

TÉCNICAS ESTATÍSTICAS APLICADAS EM IMAGENS DO SPECKLE DINÂMICO

Ricardo Marques da COSTA¹
Theima SÁFADI²
Giovanni Francisco RABELO³
Roberto Alves BRAGA JUNIOR³

- RESUMO: O presente trabalho utilizou análise de agrupamento em imagens obtidas de células de sêmen bovino iluminados por laser. Os grupos consistiam em índices de baixa, média e alta atividade celular obtidos do momento de inércia. Os resultados mostraram que as técnicas de análise multivariada foram aplicadas com sucesso ao conjunto de células vivas, possibilitando a redução da dimensão das estruturas e facilitando a interpretação das análises pela construção de clusters compostos de um número menor de informações. Observou-se o decaimento natural dos índices de atividade celular com o decorrer do tempo e a separação das matrizes STS's em grupos pré-definidos que continham linhas com diferentes índices de atividade celular.
- PALAVRAS-CHAVE: *Speckel* dinâmico; matriz STS; análise de agrupamento; momento de inércia.

1 Introdução

A apreciação de materiais biológicos por meio da análise de imagens e utilização da visão de máquina é de fundamental importância para diversos campos da ciência. Esforços têm sido despendidos no sentido de melhorar a resolução e reduzir o tempo de processamento computacional e assim, contribuir para a melhoria da qualidade dos resultados.

Alguns métodos e técnicas baseados nos fenômenos de interferência e sobreposição de ondas se destacam no campo da astronomia, da mecânica, da sismologia e da metrologia óptica em geral.

Este trabalho tem por finalidade aplicar as técnicas de análise multivariada no estudo de um conjunto de imagens, obtidas de células vivas de sêmen bovino, iluminadas por laser. Para isso, realizou-se a separação, com base no Momento de Inércia (MI), das 512 linhas de cada matriz STS (Spatial Temporal Speckle) em três grupos de índices de atividade celular (baixo, médio e alto) por meio da técnica de análise de agrupamento.

¹ Universidade Presidente Antônio Carlos, Curso de Sistemas de Informação, CEP 36301-182 - São João Del Rei, MG, Brasil. E-mail: ricardofsj@gmail.com

² Universidade Federal de Lavras - UFLA, Departamento de Ciências Exatas, Caixa Postal 3037, CEP: 37200-000, Lavras, MG, Brasil. E-mail: safadi@dex.ufla.br

³ Universidade Federal de Lavras - UFLA, Departamento de Engenharia, Caixa Postal 3037, CEP: 37200-000, Lavras, MG, Brasil. E-mail: rabelo@deg.ufla.br / robbraga@gmail.com

Além disso, avaliou a capacidade desta técnica em realizar a distinção dos grupos formados, com base no MI médio de cada grupo e se o comportamento dos grupos que foram gerados a partir das matrizes refletia o comportamento total das mesmas no decorrer do tempo.

2 Referencial teórico

2.1 A interação da laser em materiais

O *biospeckle* ou *speckle* dinâmico corresponde a um fenômeno óptico conhecido e acontece e acontece quando a laser se dispersa sobre uma superfície na qual se desenvolve um processo vivo, (DAINTY,1984).

Pra et al. (2009) complementa e diz que o fenômeno do *speckle* dinâmico consiste de um granulado e uma interferência flutuante produzida quando laser é refletida de uma superfície iluminada sob algum tipo de atividade. O *biospeckle laser* (BSL) tem sido utilizado, sobretudo para detecção da atividade biológica em materiais vivos como sêmen, frutos e sementes.

Neste sentido, a laser quando interage com algum material, pode ser refletida, espalhada ou absorvida, Bergkvist (1997). Entretanto, no caso de tecidos biológicos em específico, Bergkvist (1997), destaca que, além da grande quantidade de pontos do meio e da complexidade dos movimentos dos objetos vivos, há também o fato da superfície ser não-homogênea.

Oulamara et al. (1989) destaca que a movimentação dos *speckles* ocorre em função da temperatura, da intensidade da luz na iluminação, do comprimento de onda e do campo elétrico existente.

Oulamara et al. (1989) afirma ainda que a natureza destas flutuações foi primeiro investigado com intuito de aplicar as propriedades do *speckle* para análises quantitativas desta atividade biológica. Além disso, que uma observação experimental do fenômeno foi feita por um dispositivo gráfico que exibiu as mudanças de sinal do *speckle*, fazendo com que fosse proposta uma teoria específica e um processamento estatístico do fenômeno, descrito por Oulamara et al. (1989) como efeito de decorrelação quantitativo.

