

Análise de

# IMAGENS

na detecção de

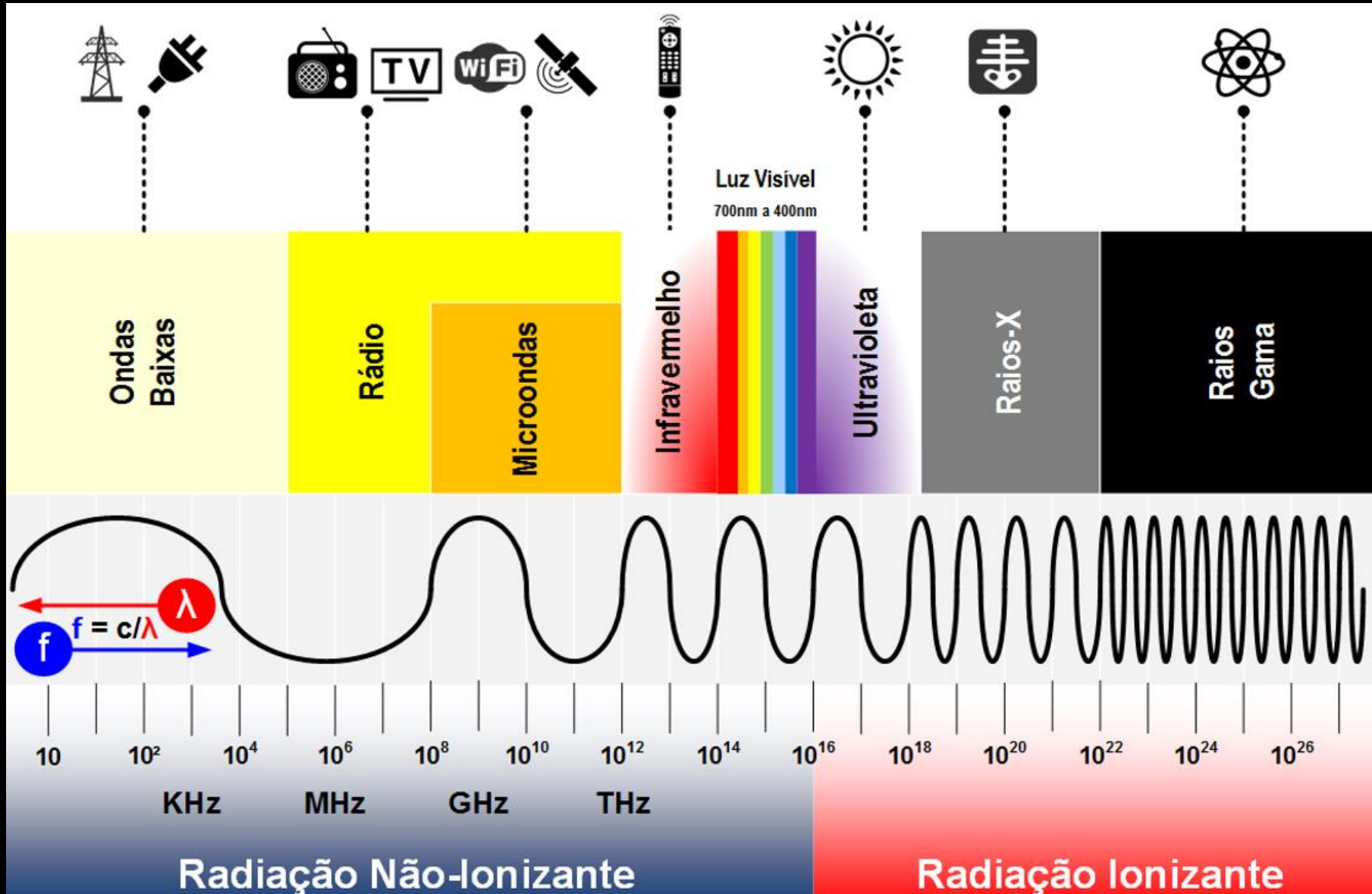
**PATÓGENOS ASSOCIADOS**

**A SEMENTES.**

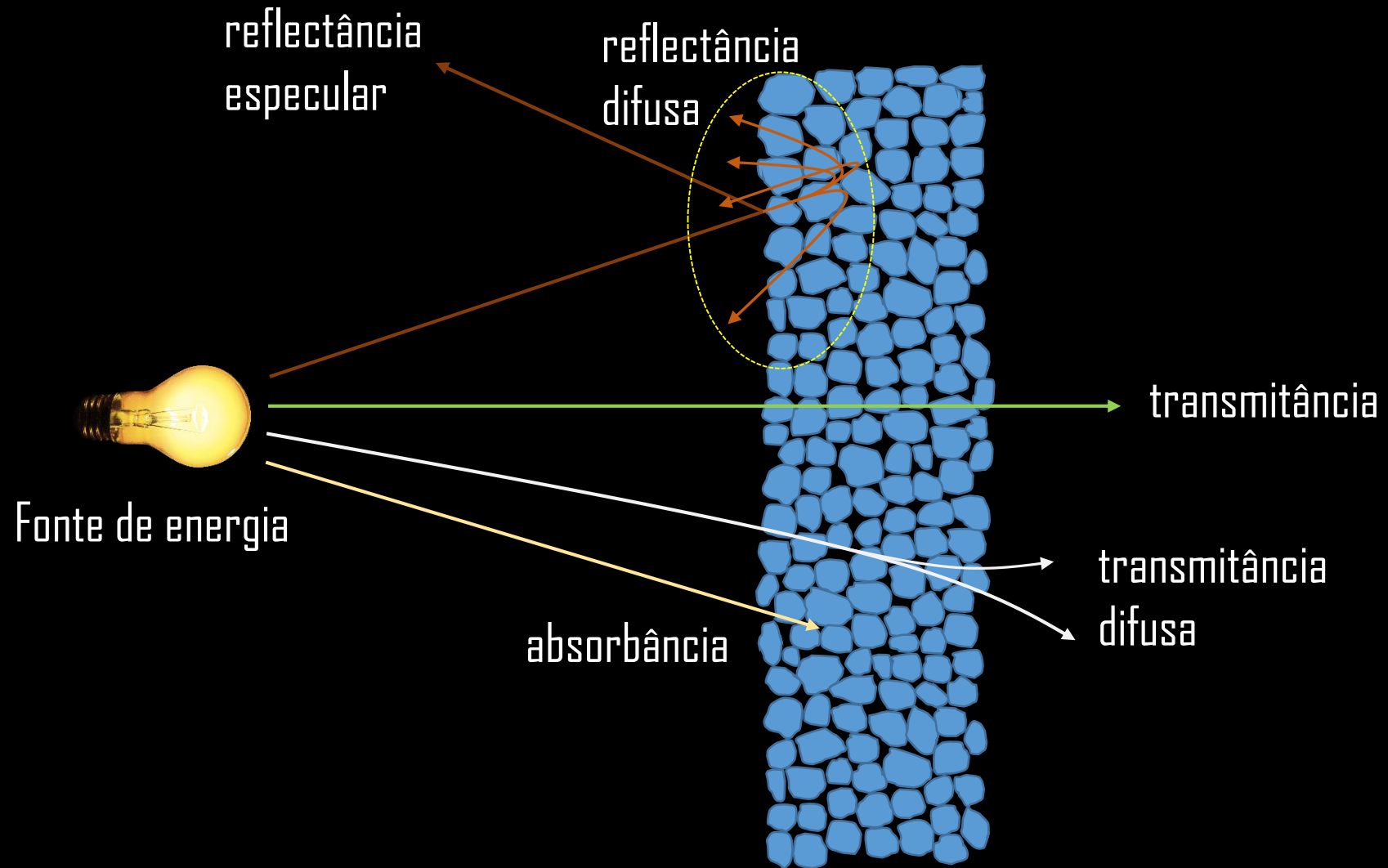
Francisco Guilhien Gomes Junior  
Departamento de Produção Vegetal  
USP/Esalq



# O espectro eletromagnético



# Propriedades ópticas dos materiais

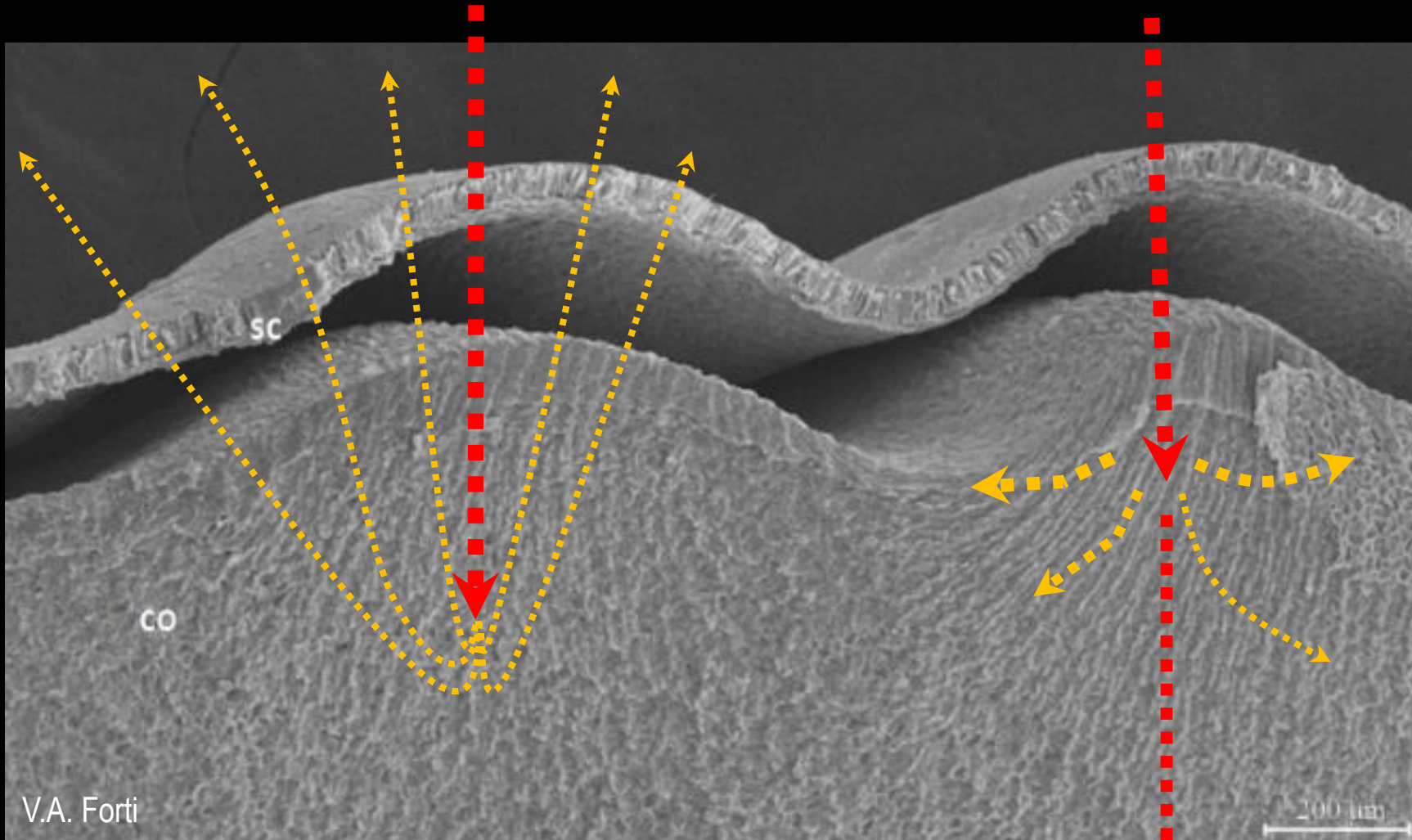


**NIR**

**RAIOS X**

Ondas de menor energia

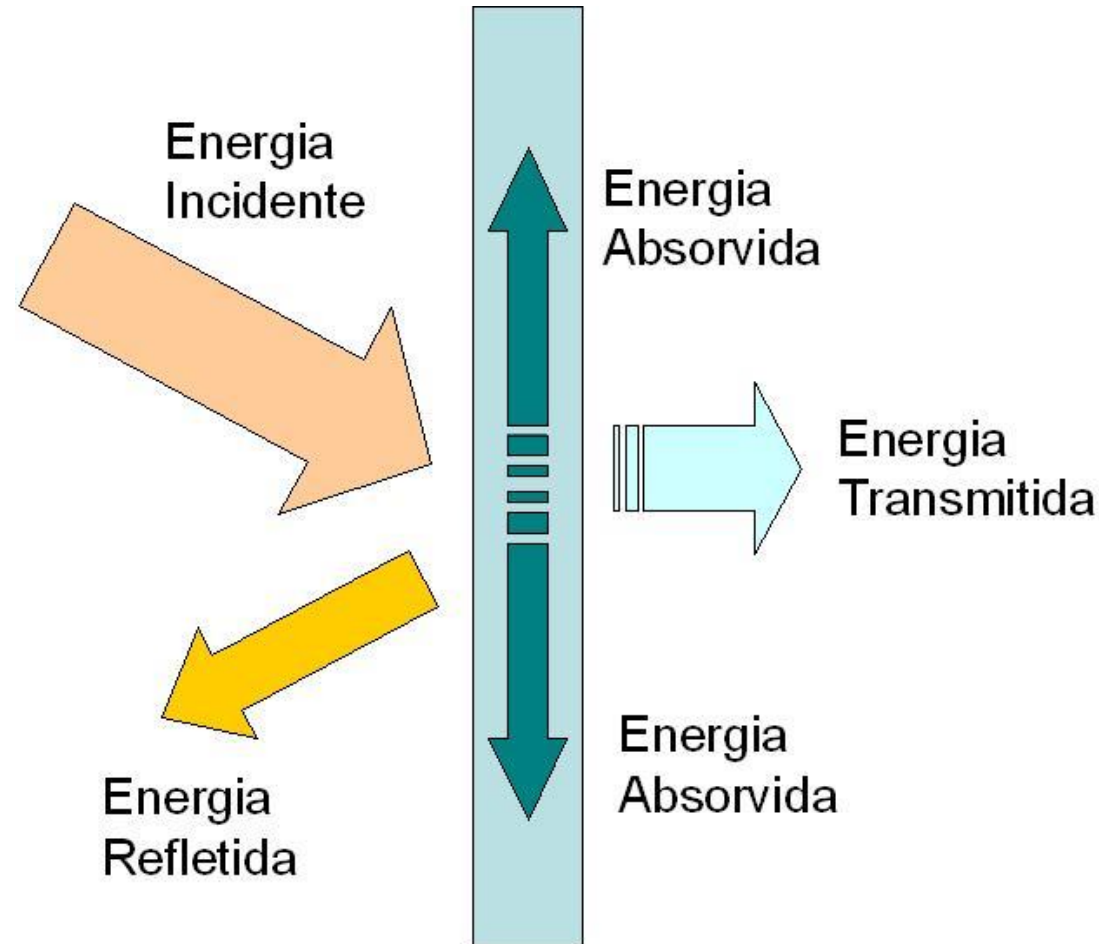
Ondas de maior energia



**Microscopia eletrônica de varredura do tegumento e do cotilédone de semente de soja**

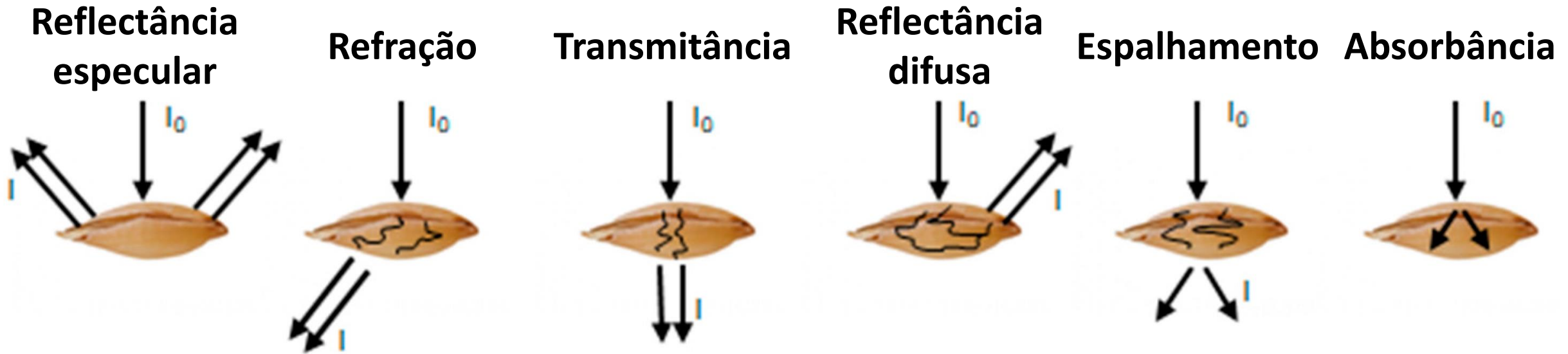


# Espectroscopia

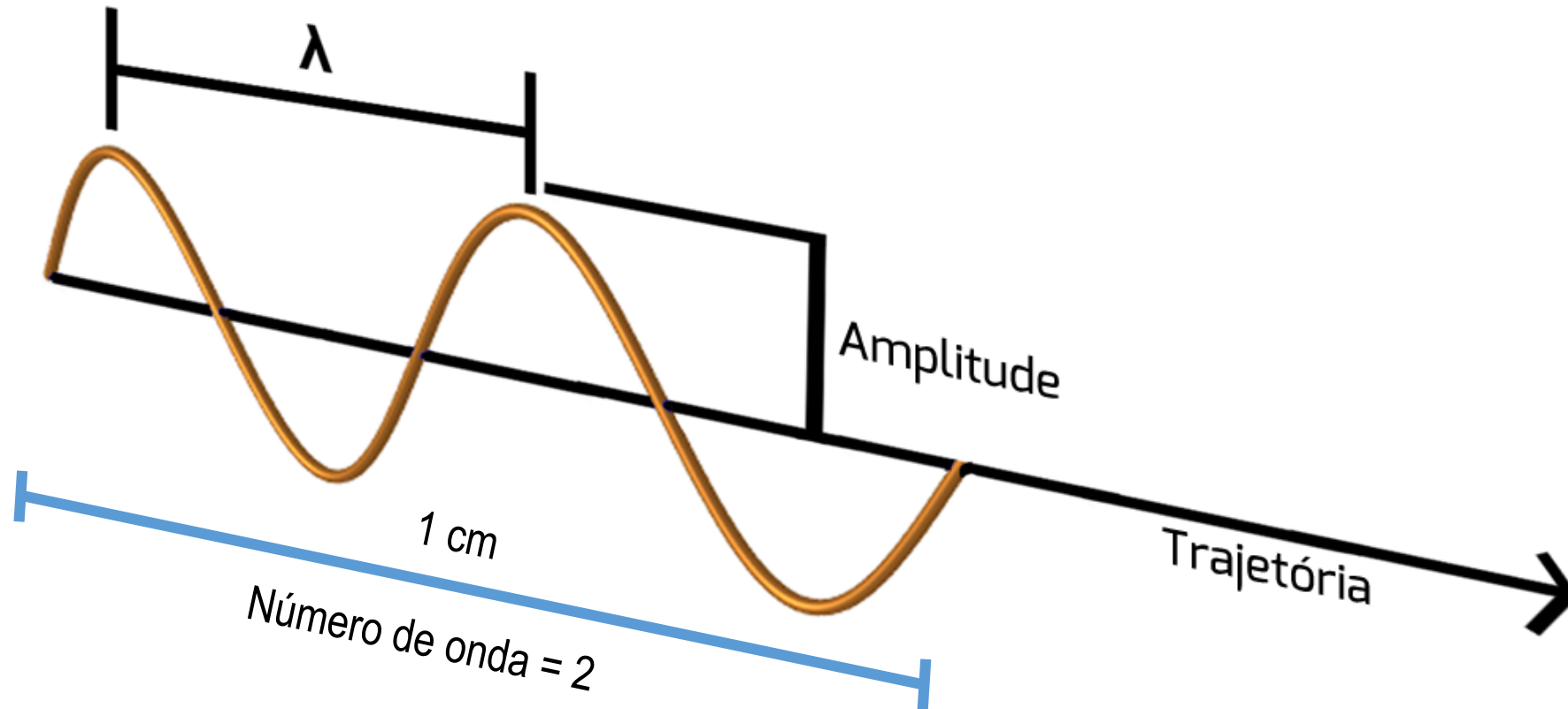


Toda técnica de levantamento de dados físico-químicos através da transmissão, absorção ou reflexão da energia radiante incidente em uma amostra

