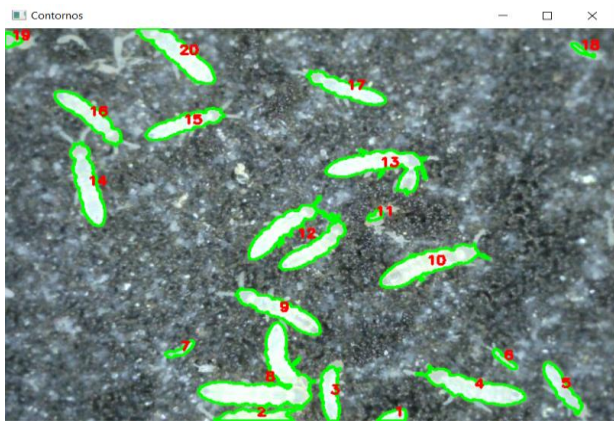


Figura 6 – Contagem e contorno de *Folsomia candida* após a eclosão. Fonte: autores.

A imagem da Figura 6 é enviada por e-mail como um anexo, acompanhada de uma mensagem contendo a quantidade total de *Folsomia* que foram geradas pela cultura após a eclosão.

CONCLUSÕES:

O sistema implementado mostrou resultados satisfatórios na separação das culturas de *Folsomia candida* (idade de 10 a 12 dias) para estudos de ecotoxicidade do solo. A integração do algoritmo de detecção de movimento em tempo real com a contagem e contorno de *Folsomia* em imagens estáticas permitiu um acompanhamento preciso dos eventos de eclosão e estimativa confiável da quantidade de ovos eclodidos.

O recipiente especialmente projetado, com iluminação embutida de LEDs e resistores controlados, proporcionou um ambiente ideal para o desenvolvimento dos organismos, sendo adaptável para diferentes ambientes de pesquisa e laboratórios.

Ao centralizar o sistema em um servidor local e utilizar notificações por e-mail para os pesquisadores, possibilitou-se a comunicação ágil dos eventos de eclosão em tempo real e um acompanhamento contínuo dos resultados.

Em síntese, este projeto oferece ferramentas para a análise de organismos bioindicadores, permitindo o monitoramento em tempo real do seu desenvolvimento e a contagem após a eclosão.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Ximenes, R. L. et al. "Behavioral Analysis of *Folsomia Candida* (Collembola) with Herbicide Using Elec-tronic and Computational Instrumentation: Bioassays". Em: Soil and Sediment Contamination: An International Journal 29.5 (2020), pp. 545–556.
- [2] Lin, X. et al. "The toxicity of exogenous arsenic to soil-dwelling springtail *Folsomia candida* in relation to soil properties and aging time". Em: Ecotoxicology and Environmental Safety 171 (abr. de 2019), pp. 530–538.
- [3] Natal-da-Luz, T. e Sousa, J. P.. "Avoidance Tests in Site-Specific Risk Assessment - Influence of Soil Properties on the Avoidance Response of Collembola and Earthworms". Em: Environmental toxicology and chemistry / SETAC preprint (jan. de 2008), p. 1.
- [4] "Qualidade do solo - Inibição de reprodução de Collembola (*Folsomia candida*) por poluentes do solo". Em: ABNT NBR ISO 11267 (2019).
- [5] Caridade, C. M. R. et al. "Automatic counting the number of Collembola in digital images". Em: 2011 4th International Congress on Image and Signal Processing. Vol. 4. 2011, pp. 1837–1841.