Dessa forma, o fenômeno da dispersão em material biológico é bastante complexo uma vez que o laser interage com uma grande rede de elementos e é espalhado em todas as direções, dificultando a identificação da contribuição de cada partícula presente no material.

Bergkvist (1997) explica que, quando a reflexão da luz entra numa fronteira com diferentes índices de refração, esta obedece às leis de Snell e Fresnel e que, portanto depende dos índices de refração bem como dos ângulos de incidência dos raios de luz. Os diagramas de *speckle* são formados dessa forma, pelas micro-irregularidades das superfícies, que oferecem condições distintas de reflexão.

Para a redução do tempo de processamento e encontrar novos parâmetros de avaliação para caracterizar o *speckle*, Pra et al. (2009) apresenta uma metodologia onde diz que seqüências de imagens podem ser utilizadas com intuito de avaliar, por meio de intensidades, fenômenos dinâmicos. Nestes processos, os sinais gerados, pela mudança de intensidade em cada pixel, são processados com a finalidade de fazer identificação da atividade em cada ponto e obter um índice de atividade para caracterizar o sinal do THSP.

Neste sentido, pesquisas recentes têm procurado modelar este fenômeno de forma a isolar as contribuições dos diversos dispersores do laser e assim, incrementar a interpretação do fenômeno pelos pesquisadores.

Os métodos para a análise e interpretação das imagens baseiam-se em informações obtidas por meio de estatísticas de 1ª e 2ª ordem, com resultados gráficos ou numéricos (BRIERS, 2000).

As técnicas de análise multivariada podem ser aplicadas no processamento destas imagens, uma vez que permitem uma visão mais global do fenômeno em relação a uma abordagem univariada, (ANDERSON, 1971).

2.2 Speckle

Xu et al. (1995) afirma que o *speckle* laser é um fenômeno bem conhecido, observável no espaço livre ou numa imagem no plano de um objeto difuso iluminado por uma luz coerente.

De acordo com Xu et al. (1995), um ponto do padrão de *speckle* pode se apresentar escuro ou claro dependendo da interferência de onda (destrutiva ou construtiva) naquele ponto do objeto.

Bergkvist (1997) complementa e afirma que esta interferência de luz de um ponto com a luz refletida de todos os outros pontos do plano é que forma o padrão aleatório dos grãos de *speckle*.

Segundo Braga Jr. et al. (2007) o *biospeckle* consiste de uma ferramenta apropriada para alguns fenômenos industriais e biológicos de interesse prático que requerem pouco contato na experimentação.

Bergkvist (1997) diz que, quando os *speckles* são criados a partir do espalhamento da luz pelo movimento das partículas, os *speckles* são modulados pelo estado de movimentação destas partículas dispersoras o que faz com que o *speckle* seja variante no tempo e chamado de temporal.

Dessa forma, a aparência de um padrão de *speckle* variante no tempo pode ser equiparada a um salpico em movimento como se tratasse de um líquido em ebulição ou uma televisão sem sintonia.

Segundo Pra et al. (2009) o fenômeno do *biospeckle* permite desenvolver aplicações práticas de uso ilimitado na biologia e tecnologia em processos de estados não-destrutivos, possibilitando a detecção de atividades não-observáveis facilmente, tais como viabilidade de sementes, processos de secagem de pinturas, atividades de bactérias, processos de corrosão, decomposição de comida, entre outros.

2.3 Spatial Temporal Speckle (STS)

Os diagramas de *speckle* podem ser avaliados, segundo Oulamara et al. (1989), pela utilização de uma imagem que se refere à história temporal e espacial do padrão de *speckle*, chamada de matriz STS ou de THSP. Esta matriz STS é uma imagem formada a partir da retirada sucessiva de colunas das imagens originais do material sob avaliação.

Assim, quando imagens sucessivas do *speckle* são obtidas ao longo do tempo, obtém-se a variação temporal e espacial de cada pixel, naquele determinado instante. No caso da análise de um material biológico, esta variação corresponderá à variação dos níveis de atividade.

De posse dessas se for retirada uma mesma coluna de cada imagem capturada ao longo do tempo, haverá a formação de uma nova imagem, formada a partir das colunas das imagens originais. Esta nova imagem $N \times M$ é chamada de matriz STS ou THSP e representa as N colunas ao longo do tempo. Normalmente, o STS tem uma composição $N=M$. Nascimento et al. (2007) complementa e afirma a possibilidade da aplicação em funções em que os coeficientes caem lentamente até aquelas funções nas quais o coeficiente cai rapidamente, sendo capazes de simular diferentes níveis de atividade.