A possível interação da luz incidente ( $I_0$ ) com a semente e subsequente luz refletida, refratada, transmitida, espalhada ou absorvida ( $I$ )



# Representação de uma onda eletromagnética



**Número de onda:** quantidade de ondas existentes em 1 centímetro, ou seja,  $1/\lambda$  (cm)

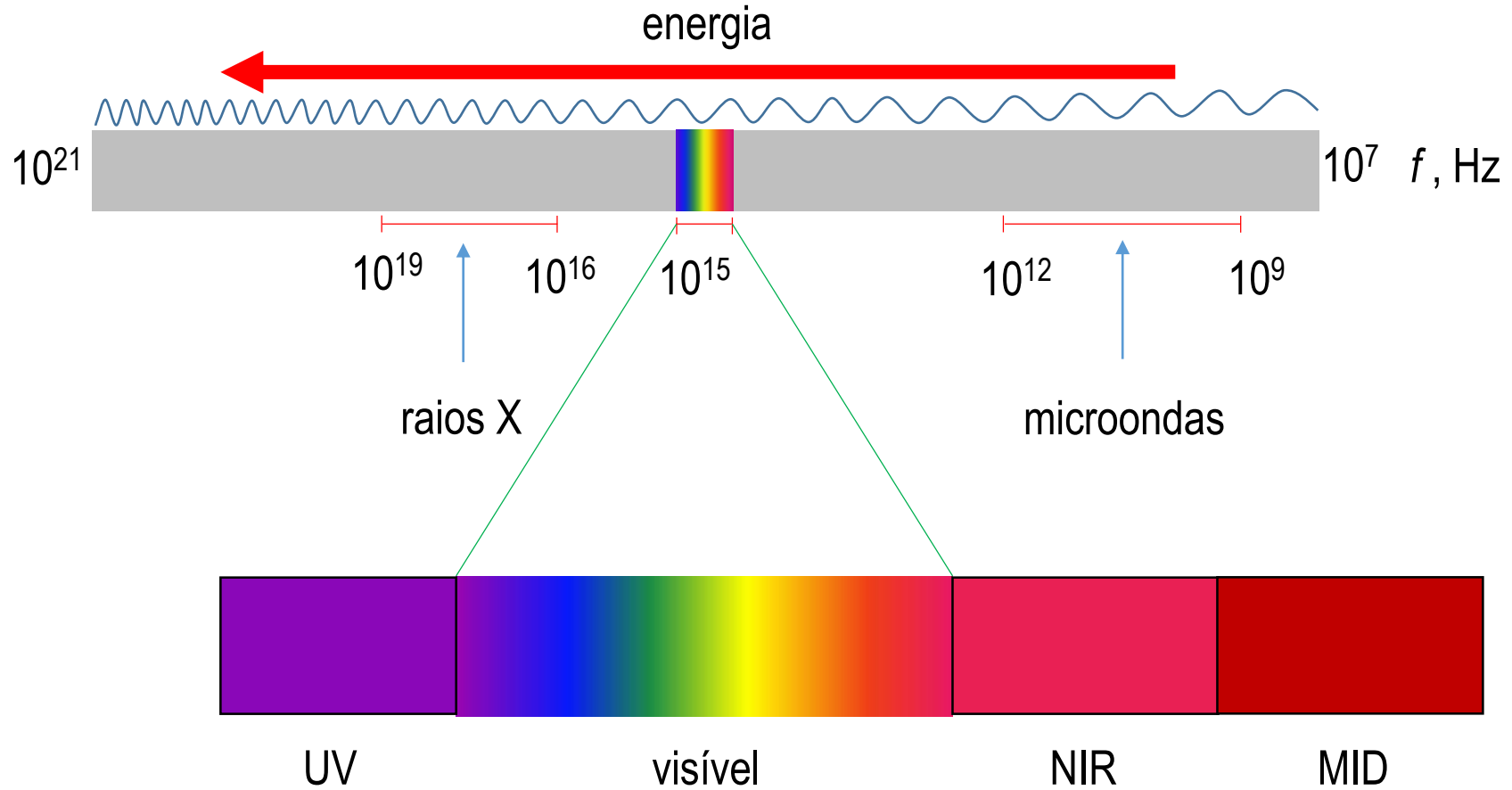
# Espectroscopia por infravermelho próximo (NIRs)

Baseia-se na absorção de luz infravermelha pelos compostos orgânicos

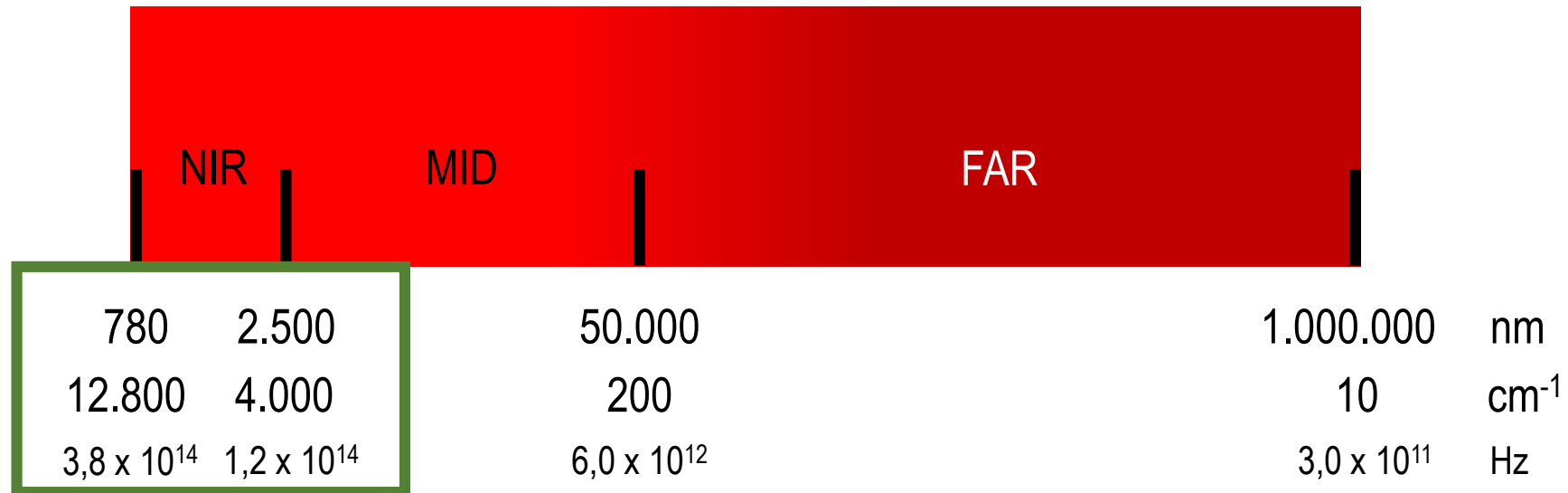
- Cada composto orgânico possui característica de absorção específica, causando vibrações nas ligações de hidrogênio induzidas pelo calor
- Os componentes são quantificados por meio de equações de calibração (baseadas em métodos de referência)



# Espectro Eletromagnético

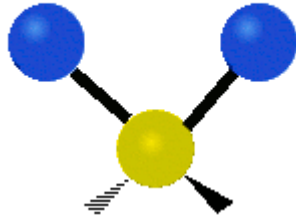


# Infravermelho e Infravermelho Próximo

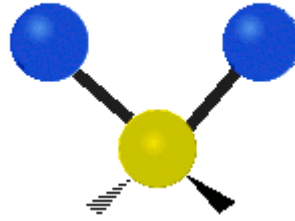


Na região do infravermelho ( $\lambda$  780 a 2500nm)  
radicais como **-OH**, **-NH**, **-CH** e **-CO** vibram fortemente

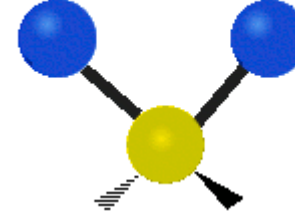
# Tipos de vibrações moleculares



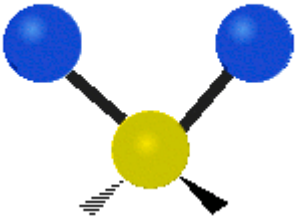
estiramento simétrico



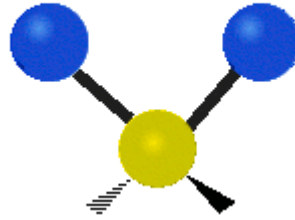
estiramento assimétrico



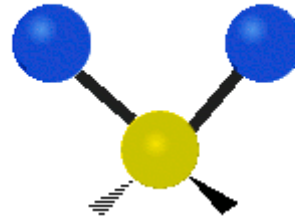
tesoura (ou dobramento angular)



balanço (wag)

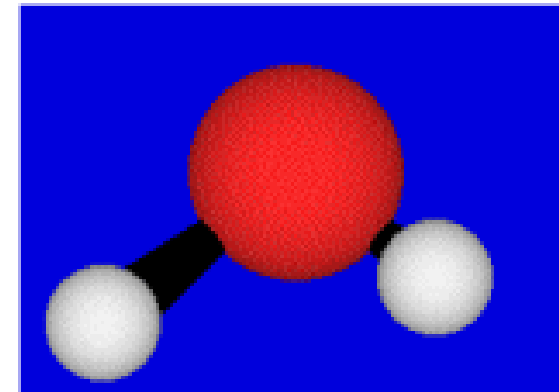
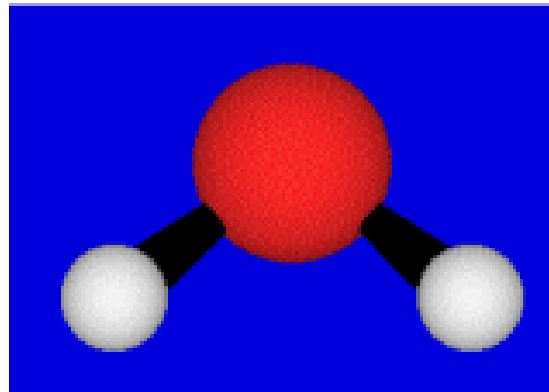
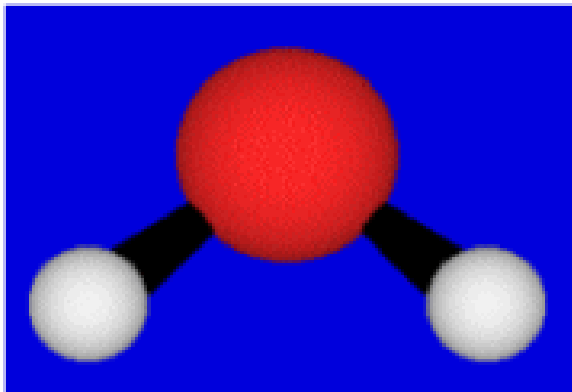
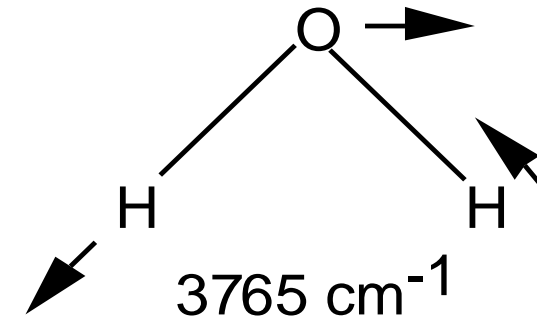
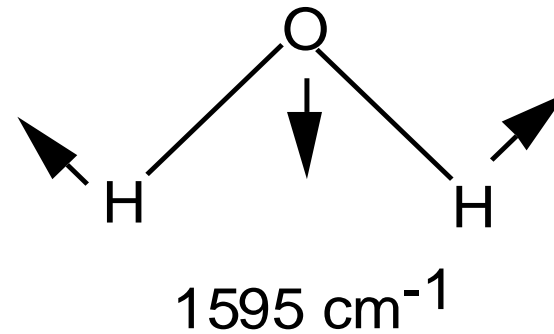
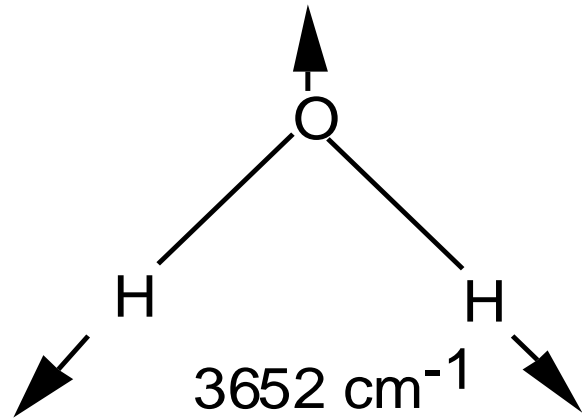


torção (twist)

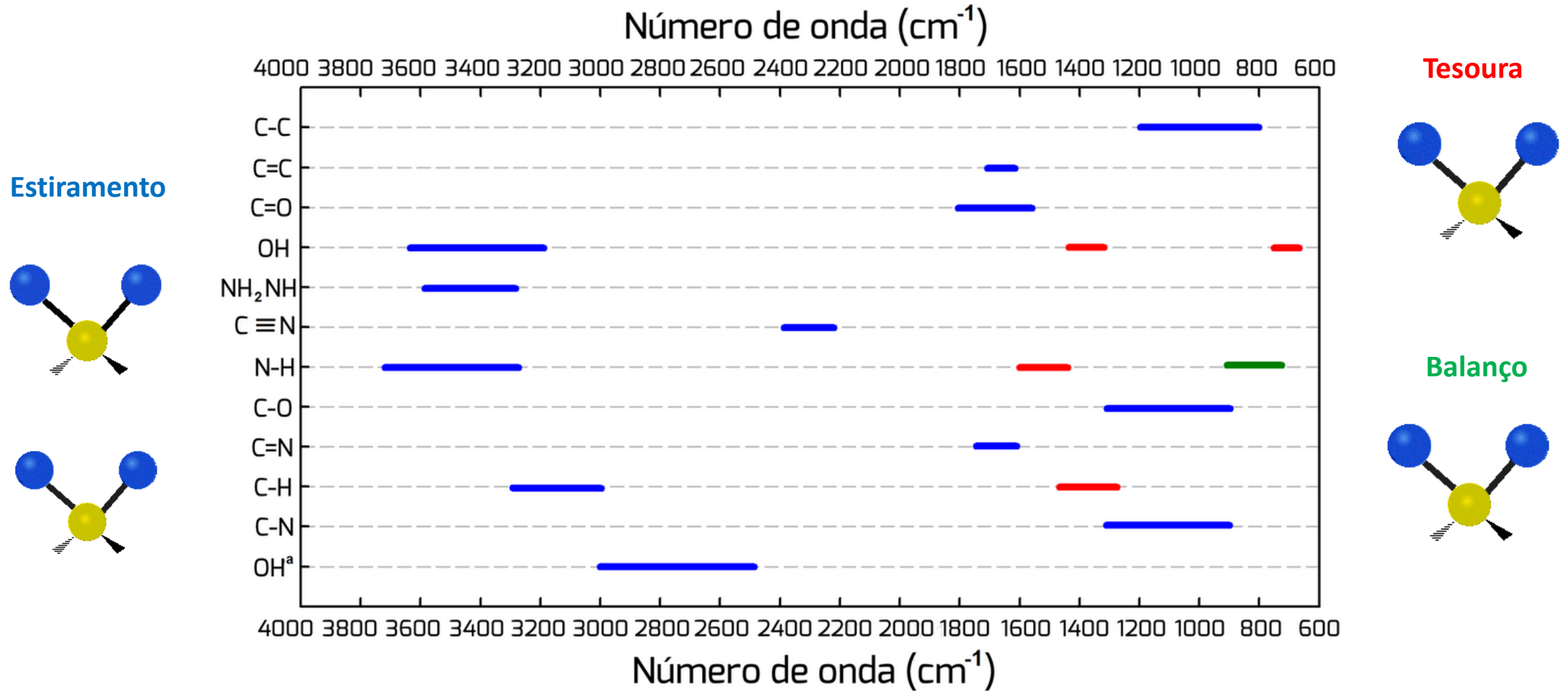


rotação

# Modos normais de vibração da molécula de água



# Frequências de absorção no IV de algumas ligações químicas



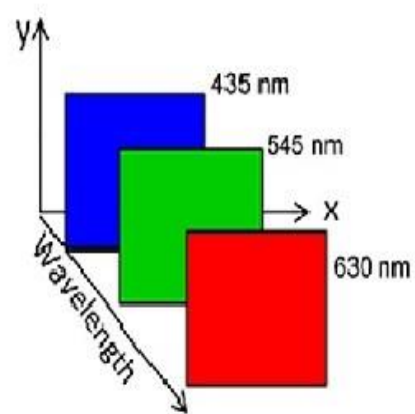
Estão representadas frequências vibracionais resultantes de estiramentos (azul), dobras ou deformações em tesoura (vermelho) e em balanço (verde) da ligação