A Figura 1 mostra uma matriz STS gerada a partir de imagens de sêmen bovino.

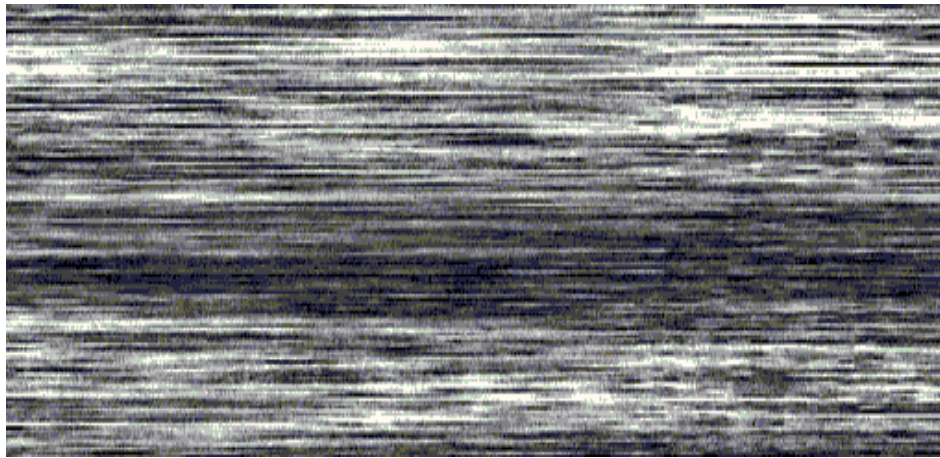


Figura 1 - Matriz STS do sêmen bovino.

Braga et al. (2008) explica que, para os diferentes níveis de atividade no STS, as variações de intensidade dos pixels são mostradas na direção horizontal das diferentes colunas, enquanto a variação espacial, na direção vertical, que são as linhas.

Dessa forma, Bergkvist (1997) destaca que muitos métodos têm sido usados para medir a atividade em materiais, mas a maioria deles tem limites que tornam difícil a obtenção de uma descrição precisa do objeto. Segundo ele, isto faz com que o speckle variante no tempo seja uma alternativa, uma vez que já foi usado para estudar uma variedade de objetos que se movimentam de forma aleatória.

2.4 Momento de inércia

A utilização da estatística de segunda ordem fornece por meio do Momento de Inércia (MI) uma medida da frequência de ocorrências de mudanças bruscas de intensidade de um grão de *speckle* na imagem do *biospeckle*. Arizaga et al. (1999) demonstraram que o momento de inércia atingia altos valores para amostras vivas de material biológico e baixos valores para material morto.

A matriz STS é representada por pixels em níveis de cinza codificados em 8 bits, que configuram 256 tons de cinza. O STS é transformado em uma matriz denominada matriz de ocorrências (MOC).

A MOC é definida por entradas que são os números de ocorrências de um valor de intensidade i seguidos por um valor de intensidade j e pode ser definida de acordo com a equação:

$$MOC = [N_{ij}] ,$$

em que N_{ij} é o número de ocorrências de intensidades i seguidas por intensidades j .

Na MOC se um material apresentar baixa atividade, sua matriz de ocorrências é caracterizada por pixels que apresentam tons de cinza com pouca variação, ou seja, a mudança de intensidade do pixel i para o pixel j será pequena. O objetivo do MI é caracterizar a atividade de um fenômeno pela atribuição de um número a seu estado. O MI representa o processo que se baseia na ocorrência de valores de intensidade sucessivas dos pixels que compõem a imagem STS. O valor do MI pode ser encontrado através da equação:

$$MI = \sum_{i,j} MOCM(i,j) * (i - j)^2 ,$$

em que,

$$MOCM(i,j) = \frac{MOC(i,j)}{\sum_{i,j} N_{i,j}} .$$

Entretanto, se o material a ser analisado apresentar alta atividade será possível observar um efeito contrário e um espalhamento, indicando uma mudança mais intensa de intensidade do pixel i para o pixel j .

2.5 Análise de Agrupamento

De acordo com Mingotti (2005), a análise de agrupamento (análise de conglomerado, classificação ou cluster) tem o objetivo de dividir os elementos de uma amostra ou população em grupos. Os elementos pertencentes a um mesmo grupo devem ser o mais parecido possível entre si e elementos pertencentes a grupos diferentes o mais heterogêneo possível de acordo com as variáveis que foram medidas.

A separação de um conjunto de valores em n grupos não constitui uma tarefa simples, além dos tipos de variáveis envolvidas é necessário mensurar o critério de parença: medida de parença ou similaridade e diferença ou dissimilaridade. Uma alternativa é a utilização de medidas matemáticas (métricas) como o conceito de distâncias. Estas medidas permitem calcular as distâncias entre os vetores de observações dos elementos amostrais e agrupar aqueles de menor distância.

Existem algumas medidas de similaridade específicas para variáveis categóricas (qualitativas) como o coeficiente qui-quadrado, o de contingência de Pearson e o de concordância de Kappa. Entretanto, apesar da variedade de procedimentos, para calcular a medida de similaridade entre grupos de objetos é usual a utilização de medidas de dissimilaridade para variáveis quantitativas. Elas apresentam valores pequenos para elementos mais parecidos e, caso contrário, valores maiores.

Entre as medidas de dissimilaridade mais comuns, é necessário destacar a distância generalizada ou ponderada, a distância de Minkowsky e a distância Euclidiana, sendo esta última uma das mais utilizadas.

A distância Euclidiana entre dois elementos x_l e x_k , é definida por:

$$d(x_l, x_k) = [(x_l - x_k)(x_l - x_k)]^{\frac{1}{2}} = \left[\sum_{i=1}^n (x_{li} - x_{ki})^2 \right]^{\frac{1}{2}}.$$

Dois elementos amostrais são comparados em cada variável pertencente ao vetor de observações. As distâncias entre os elementos amostrais são armazenadas numa matriz de dimensão $n \times m$, chamada matriz de distâncias.

É possível encontrar duas técnicas principais para a construção de agrupamentos, estas são classificadas como técnicas hierárquicas e não-hierárquicas. Algumas características diferenciam as técnicas hierárquicas das não-hierárquicas, entre estas é possível destacar a especificação prévia do número de grupos a ser formado e o fato de que dois elementos colocados inicialmente juntos num mesmo grupo não necessariamente estarão juntos na partição final.

Os métodos não-hierárquicos utilizam algoritmos iterativos e, em comparação com métodos hierárquicos, apresentam maior capacidade de trabalhar com um volume grande de informações.

Os principais métodos de agrupamento baseado no método não-hierárquico são o método das k -médias, o Fuzzi c -Means e as redes neurais artificiais. Dentre estes, é possível destacar o algoritmo das k -médias como um dos mais utilizados.

Segundo Ferreira (2008), o método das k -médias é o mais popular e conhecendo a priori o número de grupos as observações devem ser neles realocadas de acordo com uma função objetivo. Esta realocação deve ser cessada quando uma regra de parada pré-especificada for contemplada.

Os passos básicos utilizado pelo algoritmo das k -médias são:

- a) Inicialmente as n observações são alocadas arbitrariamente aos k grupos e os centróides ou “sementes” calculados para iniciar o processo de partição;
- b) cada observação é comparada com cada centróide por meio de uma medida de distância que, em geral, é a euclidiana. O dado é alocado ao grupo cuja distância é menor;
- c) após aplicar o passo b para cada um dos dados amostrais recalcula-se o centróide para cada grupo. Assim, o passo b deve ser repetido considerando os centróides destes novos grupos;
- d) repetem-se os passos b e c até que não ocorram mais mudanças de observações de um grupo para outro, ou seja, até que nenhuma realocação de elementos seja necessária.

3 Material e métodos

Foram consideradas para análise, imagens do *biospeckle* referentes a amostras de sêmen de bovino. As sete matrizes STS foram cedidas pelo Departamento de Engenharia e pelo Departamento de Medicina Veterinária da UFLA.

As imagens que deram origem aos STS's foram capturadas por um sistema de aquisição de imagens com intervalo de captura de 80 milissegundos, sendo o arranjo experimental montado para captura semelhante ao proposto por Oulamara et al. (1989). Este foi composto de uma câmera CCD, um laser He-Ne de 632 nm e um sistema de captura de imagens em *free propagation*, Rabal et al. (2008).

As análises foram realizadas com base no momento de inércia que permitiu calcular os índices de atividade específicos de cada linha de todas as matrizes STS's e os índices "médios" para cada grupo formado das 7 matrizes.

O algoritmo das k-médias e a distância euclidiana (medida de dissimilaridade) utilizados no processo de agrupamento foram aplicados no programa Minitab® 15.0⁴. Neste processo, do total das 7 matrizes STS's somente três foram tomadas para o processo de geração dos grupos. A utilização de três matrizes foi adotada visando minimizar o alto custo operacional de experimentação que seria gerado se fosse utilizado todas as matrizes. Conforme Pra et al. (2009) a variação de intensidade é difícil de definir, incerta e subjetiva e deve ser vista como uma quantidade de relativa de variações de intensidade num vetor em que cada elemento pode representar o valor do pixel para uma imagem naquela sequência.