# Espectroscopia por infravermelho próximo na análise individual de sementes

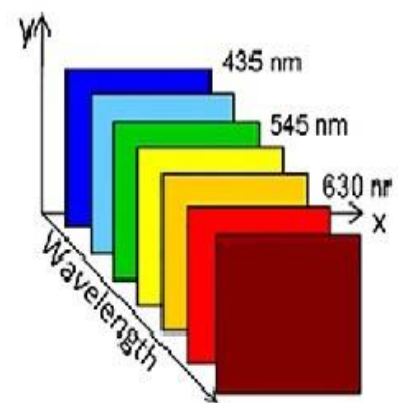
- Técnica não destrutiva
- Auxílio para os trabalhos de melhoramento
- Pesquisa sobre o desempenho germinativo das sementes
- Identificação de injúrias em sementes
- Identificação de patógenos em sementes
- Identificação de sementes transgênicas
- Classificação industrial de sementes (uniformidade e pureza física)



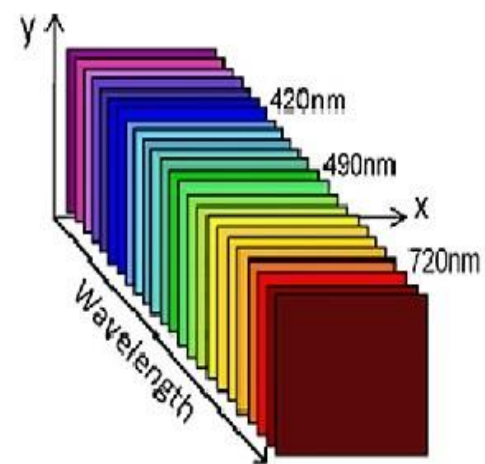
Imagem multiespectral  
e  
Imagem hiperespectral



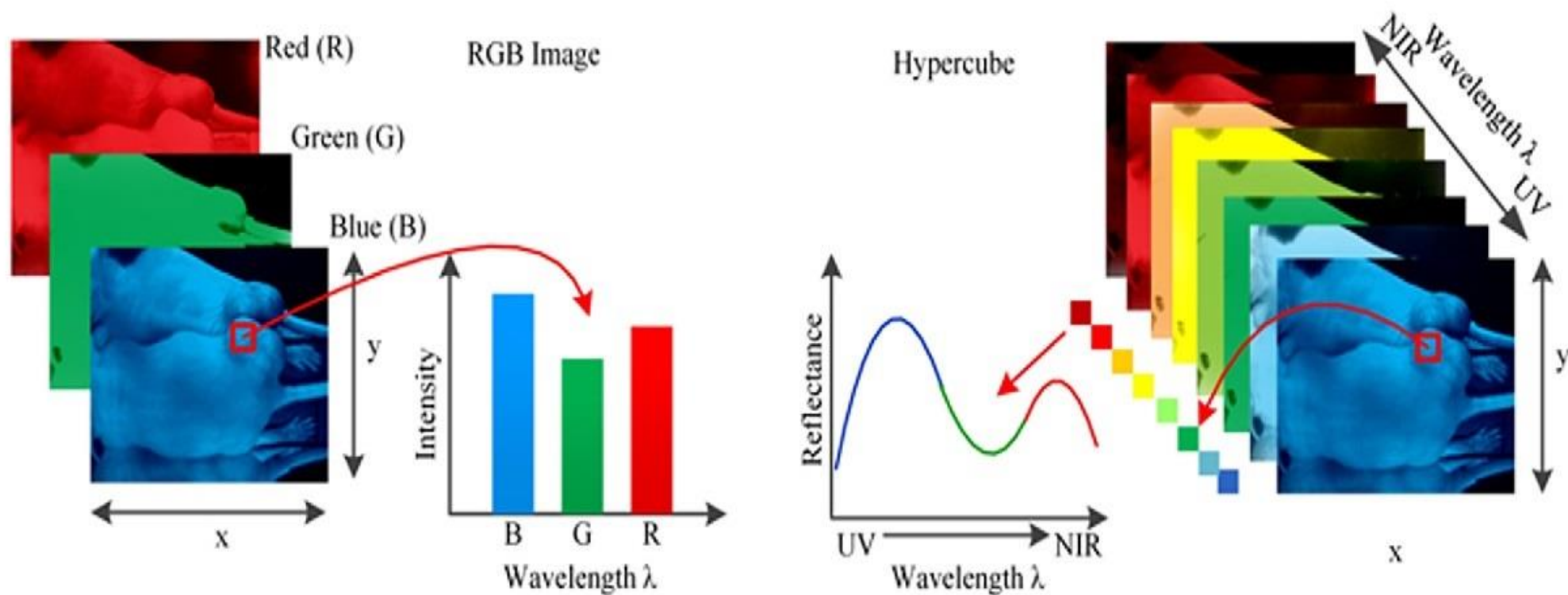
(a) RGB

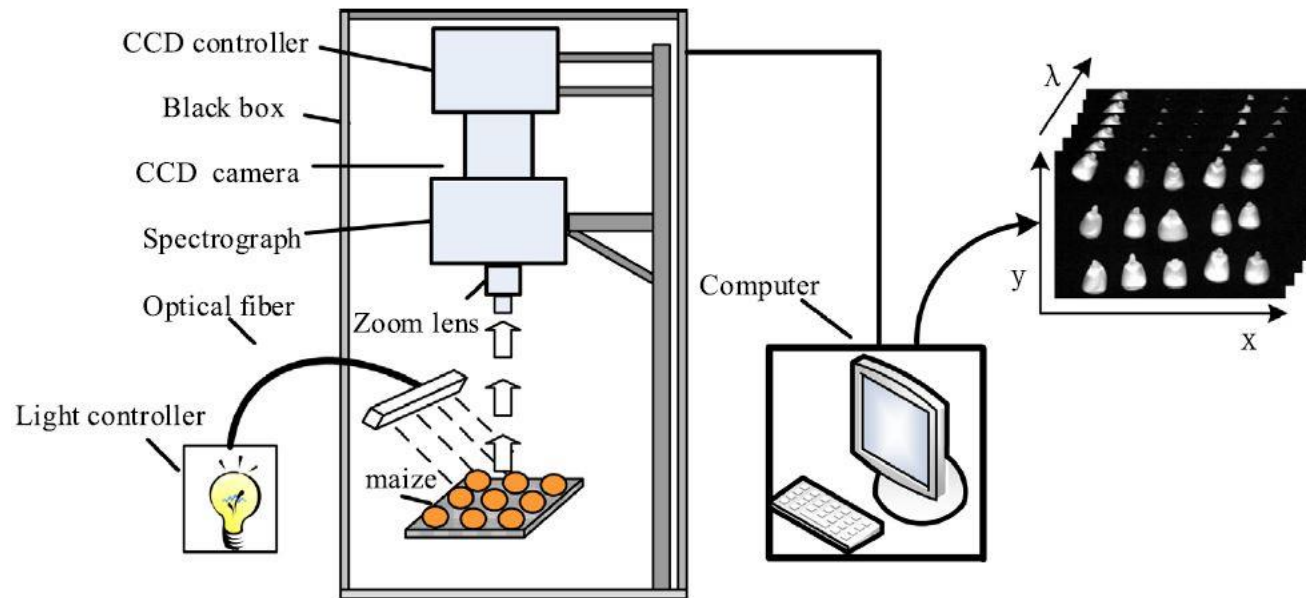


(b) Multispectral



(c) Hiperespectral





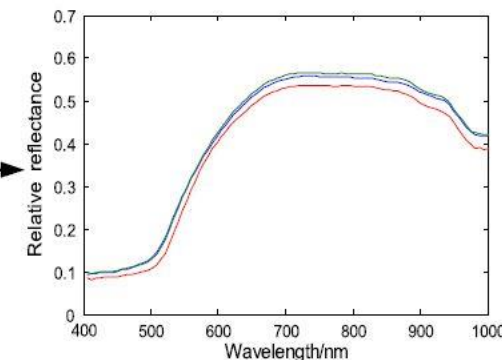
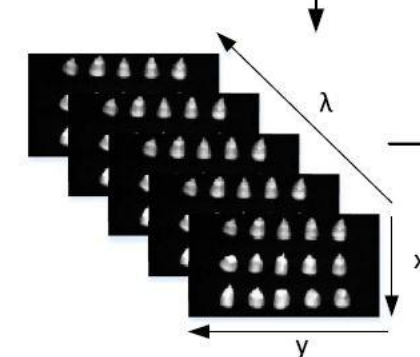
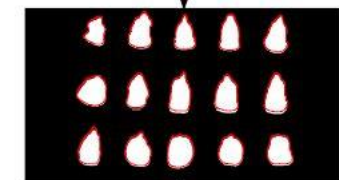
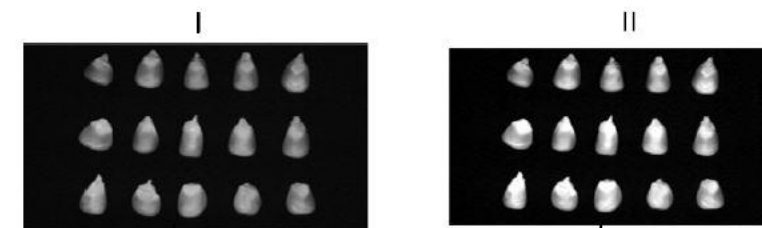
Esquema de um sistema de imagem hiperespectral para aquisição de imagens de refletância de sementes de milho

Huang et al. (2016)

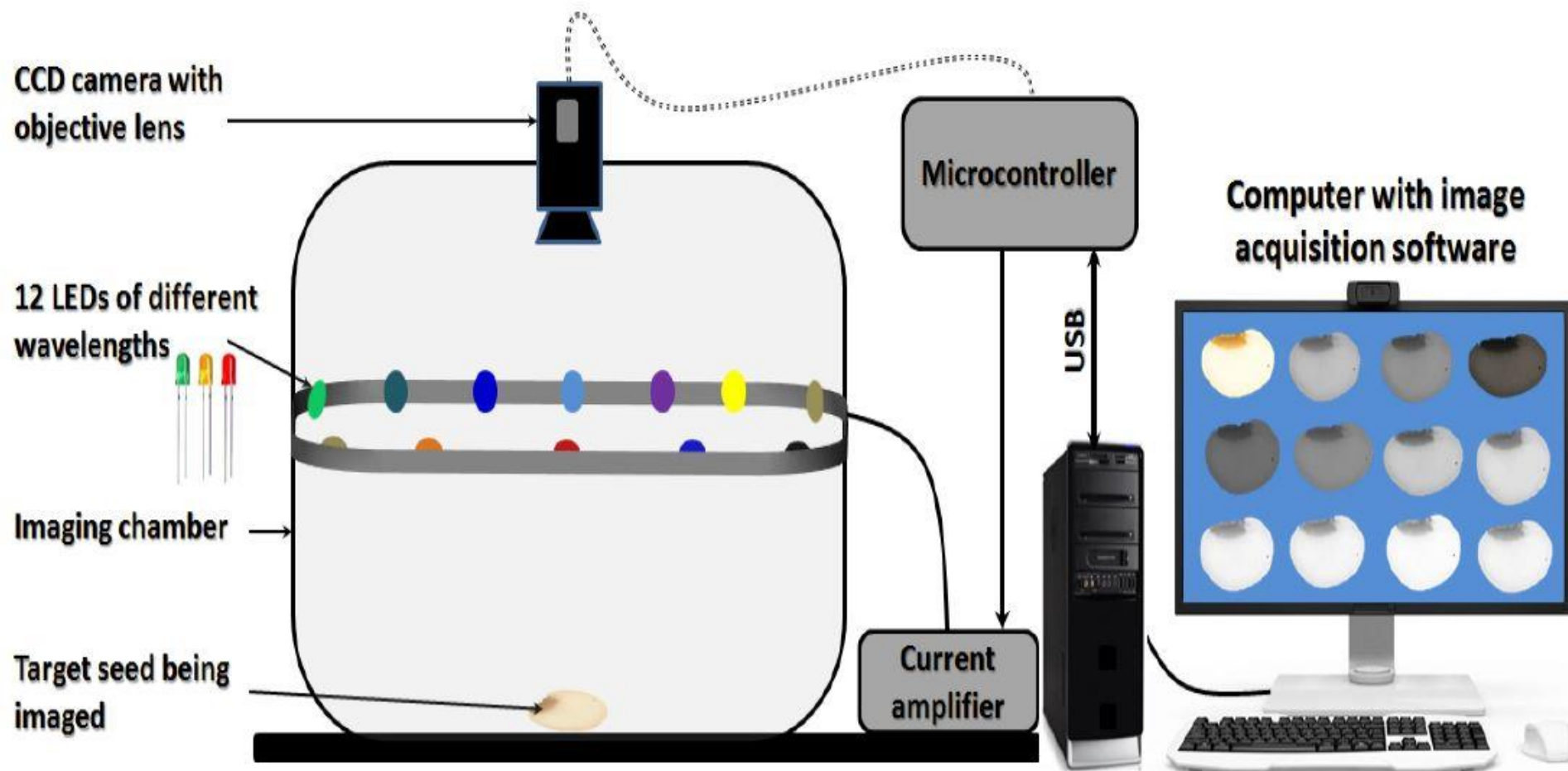
<http://dx.doi.org/10.1016/j.compag.2016.01.029>

Processo de segmentação de imagem e extração de características:

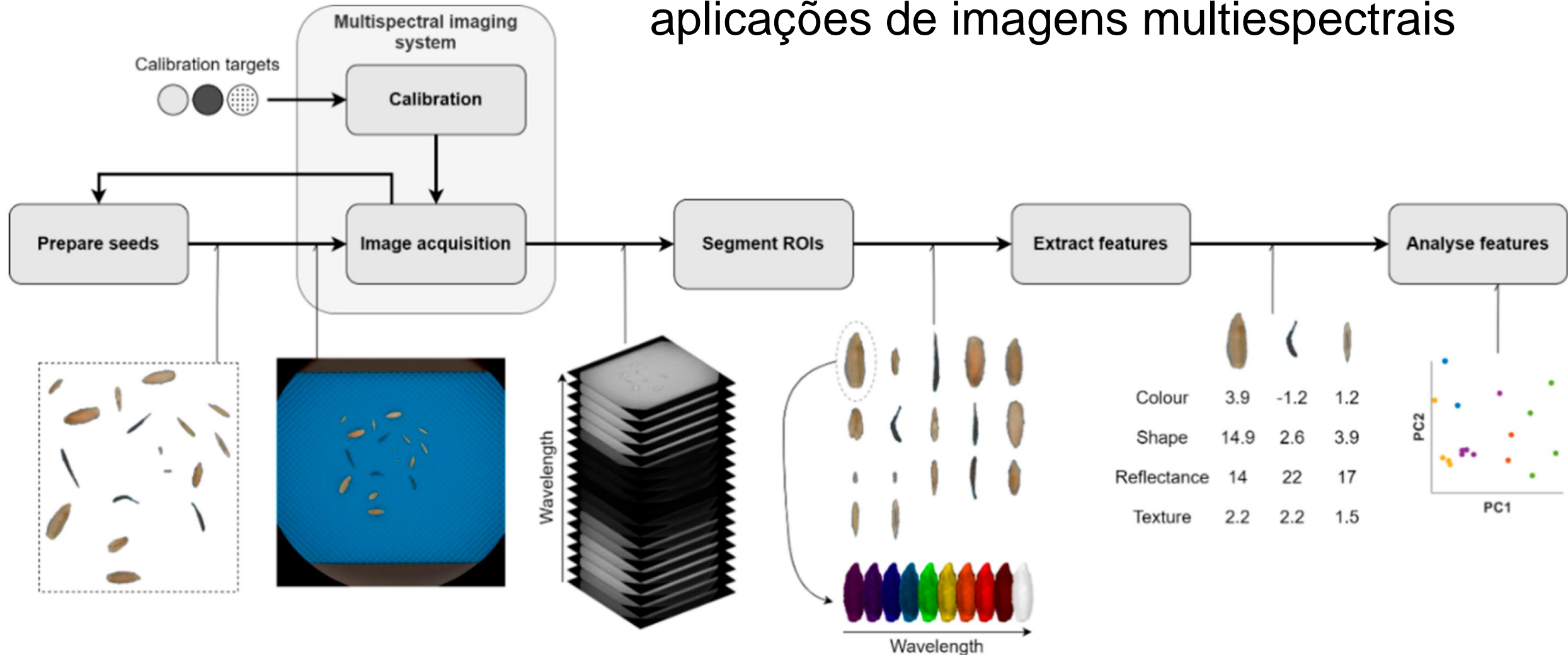
- (I) imagem de refletância hiperespectral em 782,59 nm,
- (II) imagem após filtragem e realce,
- (III) imagem após segmentação de limiar e
- (IV) extração do espectro médio de imagens ROI