Assim, foram pré-definidos, para cada matriz STS, três grupos de índices de atividade celular (baixo, médio e alto) para conter cada conjunto de linhas separadas pelo algoritmo. A escolha pré-definida dos grupos foi feita para atender ao algoritmo que necessita que seja mencionado o número de grupos que se deseja formar. Um número maior ou menor de grupos poderia ter sido escolhido de acordo com a necessidade e interesse de outro estudo em questão. Neste trabalho, um número maior poderia comprometer as análises e dificultar a interpretação dos resultados devido a proximidades dos módulos dos valores do MI de cada linha.

Com base em 3 sementes, escolhidas propositalmente de acordo com o módulo do momento de inércia da linha, cada linha de cada matriz foi alocada em seu respectivo grupo de acordo com seu momento de inércia. As sementes foram escolhidas propositalmente uma vez que Milligan et al. (1980) afirma que o algoritmo das k-médias não apresenta uma boa performance quando as sementes são escolhidas arbitrariamente e que os resultados tendem a ser robustos de acordo com a qualidade das sementes, ou seja, proximidade das sementes as variáveis que se deseja separar.

Assim, foram gerados 3 (três) grupos em cada matriz STS (baixo, médio e alto) com um número de informações variáveis em cada grupo, formando um conjunto de nove grupos no total geral.

4 Resultados e Discussão

O MI total das 512 linhas, que representa os índices da atividade celular das células de sêmen bovino, é apresentado na Figura 2 para cada matriz STS.

Observa-se que, ao longo do tempo, os valores do MI apresentam tendência decrescente evidenciando, como esperado, a diminuição de atividade celular, explicada do ponto de vista biológico.

Na Tabela 1 é exibido o resultado do processo de separação das 3 matrizes STS's (STS1, STS2 e STS3) em 3 (três) grupos (baixo, médio e alto), que são compostos respectivamente por informações com baixa, média e alta atividade.

⁴ Minitab® 15 Statical Software é um aplicativo utilizado para análises estatísticas. Foi utilizada a versão demo disponível no sítio: <http://www.minitabbrasil.com.br>

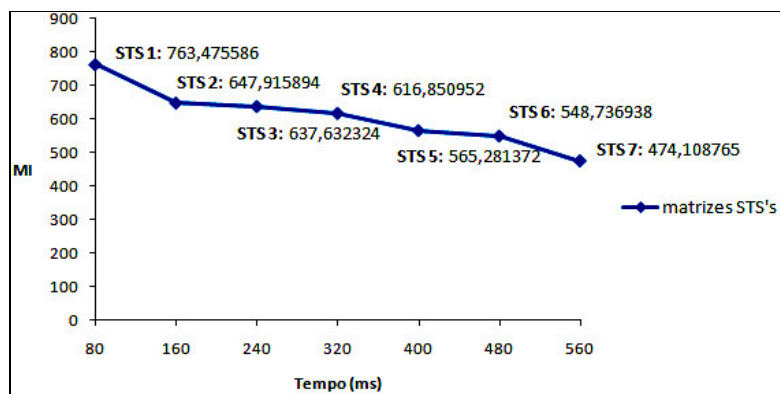


Figura 2 - Índices de atividade celular para as matrizes STS ao longo do tempo.

Tabela 1 - Estatísticas do processo de agrupamento para 3 matrizes STS de acordo com os índices de atividade

Matrizes STS	Atividade (Clusters)	Nº de observações por cluster	Soma dos quadrados dentro dos clusters	Distância média ao centróide	Distância máxima ao centróide
STS1	Baixa	195	1,26107E+08	789,861	1197,244
	Média	120	8,16893E+07	795,850	1583,172
	Alta	197	1,62261E+08	887,439	1583,172
STS2	Baixa	160	1,05620E+08	791,224	1375,608
	Média	191	1,73312E+08	929,798	1656,802
	Alta	161	1,31499E+08	865,597	1948,345
STS3	Baixa	138	8,00505E+07	744,642	1391,360
	Média	167	1,46895E+08	895,223	1958,939
	Alta	207	1,92904E+08	944,617	1595,620

Fonte: Dados da pesquisa

Pela Tabela 1 é possível observar a geração dos três grupos pré-definidos dentro de cada matriz STS. Assim, as linhas com baixo índice de atividade celular (baixo MI) foram inseridas dentro do grupo de baixa atividade, as com médio índice de atividade celular (MI mediano) dentro do grupo de média atividade e, assim sucessivamente.

O número de observações dentro de cada grupo é variável à medida que o algoritmo é executado e as informações vão sendo realocadas dentro dos grupos pré-definidos. Na configuração final, cada grupo apresentou o número de linhas de acordo com a coluna da Tabela 1 nomeada como o número de observações do cluster.

A Tabela 1 mostra, sobretudo, pela soma dos quadrados dentro dos clusters, o quão próximas estão às informações dentro de cada grupo. Assim, os grupos com pequena soma dos quadrados apresentam-se mais compactos que os grupos com uma grande soma dos quadrados.

Analisando, pela Tabela 1 ainda, os grupos formados na terceira matriz STS observa-se que após a realocação das observações, em relação às matrizes STS's 1 e 2, há formação de dois grupos bem definidos. Estes grupos podem ser caracterizados por um grupo que contém informações mais compactas, composto pelas informações de média e alta atividade, e por um grupo que contém informações mais dispersas composto pelos baixos índices de atividade.

A Figura 3 apresenta a diferenciação do grupo de baixa atividade em relação a média dos índices dos grupos de média e alta atividade.

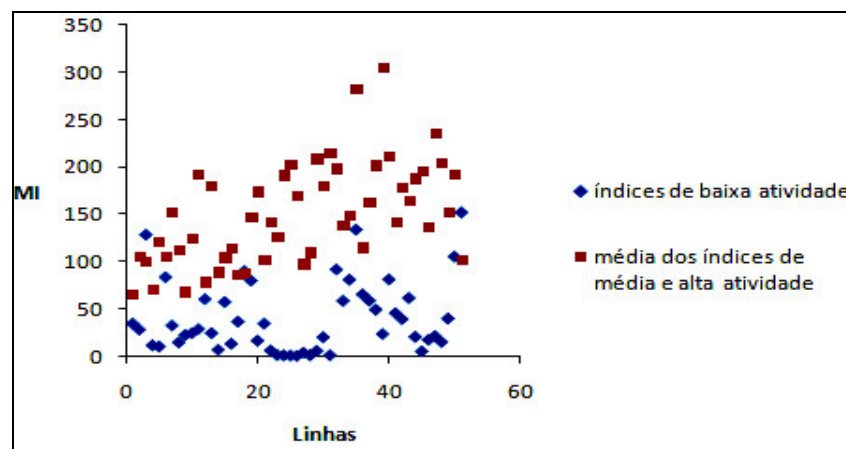


Figura 3 - Diferenciação do grupo de baixa atividade para os grupos de média e alta atividade.

É possível notar pela Figura 3 a possibilidade de se realizar uma separação visual da figura em dois grupos específicos que representam valores mais altos e valores mais baixos de atividade celular.

Em ambientes com variações de atividades mais altas espera-se a presença de frequências mais altas. Nobre (2008) mostra que a técnica do momento de inércia se mostra mais eficiente na análise de altas frequências, devido a seu mecanismo de atuação que é um momento de segunda ordem, o qual favorece as variações de atividades mais altas.

Apesar de ser possível realizar a separação das linhas das outras matrizes também em 3 (três) grupos de atividades, é possível perceber que a técnica de análise de agrupamento utilizando o MI médio de cada grupo é mais robusta para separar as atividades mais altas das mais baixas. Não sendo suficientemente eficiente para separar informações com atividade média de informações com atividades altas, como pode ser observado pela Figura 4.

A Figura 4 apresenta um gráfico de dispersão dos índices de atividade do grupo de média atividade em relação aos índices de alta atividade, tomados dentro de um mesmo intervalo para todos os grupos da primeira matriz STS. Observa-se a não possibilidade de separação das informações dos grupos de média dos de alta atividade.

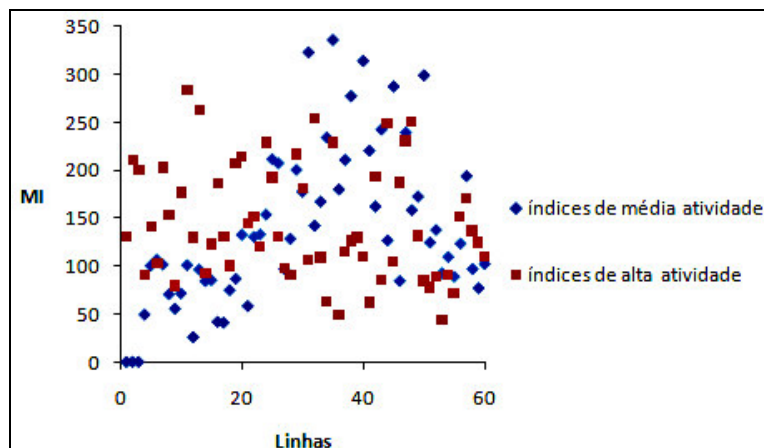


Figura 4 - Diferenciação do grupo de baixa atividade para os grupos de média e alta atividade.