# Componentes de um sistema de imagens multiespectrais

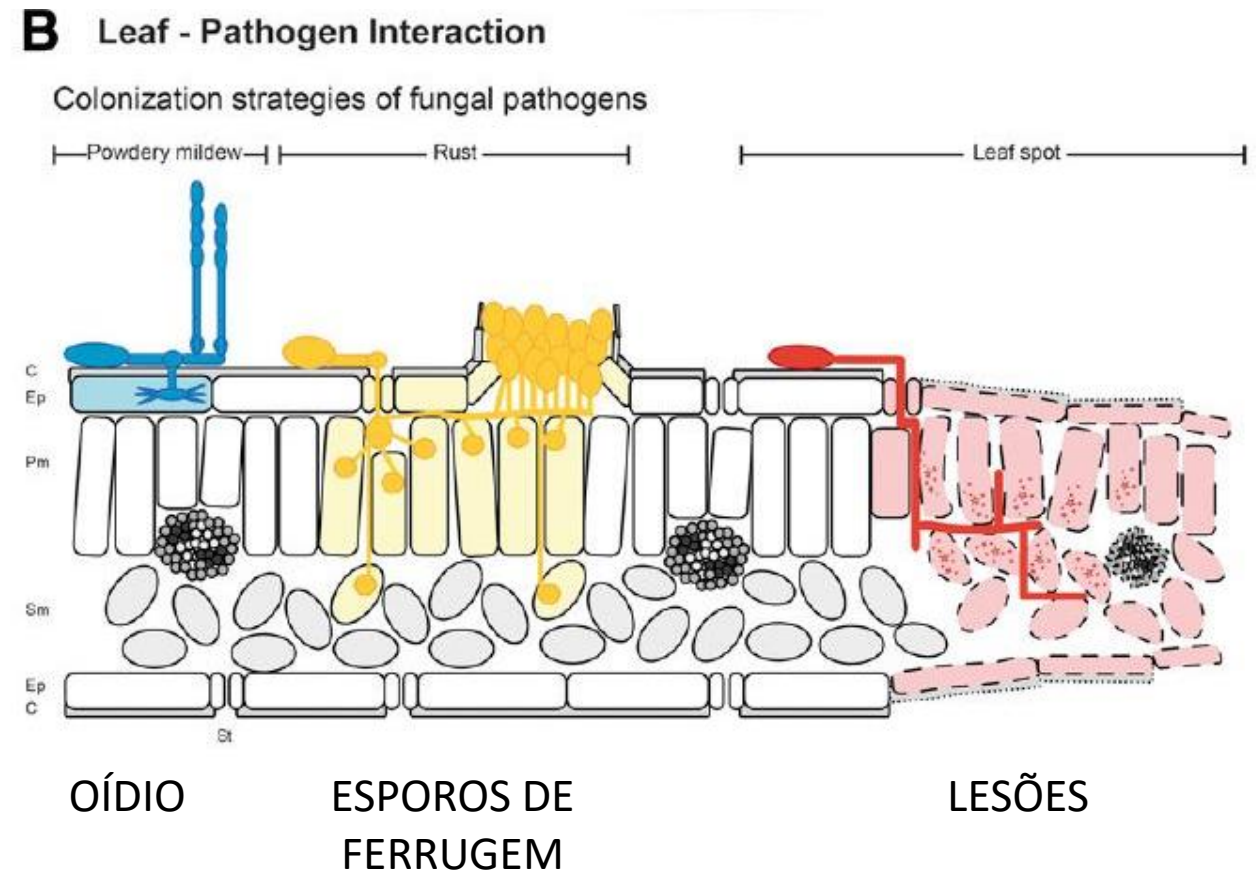
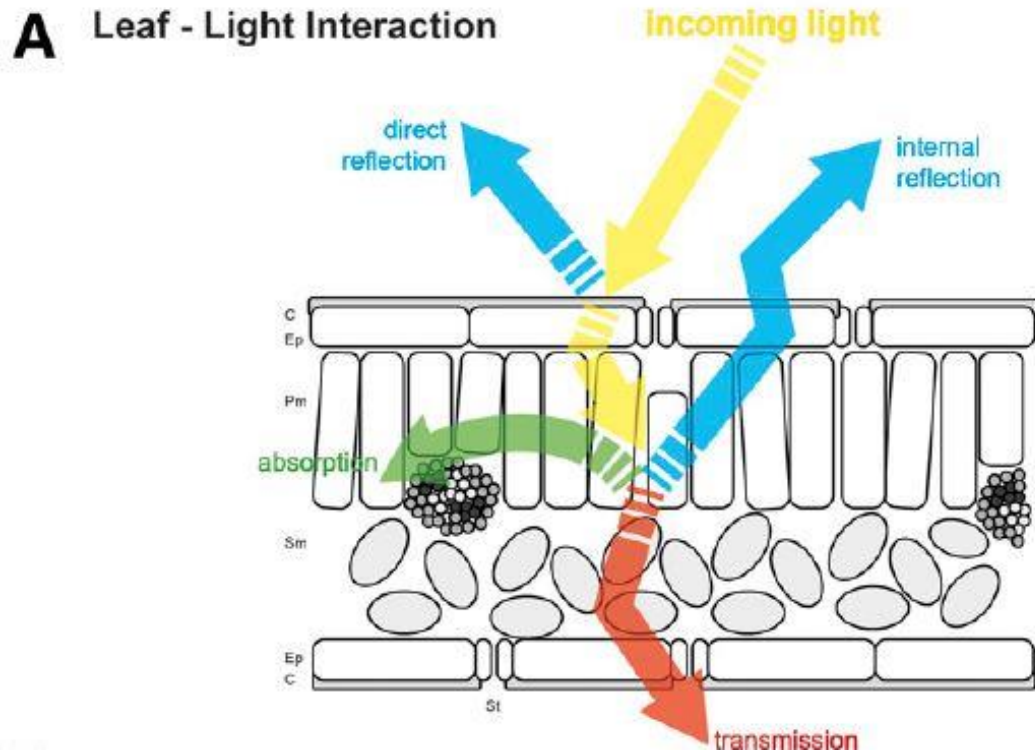


# Ilustração do fluxo de trabalho típico em aplicações de imagens multiespectrais





# Interação da radiação incidente e alterações causadas por patógenos em tecidos vegetais

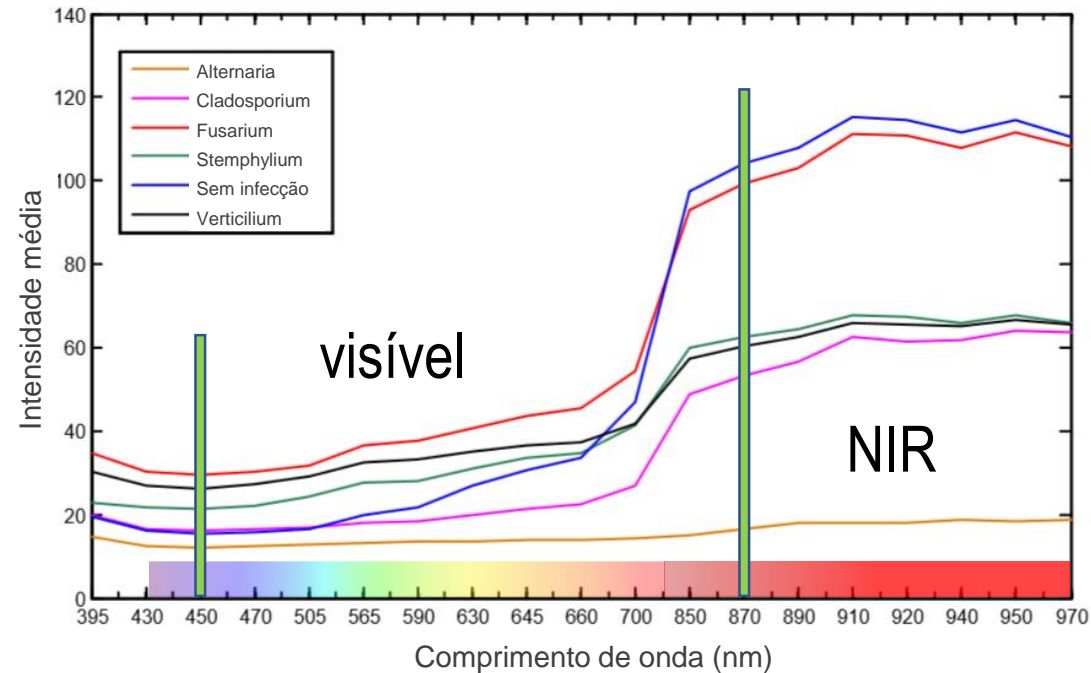


[Anne-Katrin Mahlein](https://doi.org/10.1094/PDIS-03-15-0340-FE)

<https://doi.org/10.1094/PDIS-03-15-0340-FE>



# Detecção de fungos em sementes de espinafre



Stemphylium



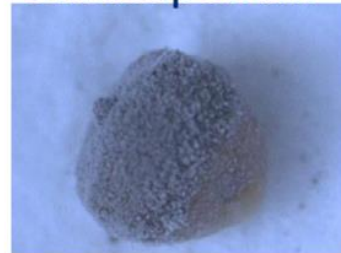
Alternaria



Fusarium

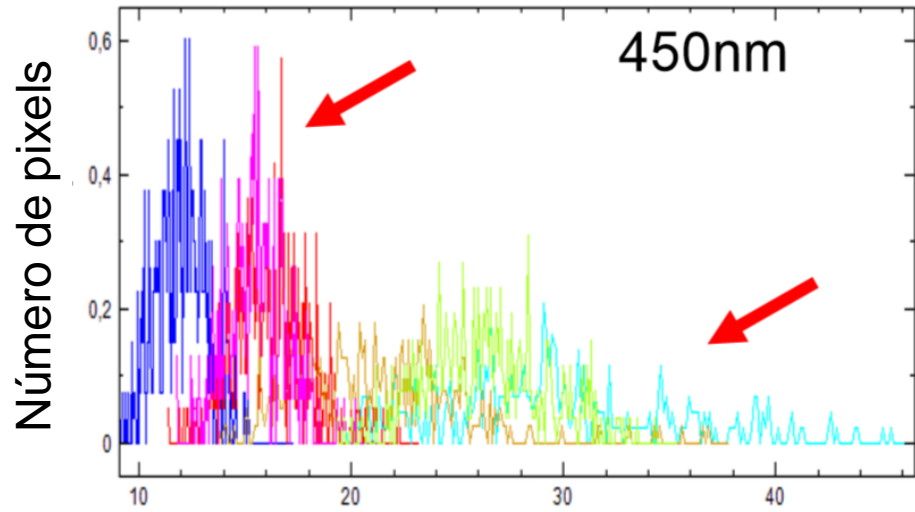


Cladosporium

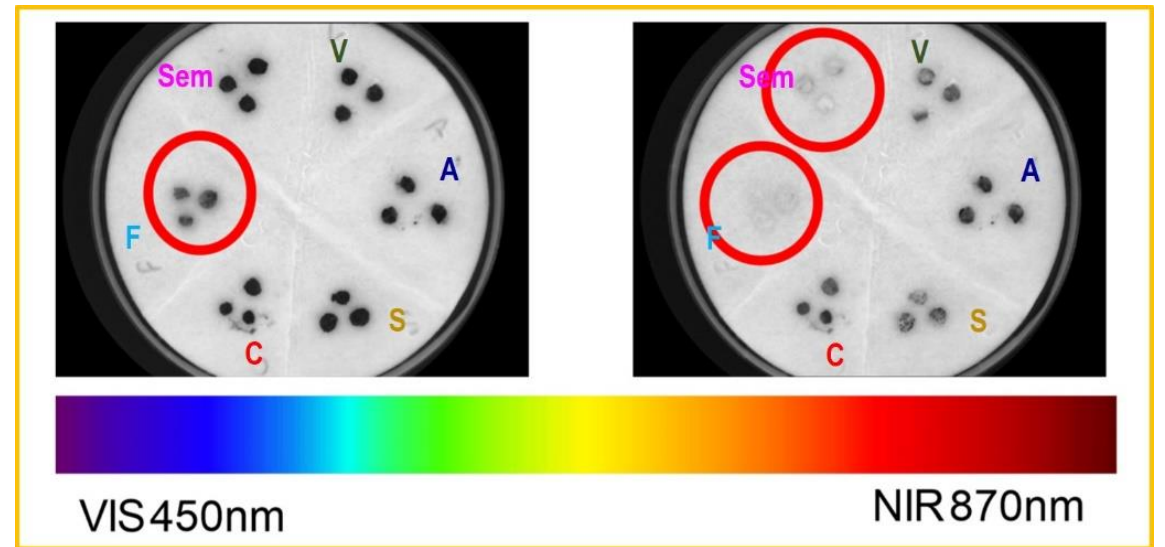
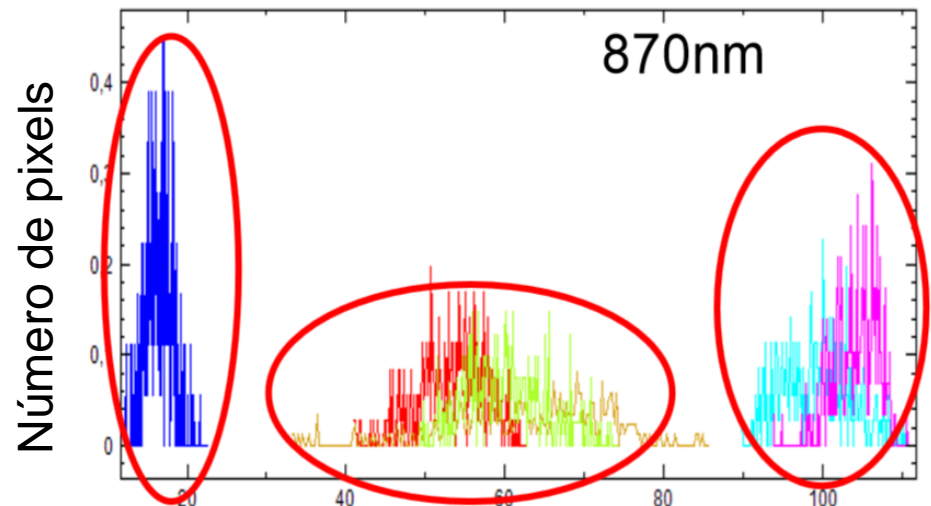


Verticillium





*Alternaria* spp.  
*Cladosporium* spp.  
*Fusarium* spp.  
*Verticillium* spp.  
*Stemphylium* spp.  
 Sem infecção



Intensidade do pixel

Olesen et al. (2011)

# Detecção de fungos em sementes de cevada

Intensidade média de pixel (a) e refletância média (b) de sementes de cevada infectadas com:

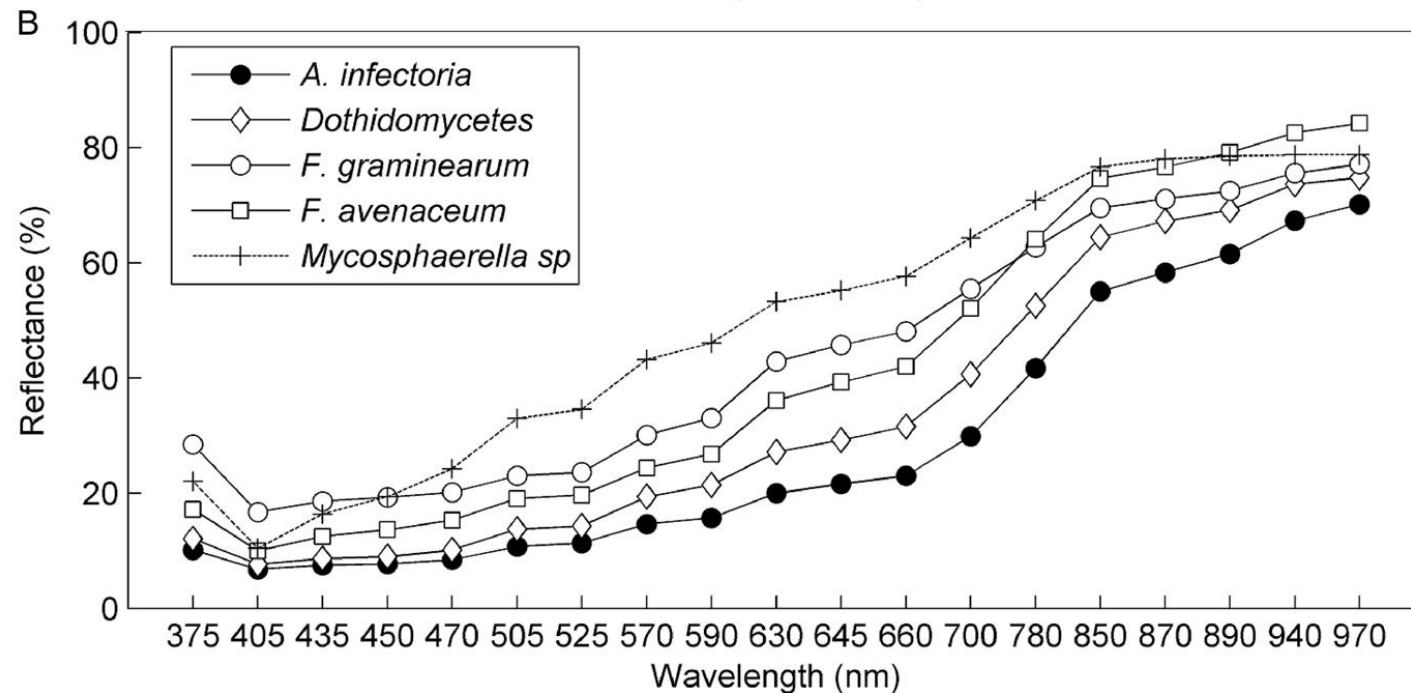
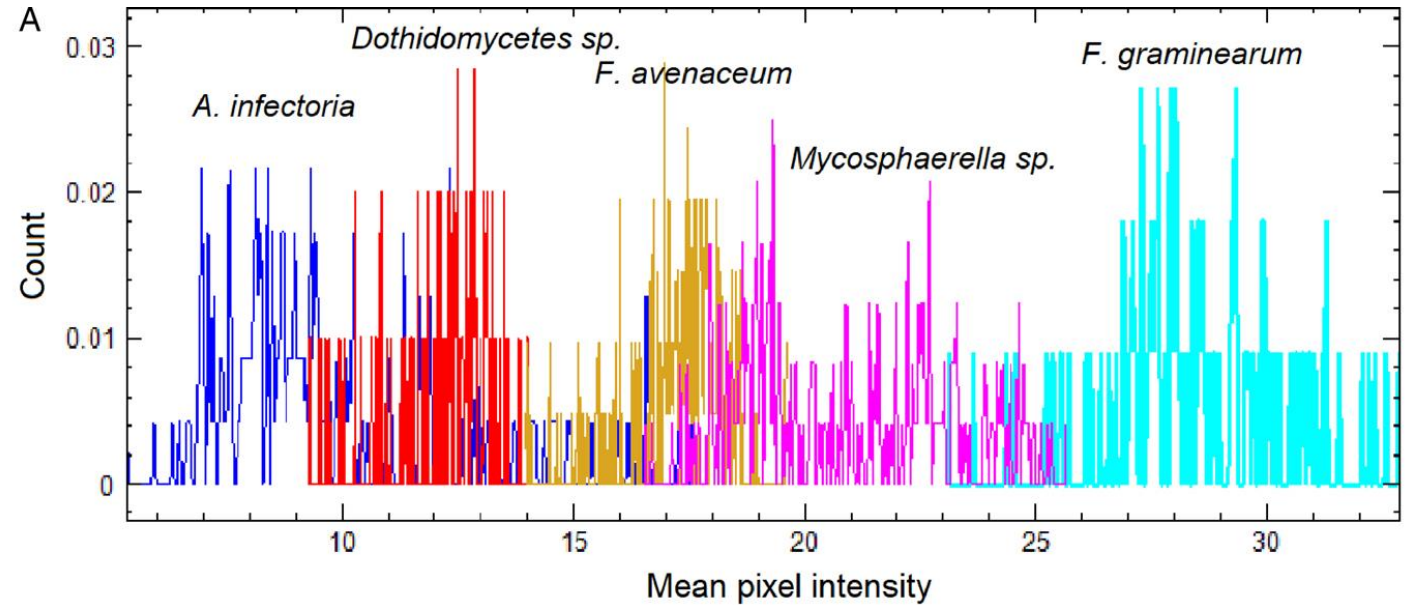
*Alternaria infectoria*