A Figura 5 apresenta um comparativo entre os momentos de inércia de cada grupo de cada matriz STS. A linha azul representa o grupo de baixa atividade em cada matriz, a linha vermelha que representa o grupo de atividade média em cada matriz e a linha verde que representa o grupo de alta atividade.

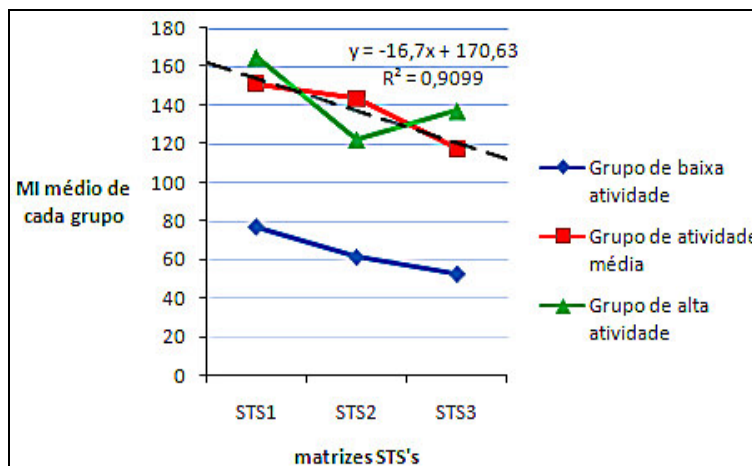


Figura 5 - Comparativo entre os momentos de inércia dos grupos de cada matriz STS.

Na Figura 5 é possível observar que a linha tracejada mostra um comportamento tendencioso decrescente na média dos grupos de média e alta atividade ($R^2 = 0.90$), semelhante a linha que representa os grupos de baixa atividade.

Dessa forma, para os grupos formados para as 3 matrizes STS's, o comportamento de decaimento da atividade celular se manteve em relação ao comportamento exibido na Figura 2, o que poderia supor a tomada de apenas um grupo específico de linhas com índices de atividades pré-determinados, ao invés da tomada de todo um conjunto de valores, diminuindo o esforço computacional.

A Figura 6 exibe a média dos índices dos grupos de alta e média atividade em relação a linha que representa os grupos com baixa atividade.

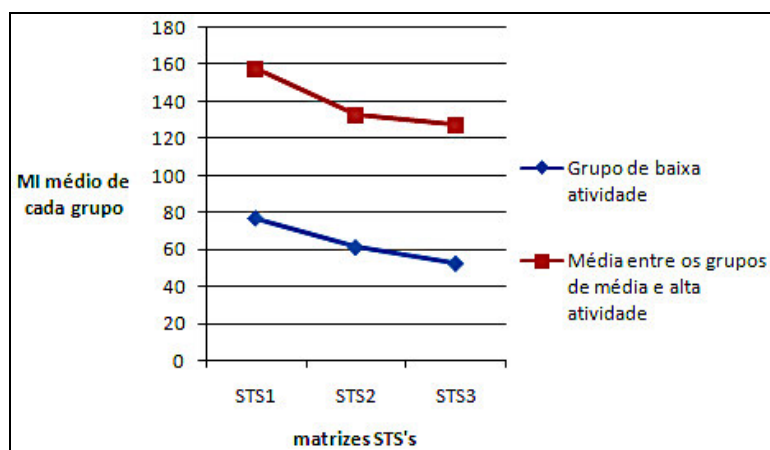


Figura 6 - Comparativo entre a média dos momentos de inércia do grupo de média e alta atividade em relação a média do MI dos grupos de baixa atividade.

A Figura 6 confirma o comportamento tendencioso decrescente, como discutido. Conforme mostrado por Braga Jr. et al. (2007) em experiências de pintura e em simulação de THSP's, o momento de inércia não é substancialmente afetado pela redução da janela, ou seja, pela tomada de um número menor de informações.

Segundo Braga Jr. et al. (2007), para um número equivalente de dados, o MI gera resultados muito semelhantes para diferentes tamanhos de janelas, sendo R^2 afetado somente na terceira casa decimal.

Conclusões

Neste trabalho foi possível aplicar as técnicas de análise multivariada no estudo de um conjunto de imagens de células vivas de sêmen bovino, iluminadas por laser.

Com base nesta metodologia foi mostrado o decaimento natural dos índices de atividade celular com o decorrer do tempo e a separação das matrizes STS's em grupos pré-definidos que continham linhas com diferentes índices de atividade celular. Isto permitiu supor a possível redução de custo operacional e computacional na realização da análise de imagens pela técnica do *biospeckle*.

Além disso, foi possível mostrar que a técnica de análise de agrupamento em comunhão com a técnica do momento de inércia são sensíveis para separar grupos de informações que apresentam altos índices de atividades de grupos de informações que

apresentam baixos índices de atividade, uma vez que o MI se mostra mais eficiente em altas frequências favorecido pelas variações de atividades mais altas.

SILVA, R. B. V.; FERREIRA, D. F.; NOGUEIRA, D. A.; FERREIRA, E. B. Statistical techniques applied to images of the dynamic speckle. *Rev. Bras. Biom.*, São Paulo, v.28, n.2, p.27-39, 2010.

- **ABSTRACT:** *This study used cluster analysis on images obtained from cells of bovine semen illuminated by laser light. The groups consisted of rates of low, medium and high cellular activity obtained from the moment of inertia. The results showed that the techniques of multivariate analysis were applied successfully to all living cells, allowing the reduction of the size of structures and facilitating the interpretation of the analysis by the construction of clusters composed of fewer information. We observed the natural decay rates of cellular activity with the passage of time and separation of STS's headquarters in predefined groups that contained lines with different levels of cellular activity.*
- **KEY WORDS:** *Bio-Speckle; matrix STS; multivariate analysis; clusters; moment of inertia.*

Referências

ANDERSON, T. W. *An introduction to multivariate statistical analysis*. 2. ed. New York: J. Wiley, 1971. 674p.

ARIZAGA, R.; TRIVI, M.; RABAL, H. *Speckle time evolution characterization by the co-occurrence matrix analysis*. *Optics & Laser Technol.*, London, v.31, n.2, p.163-169, 1999.

BERGKVIST, A. *Biospeckle-based study of the line profile of light scattered in strawberries*. 1997. 62 f. Dissertation (Master in Science) - Faculty of Technology at Lund University, La Plata, 1997.

BRAGA JR, R. A.; SILVA, B. O.; RABELO, G.; COSTA, R. M.; ENES, A. M.; CAP, N.; RABAL, H.; ARIZAGA, R.; TRIVI, M.; HORGAN, G. Reliability of biospeckle image analysis. *Optics Lasers Eng.* London, v.45, n.3, p.390-395, 2007.

DAINTY, J. C. *Laser speckle and related phenomena*. *Appl. Optics*, New York, v.23, n.16, p.2661, 1984.

FERREIRA, D. F. *Estatística multivariada*. Lavras: UFLA, 2008. 661p.

MILLIGAN, G. W. An examination of the effect of six types of error perturbation on fifteen clustering algorithms. *Psychometrika*, Williamsburg, v.45, n.3, p.325-342, 1980.

MINGOTI, S. A. *Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: uma abordagem aplicada*. Belo Horizonte: UFMG, 2005. 295p.

NASCIMENTO, A. L. do; COSTA JÚNIOR, A. T.; RABELO, G. F.; BRAGA JÚNIOR, 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, 2007.

NOBRE, B. C.; BRAGA, R. A.; COSTA, A. C.; CARDOSO, R. R.; SILVA, W. S. ; SAFADI, T. Biospeckle laser spectral analysis under inertia moment, entropy and cross-spectrum methods. *Optics Commun.*, Amsterdam, v.282, n.11, p.2236-2242, 2009.

OULAMARA, A.; TRIBILLON, G.; DUVERNOY, J. Biological activity measurement on botanical specimen surfaces using a temporal decorrelation effect of laser *Speckle*. *Optics Lasers Eng.*, London, v.36, n.2, p.165-179, 1989.

PRA, A. L. D.; PASSONI, L. I.; RABAL, H.; Evaluation of laser dynamic speckle signals applying granular computing. *Sinal Process.*, London, v.89, p.266-274, 2009.

RABAL, H. J.; BRAGA JUNIOR, R. A.; TRIVI, M.; RABELO, G. F. *Dynamic laser Speckle and applications*. New York: CRC, 2008. v. 1, 282p.

XU, Z.; JOENATHAN, C.; KHORANA, B. M. Temporal and spatial proprieties of the time-varying *speckles* of botanical specimens. *Opt. Eng.*, Redondo Beach, v.34, n.5, p.1487-1502, 1995.

Recebido em 12.01.2010.

Aprovado após revisão 11.05.2010.