*Dothidomyces sp.*

*Fusarium graminearum*

*Fusarium avenaceum*

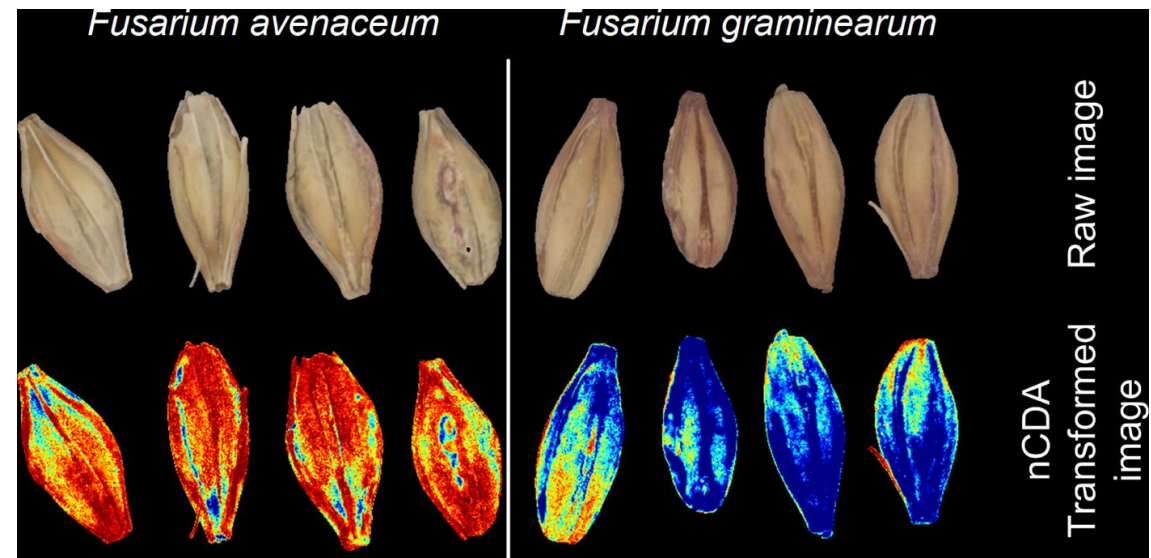
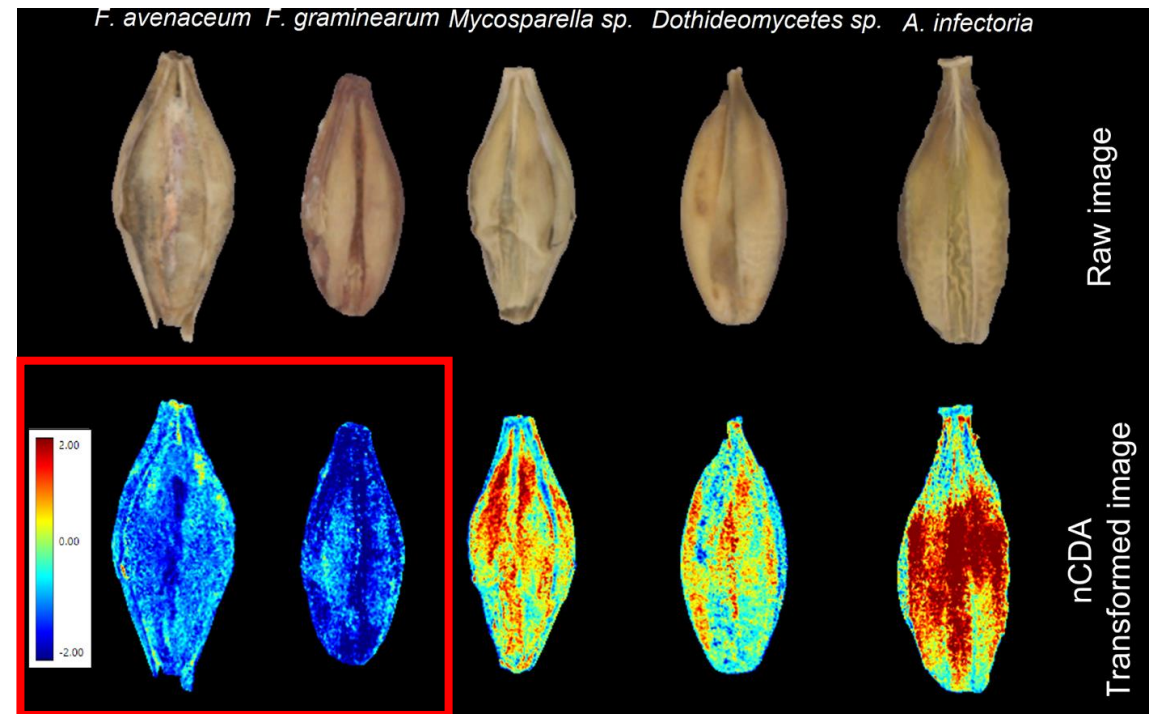
*Mycosphaerella tassiana*



# Análise discriminante canônica normalizada

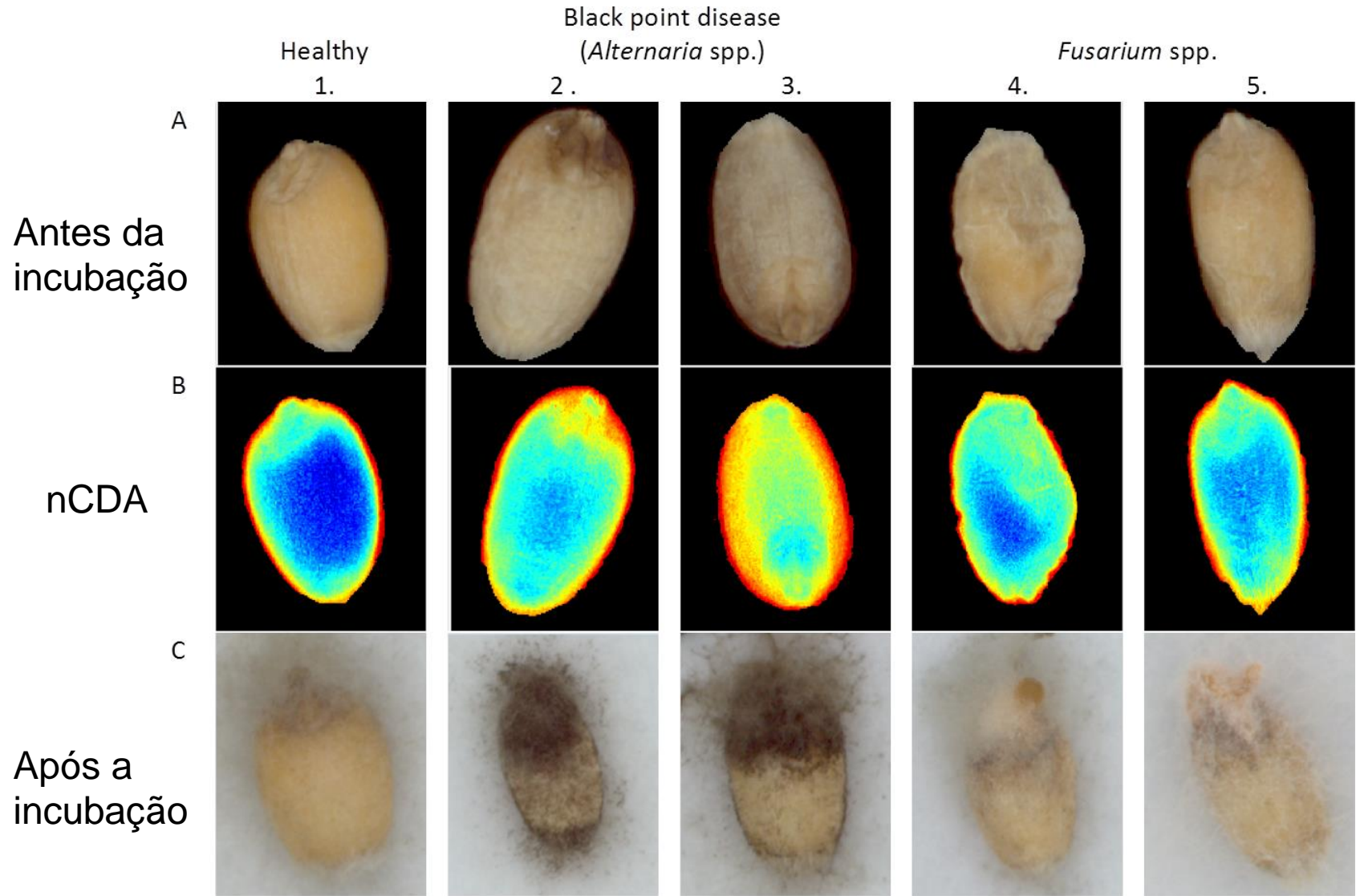
O modelo nCDA não mostrou diferenças entre o *Fusarium graminearum* e *Fusarium avenaceum*

Modelo nCDA aprimorado: comparações de pares





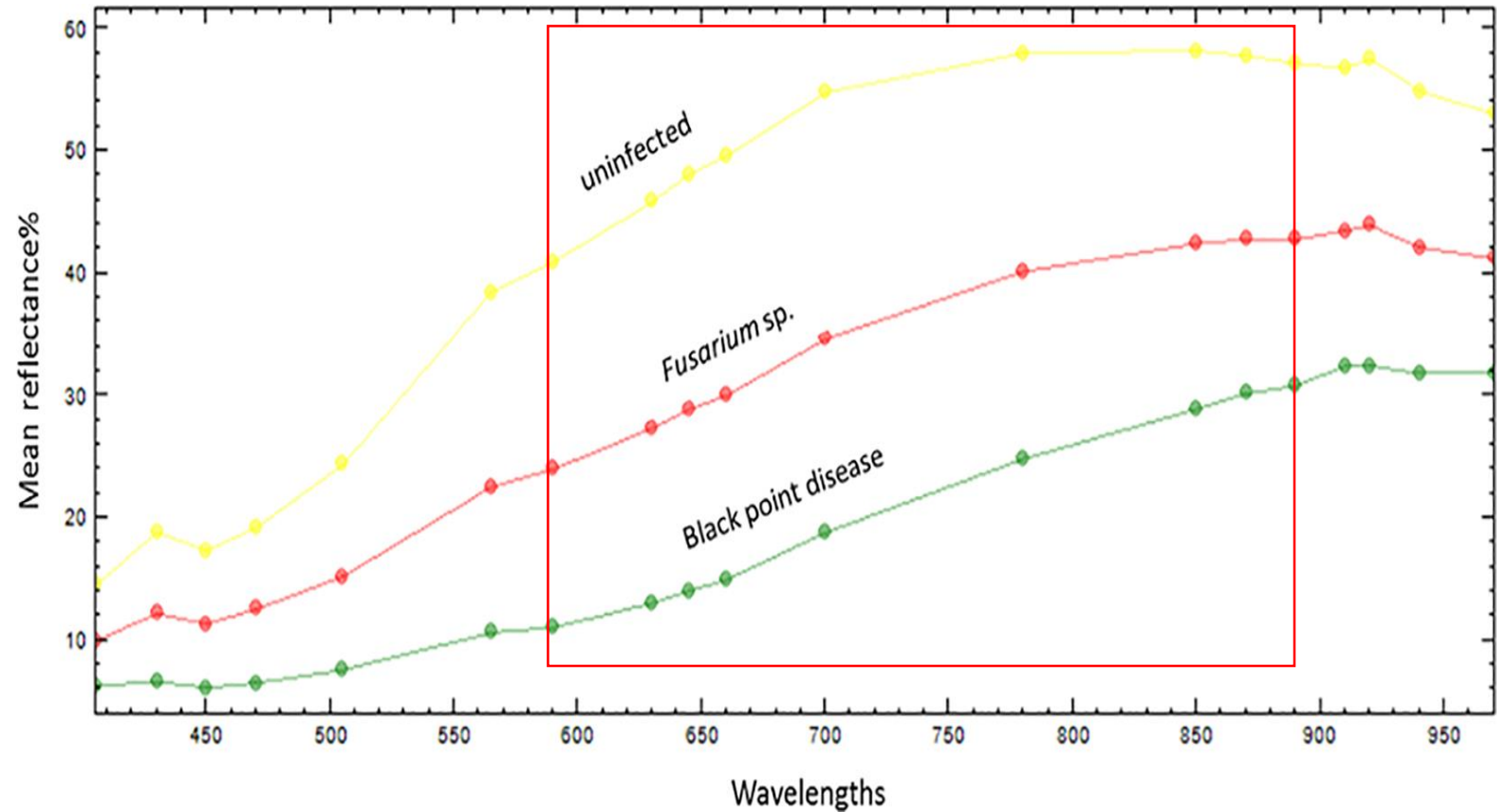
# Detecção de fungos em sementes de trigo



<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152011>

Vrešak et al. (2016)

# Detecção de fungos em sementes de trigo

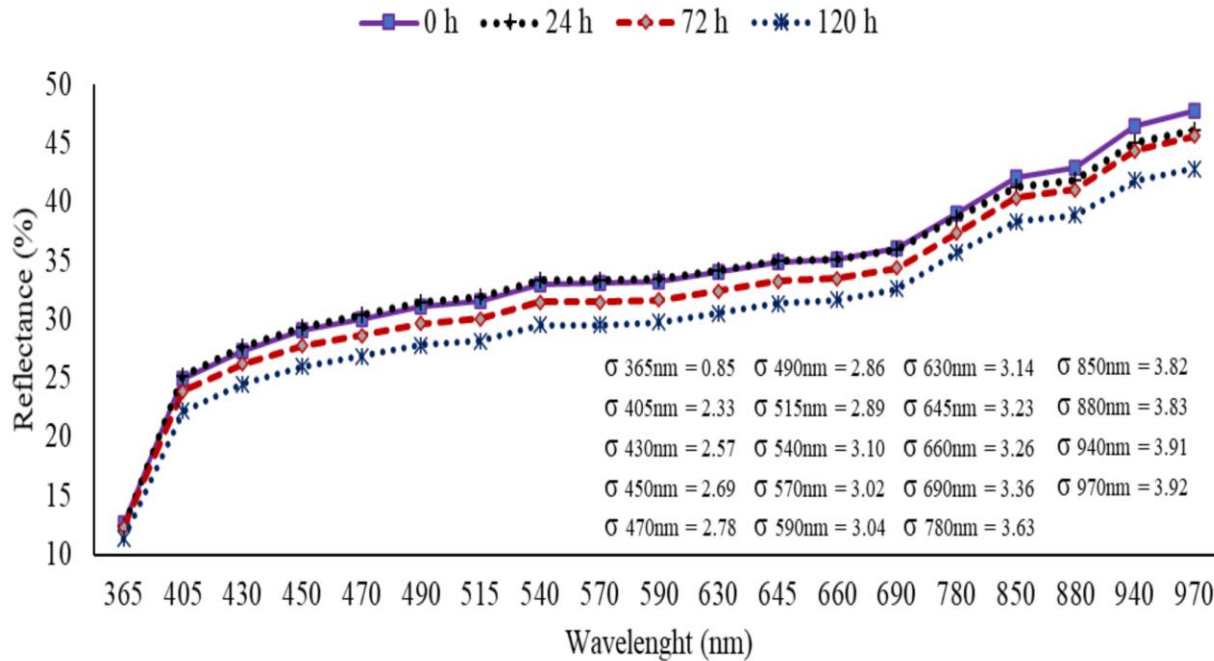


<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152011>

Vrešak et al. (2016)

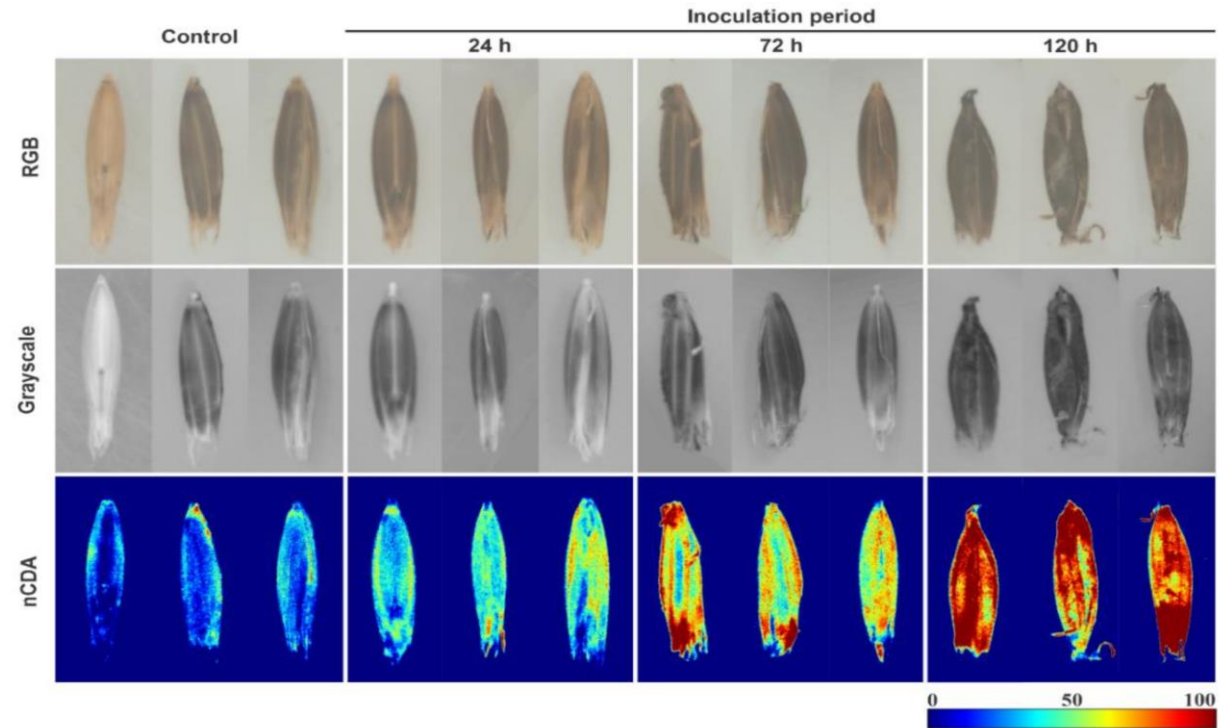


# Helmintosporiose em aveia-preta



Os espectros de reflectância média de 200 sementes não infectadas e 200 sementes infectadas com *D. avenae* para cada período de inoculação em 24, 72 e 120 h obtidos em 19 comprimentos de onda

França-Silva et al. (2020)



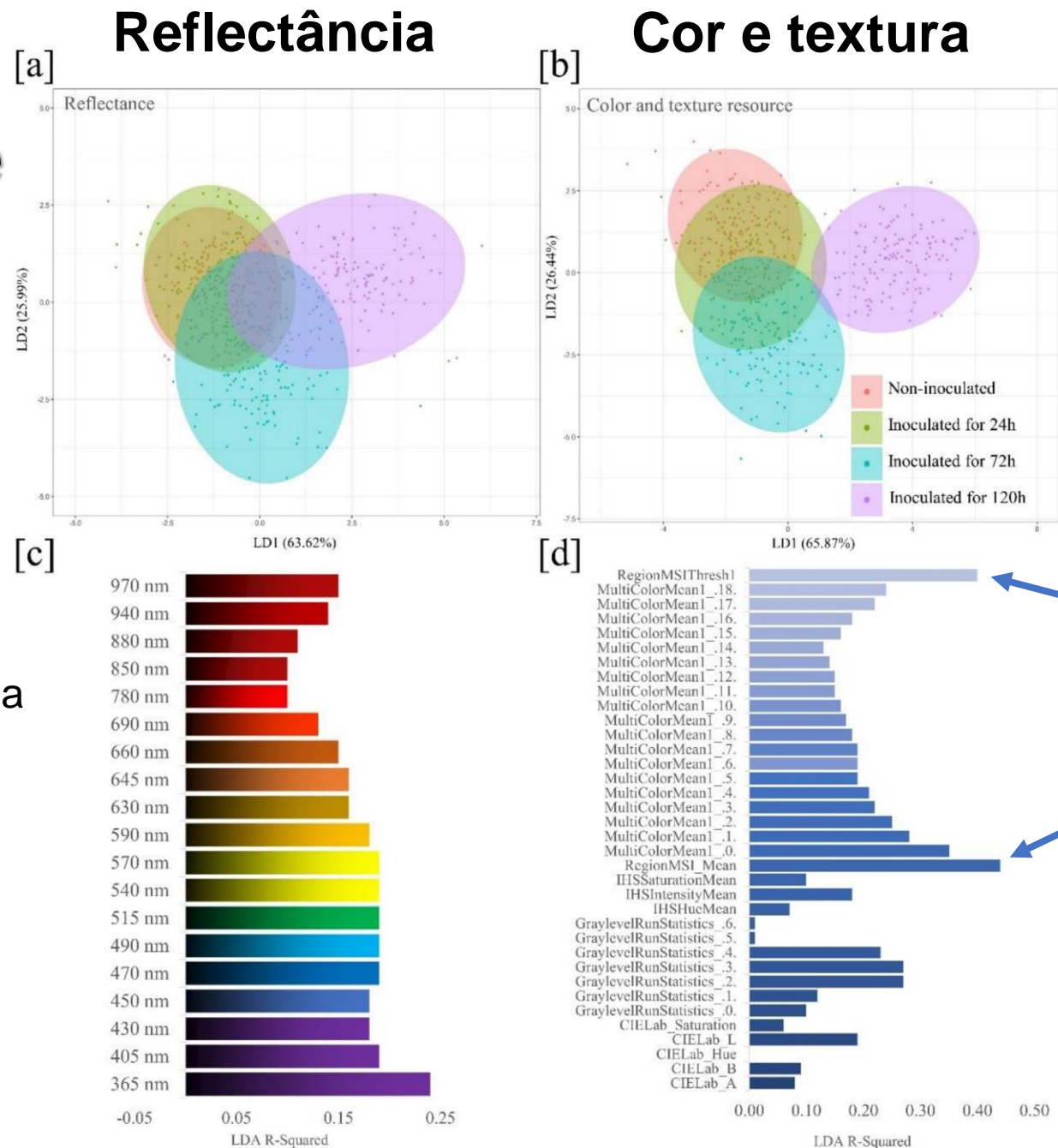
Imagens brutas e correspondentes em tons de cinza e imagens nCDA de sementes de aveia-preta a **365 nm** para sementes livres de fungos (controle) e sementes expostas a *Drechslera avenae* (Eidam) Sharif por 24, 72 e 120 h

Nas imagens transformadas pelo algoritmo nCDA, a cor azul representa os tecidos saudáveis, as cores verde e amarela são contaminação intermediária e a cor vermelha indica maior contaminação fúngica

# Helmintosporiose em aveia-preta

O comprimento de onda mais significativo para distinguir sementes não inoculadas de sementes inoculadas com *D. avenae* foi **365 nm**, enquanto comprimentos de onda mais longos mostraram uma tendência para valores menores de R quadrado

França-Silva et al. (2020)



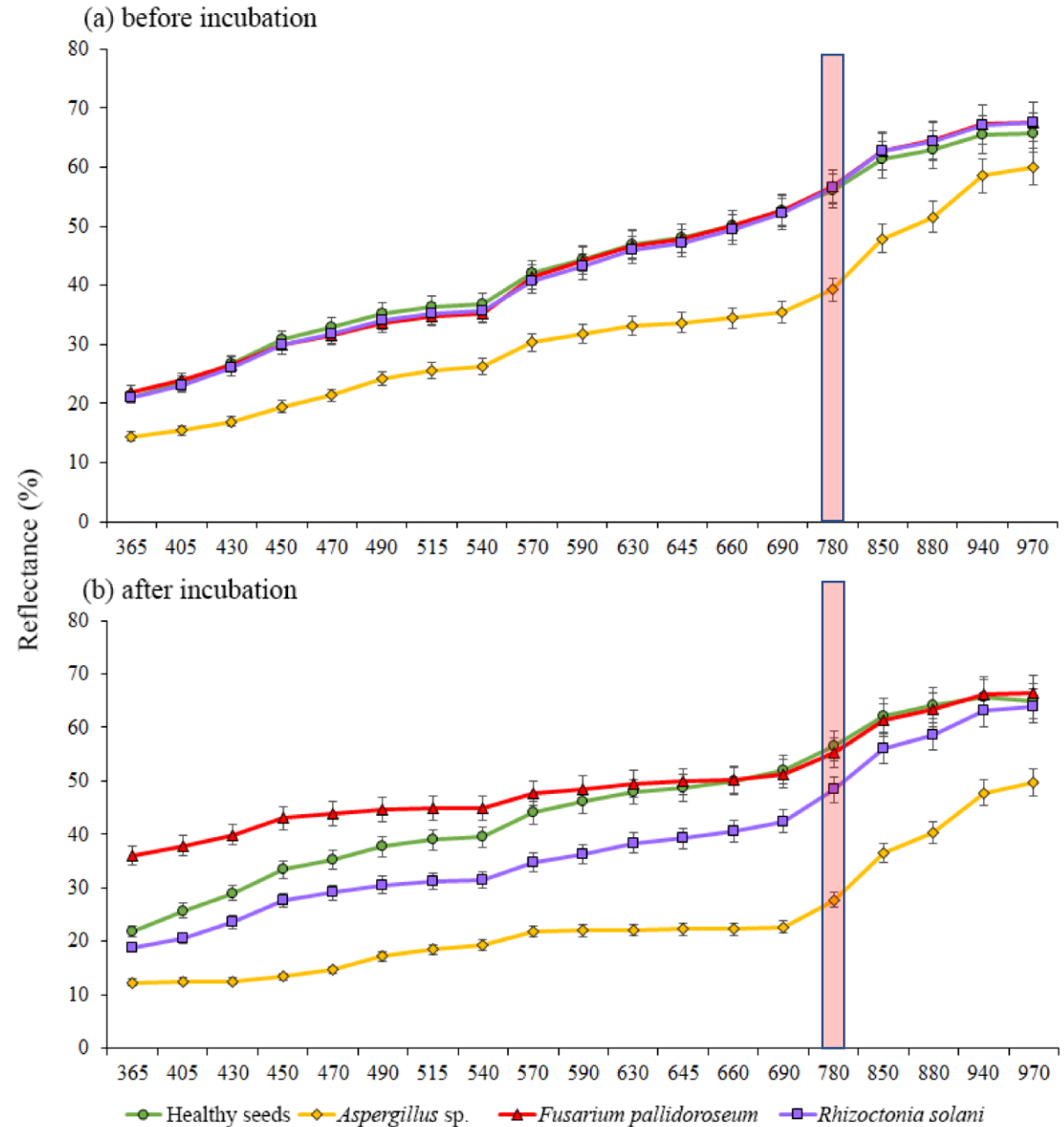
**RegionMSI\_Mean** e **RegionMSIthresh** foram os características mais significativas

# Detecção de fungos em sementes de feijão-caupi

*Fusarium pallidoroseum*  
*Rhizoctonia solani*  
*Aspergillus* sp.

Assinatura espectral para classes de sementes saudas e com *Fusarium pallidoroseum*, *Rhizoctonia solani* e *Aspergillus* sp. em 19 comprimentos de onda em uma faixa de **365 a 970 nm** antes da incubação (a) e após a incubação (b)

Rego et al. (2020)

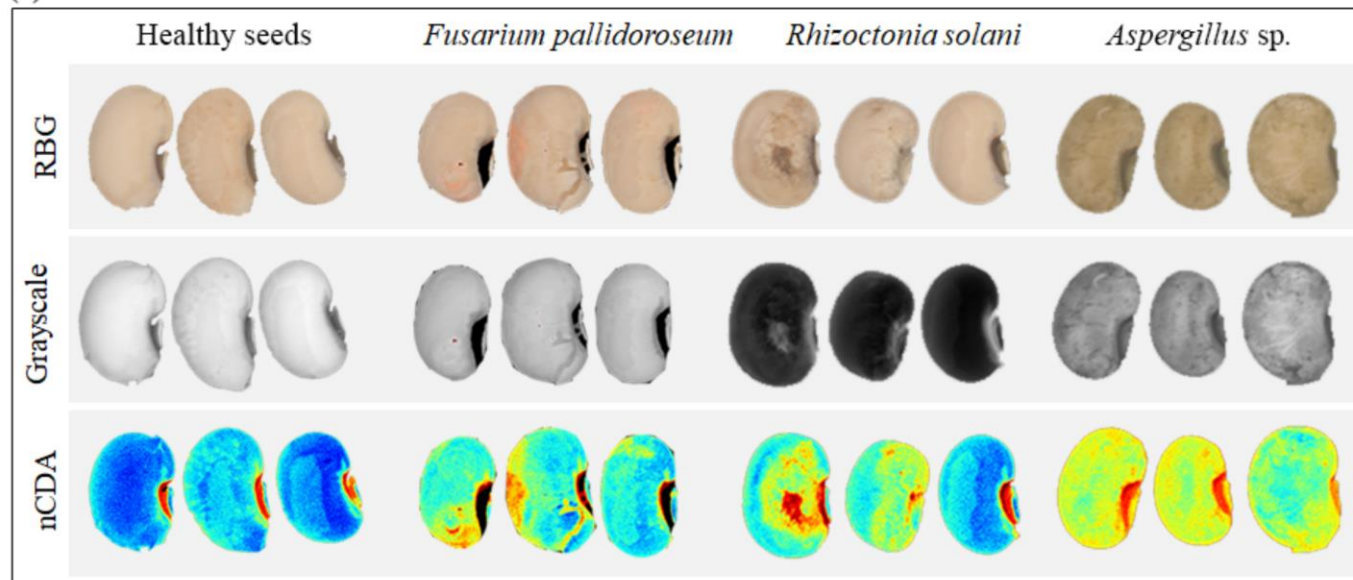




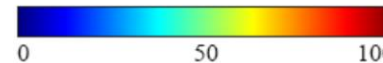
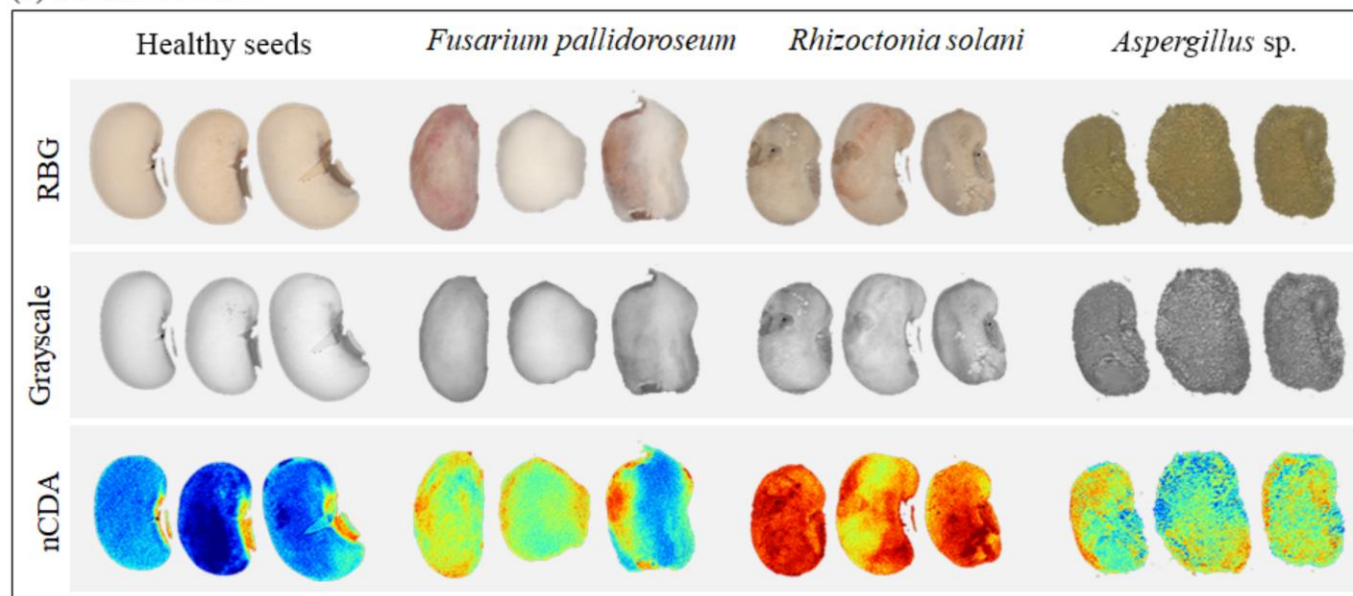
# Detecção de fungos em sementes de feijão-caupi

Imagens RGB e correspondentes imagens transformadas em tons de cinza e por análise discriminante canônica (nCDA) capturadas a **780 nm**, com padrões de refletância em classes de sementes saudáveis e com *Fusarium pallidoroseum*, *Rhizoctonia solani* e *Aspergillus* sp. antes da incubação (a) e após a incubação (b)

(a) before incubation



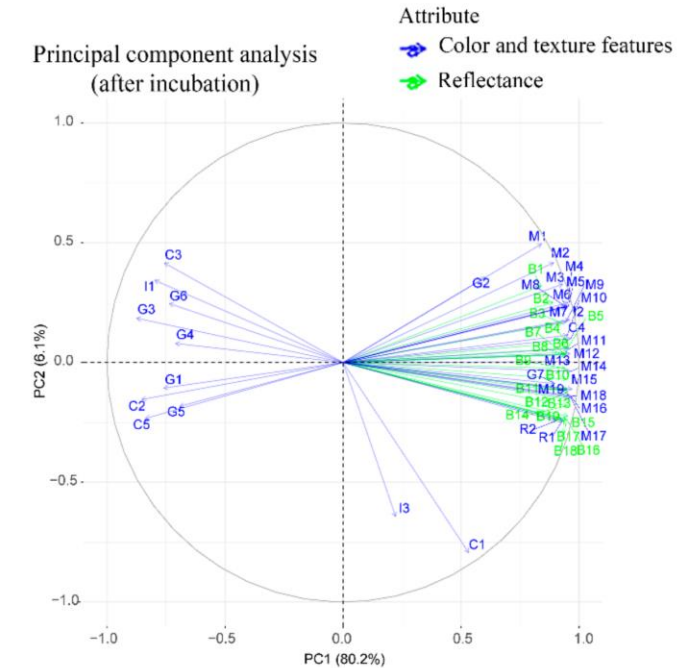
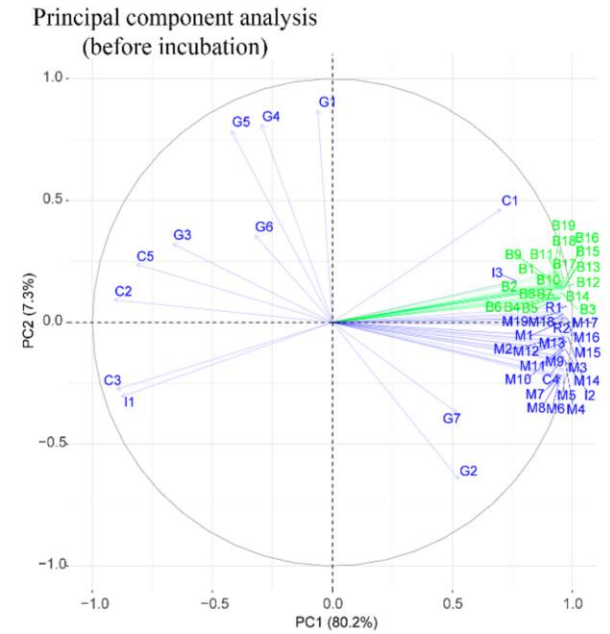
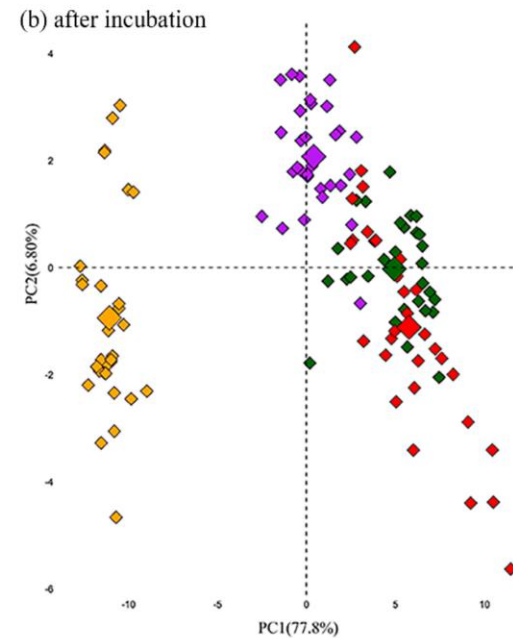
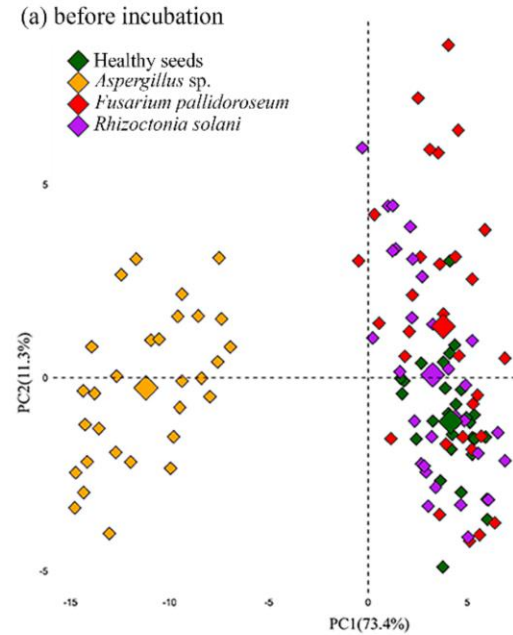
(b) after incubation



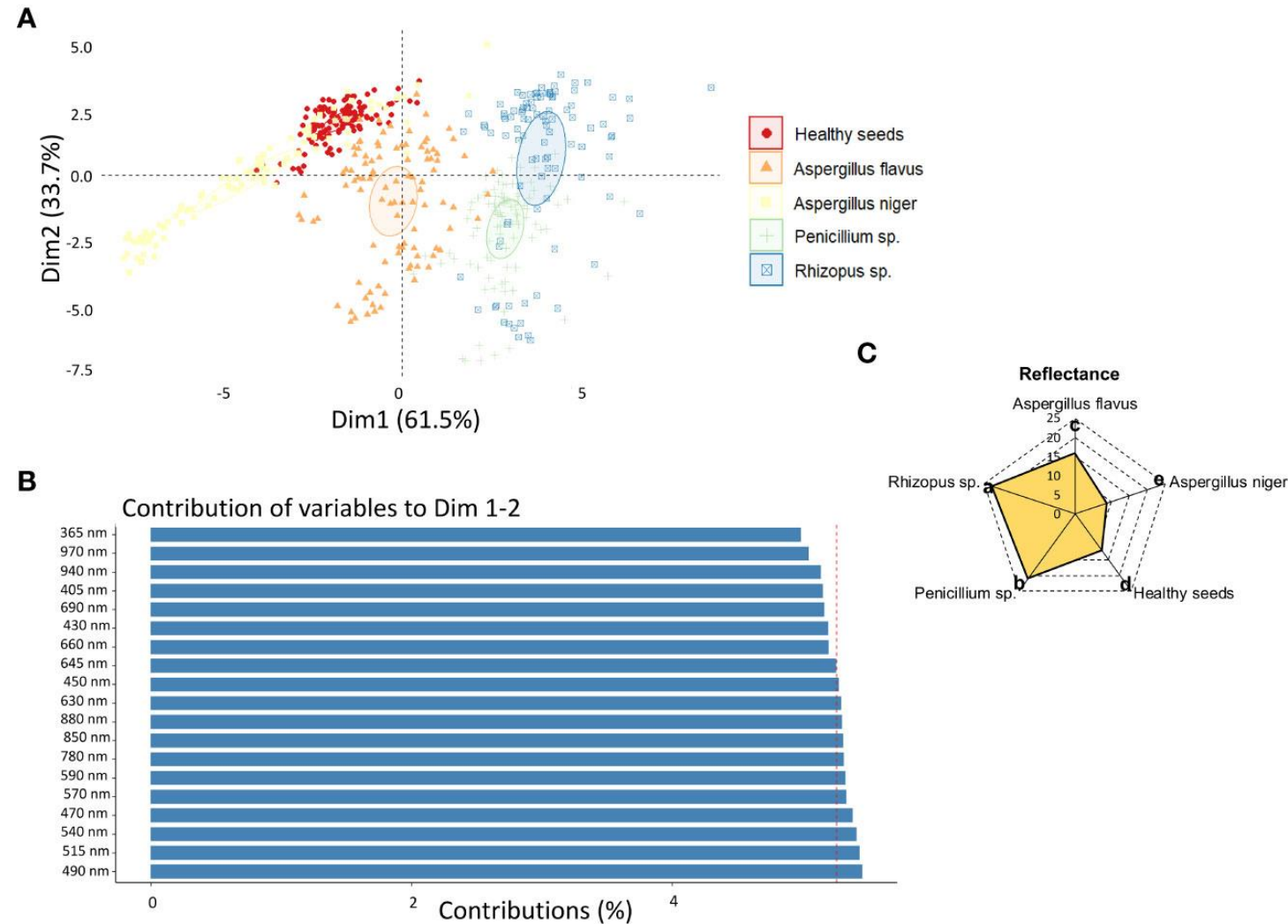
# Detecção de fungos em sementes de feijão-caupi

Biplots da análise de componentes principais para **reflectância**, características de **cor e textura** para classes de sementes saudáveis e com *Fusarium pallidoroseum*, *Rhizoctonia solani* e *Aspergillus* sp. em 19 comprimentos de onda (365 a 970 nm) antes da incubação (a) e após a incubação (b)

Rego et al. (2020)



# Detecção de fungos em sementes de amendoim utilizando imagens multiespectrais



(A) Análise de componentes principais (PCA) de sementes sadias de amendoim e sementes infectadas por *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp. e *Rhizopus* sp. Baseadas em descritores de reflectância

(B) contribuição dos descritores de reflectância para a discriminação das diferentes classes de fungos

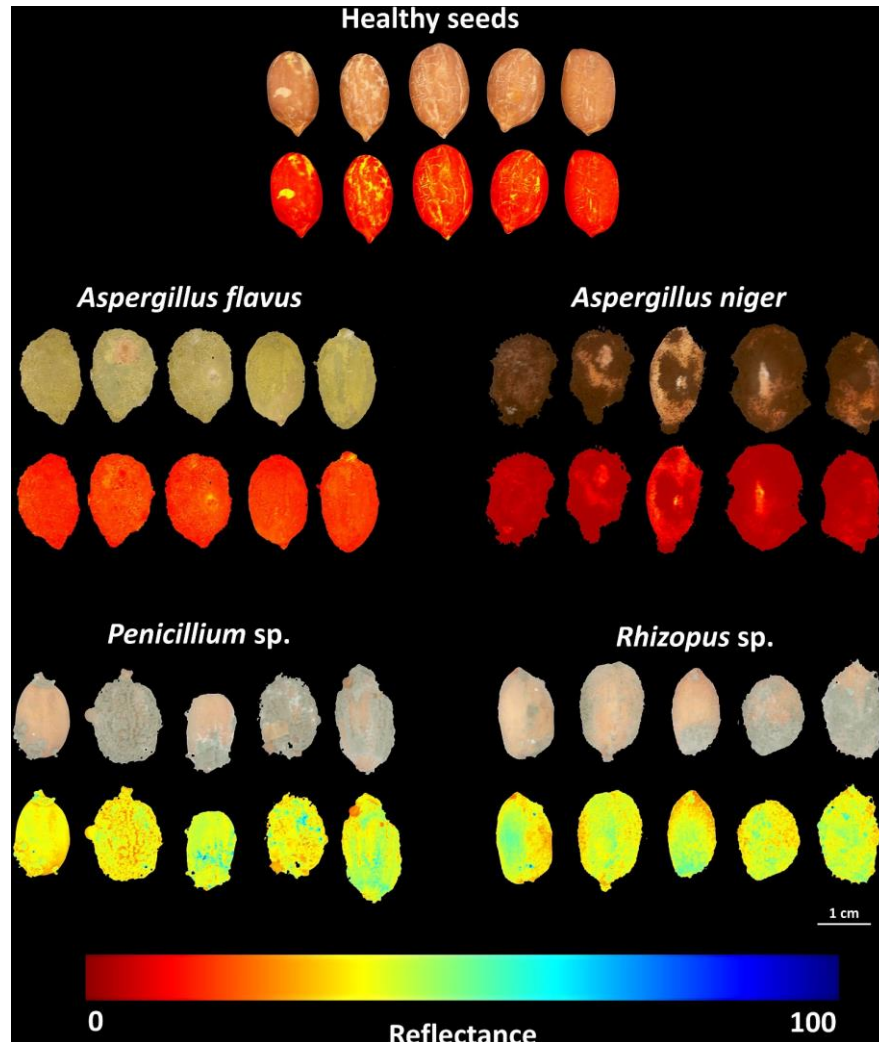
(C) média do descriptor de reflectância que mais contribuiu para a variabilidade entre as classes de fungos, ou seja, 490 nm

<https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1112916>

Sudki et al. (2023)



# Detecção de fungos em sementes de amendoim utilizando imagens multiespectrais



Imagens RGB (Red-Green-Blue) e imagens de refletância capturadas a 490 nm de sementes saudáveis de amendoim e sementes infectadas por *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp. and *Rhizopus* sp. após 216 h de incubação.

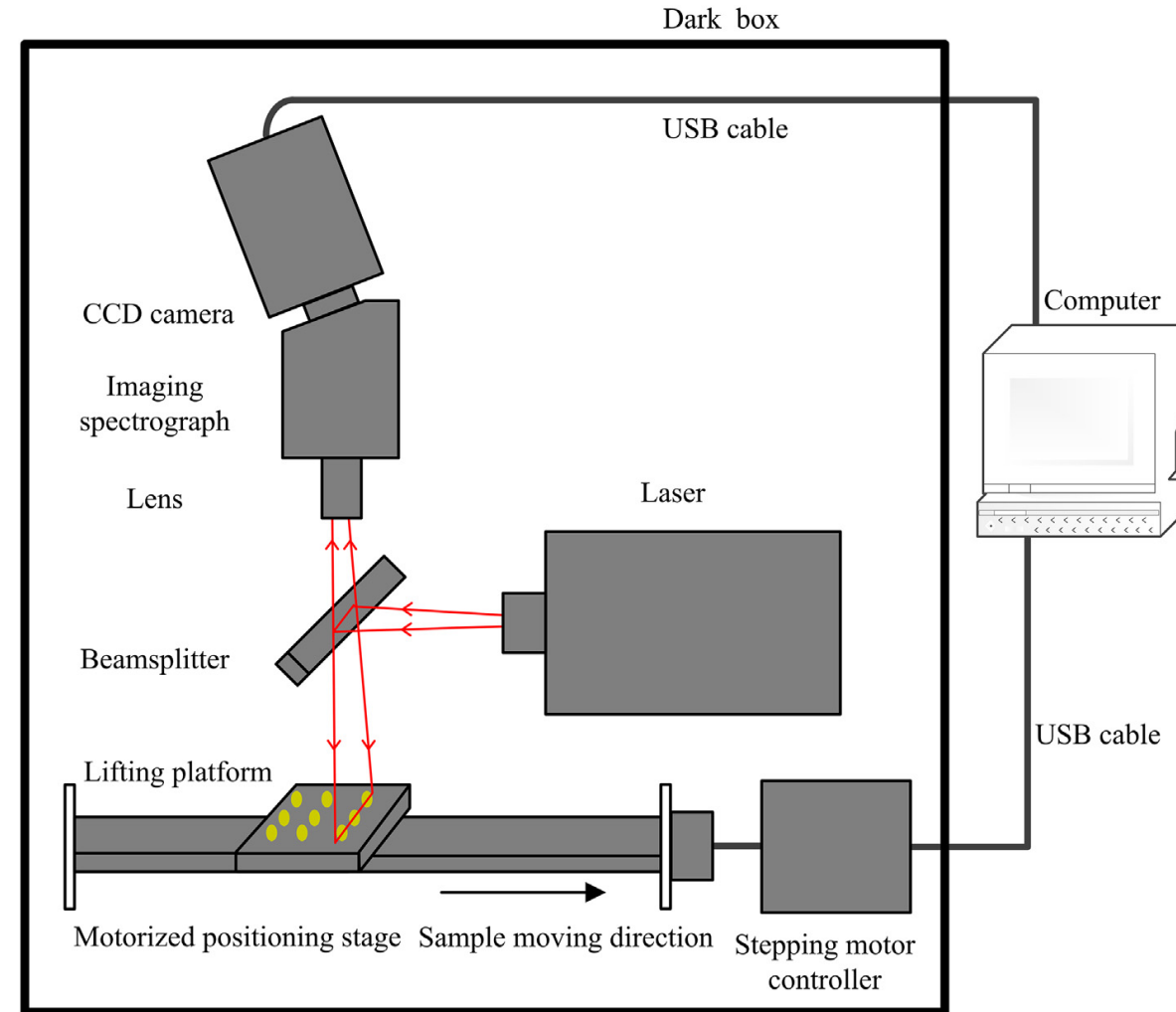
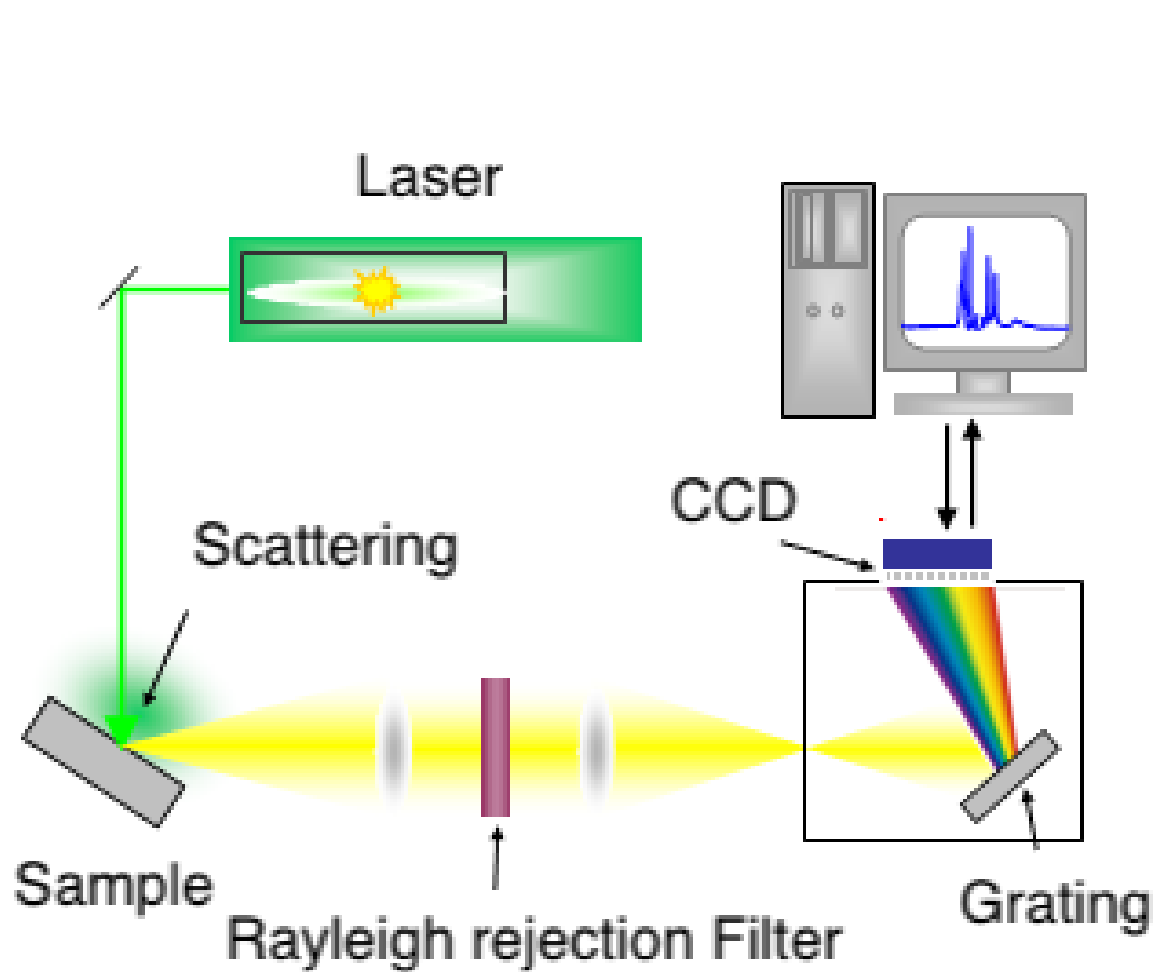
As imagens de refletância foram transformadas pelo algoritmo de discriminação canônica normalizada (nCDA); cada pixel na imagem de refletância contém um único valor de refletância dependente da cor, textura e composição química do micélio do fungo.

<https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1112916>

Sudki et al. (2023)

# Imagem hiperespectral Raman

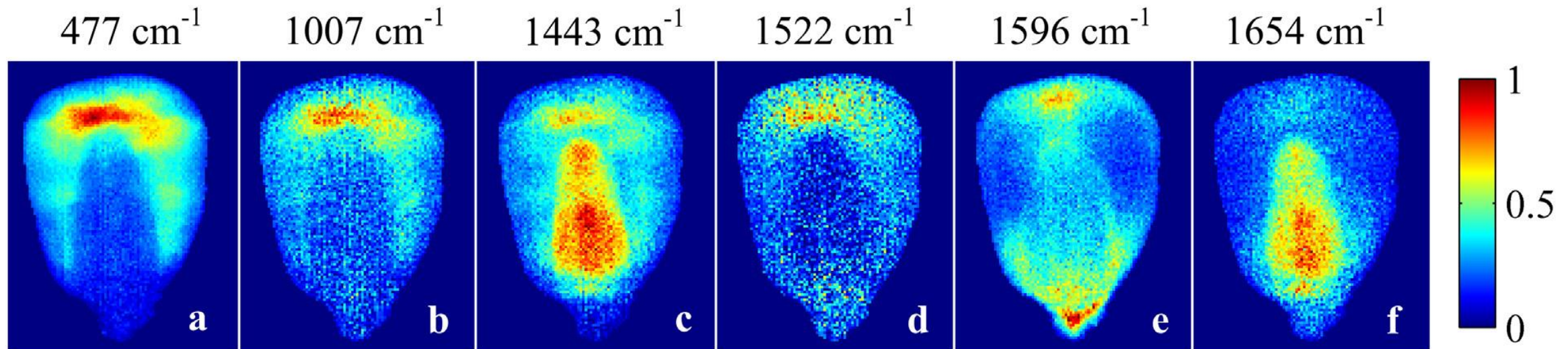
envolve a análise de espalhamento



Yang et al. (2018)

<https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.04.026>

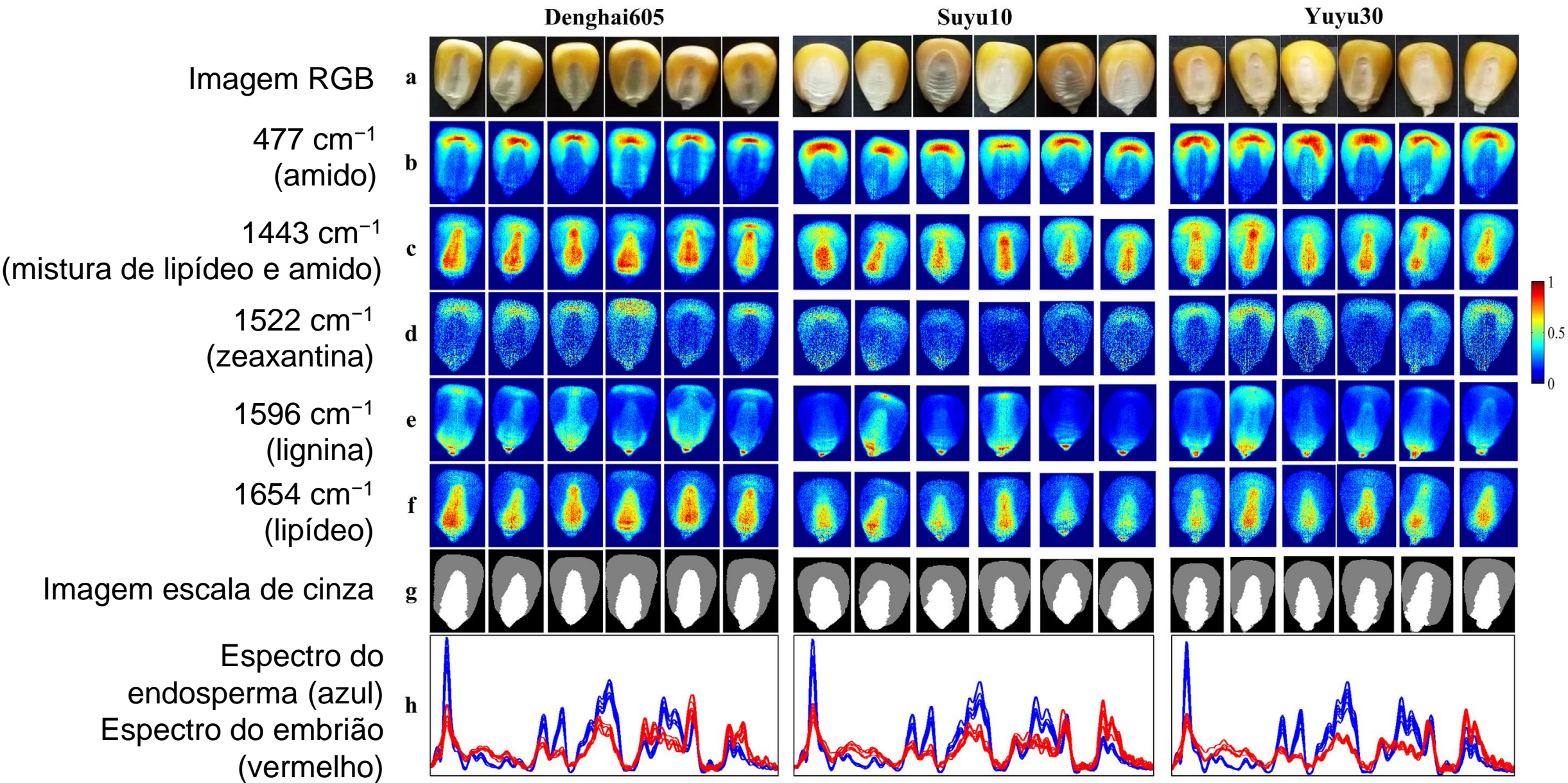
# Avaliação da composição química de sementes de milho utilizando imagem hiperespectral Raman



Yang et al. (2018)

<https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.04.026>

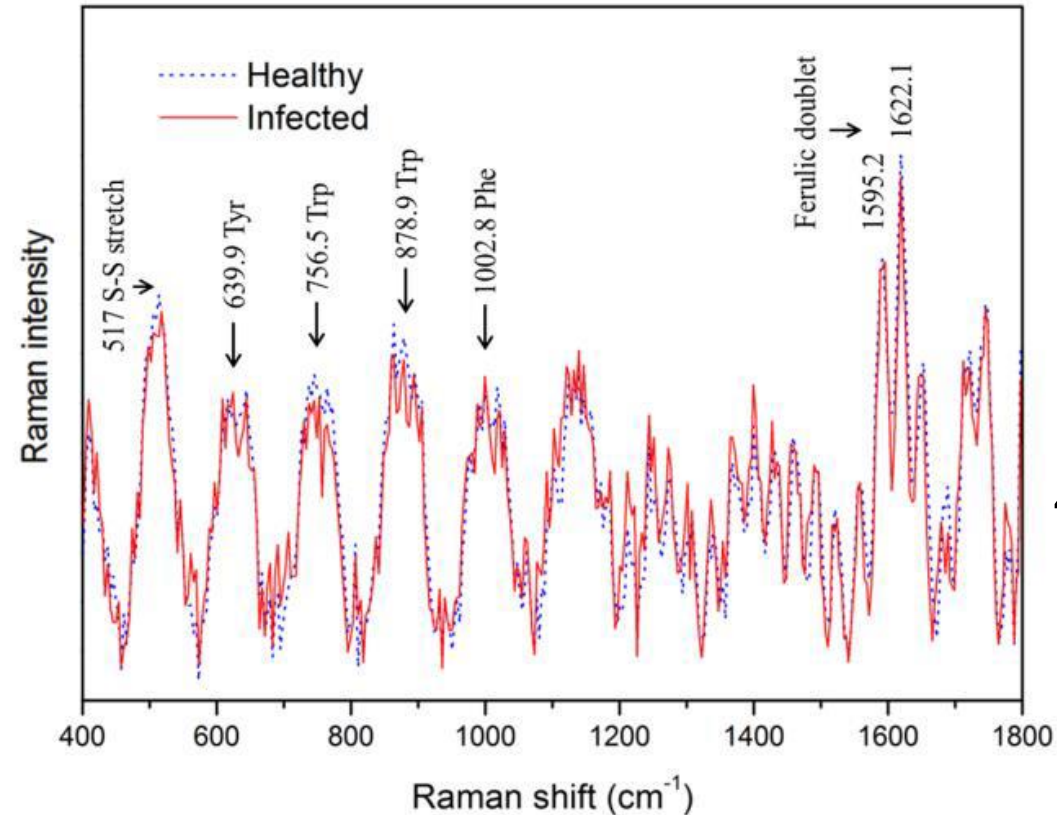




Yang et al. (2018)

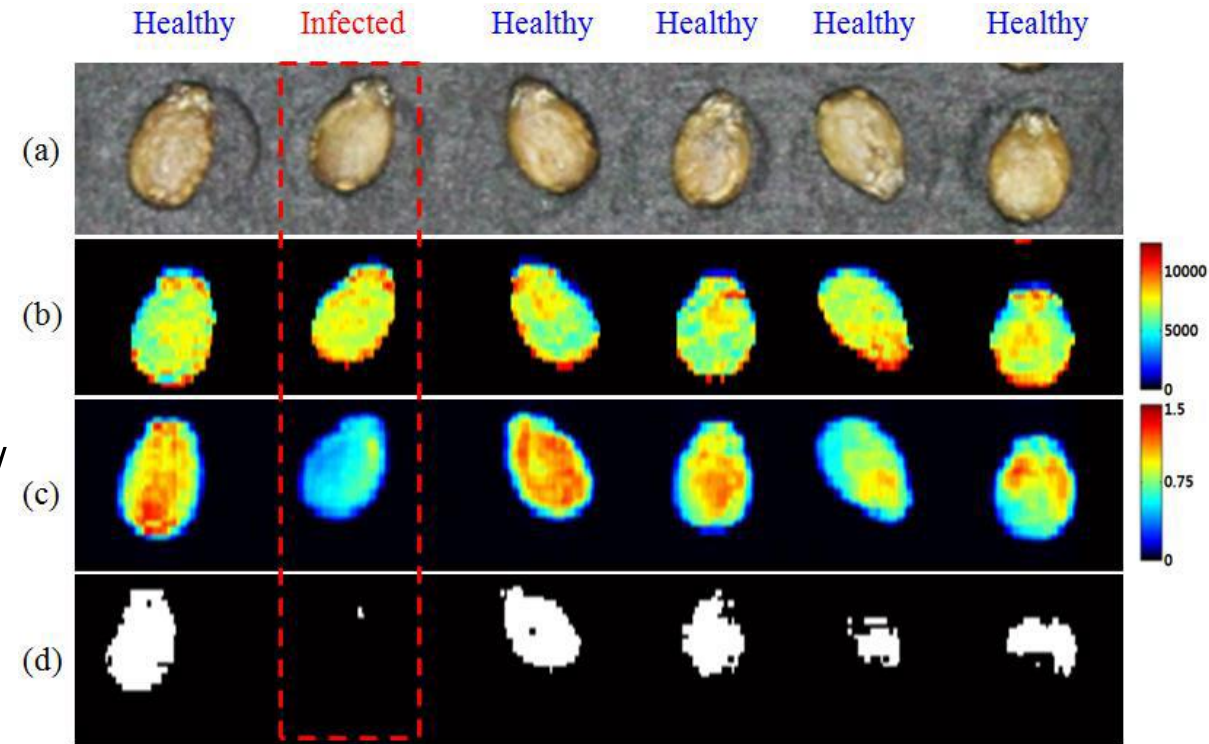
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.04.026>

# Detecção de sementes de melancia infectadas por bactéria (*Acidovorax citrulli*)



1076.8  $\text{cm}^{-1}$

1076.8  $\text{cm}^{-1}$ /  
437  $\text{cm}^{-1}$



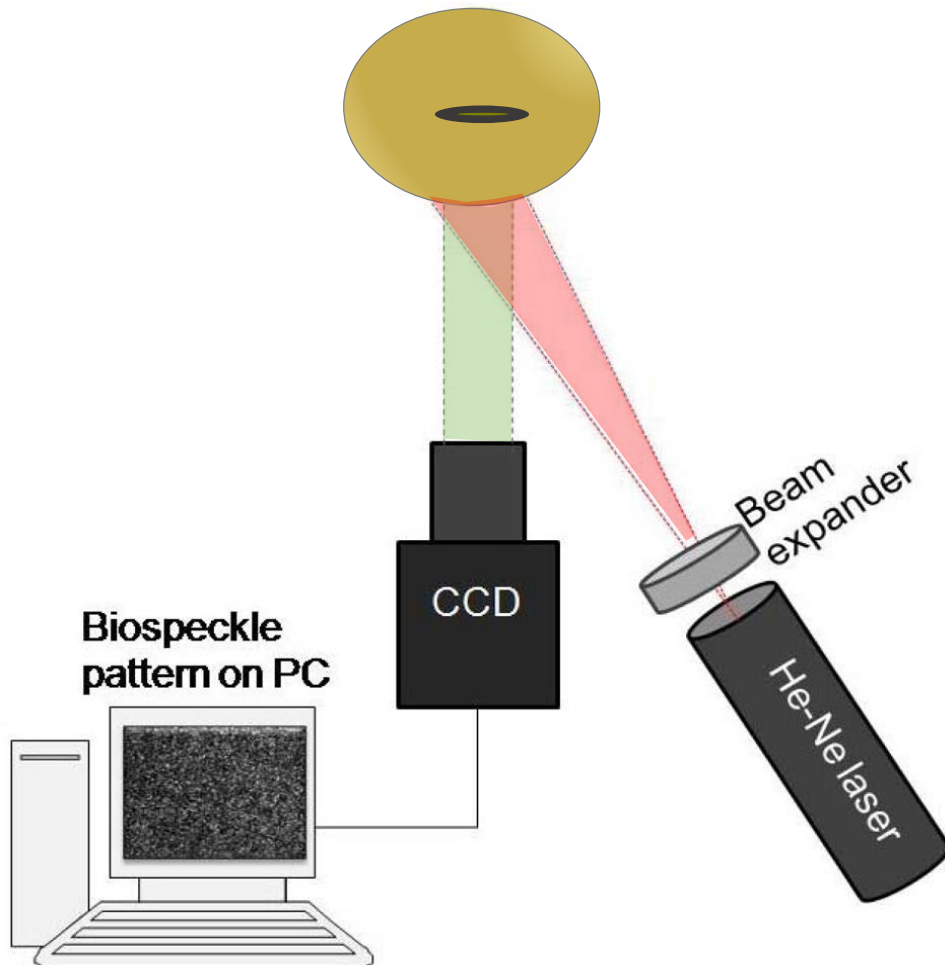
A relação entre duas bandas (em C): 1076.8  $\text{cm}^{-1}$ /437  $\text{cm}^{-1}$  proporcionou o melhor resultado para identificar sementes saudáveis e infectadas

doi:10.3390/s17102188

Lee et al. (2017)

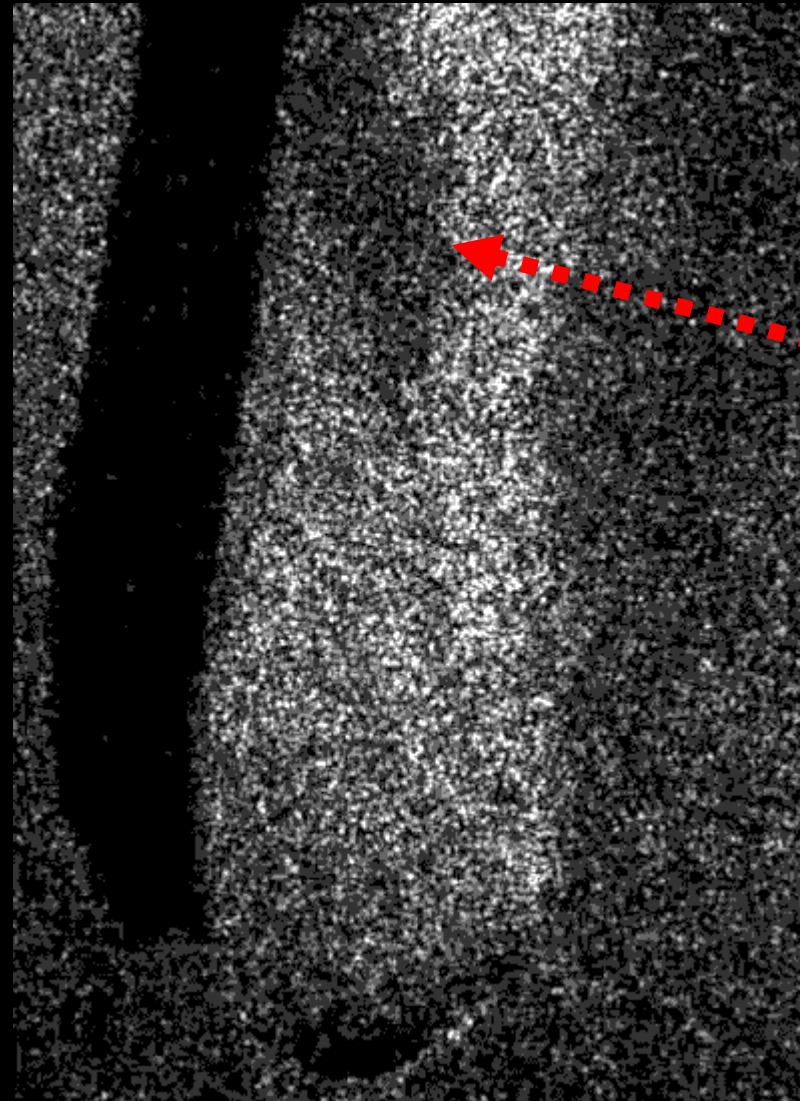
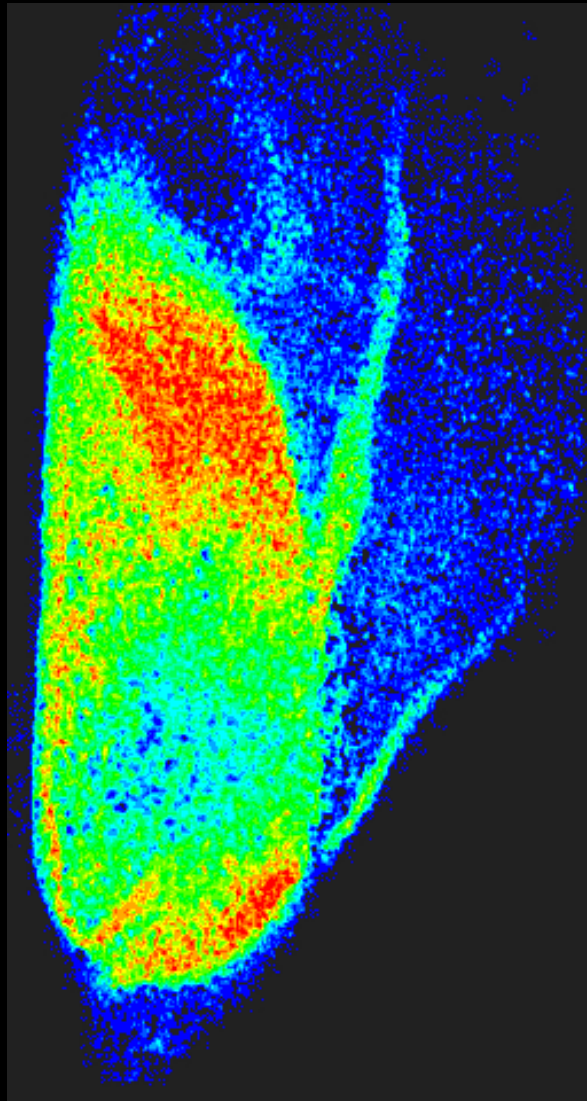


# Análise de imagens de sementes por tecnologia a laser (Biospeckle)

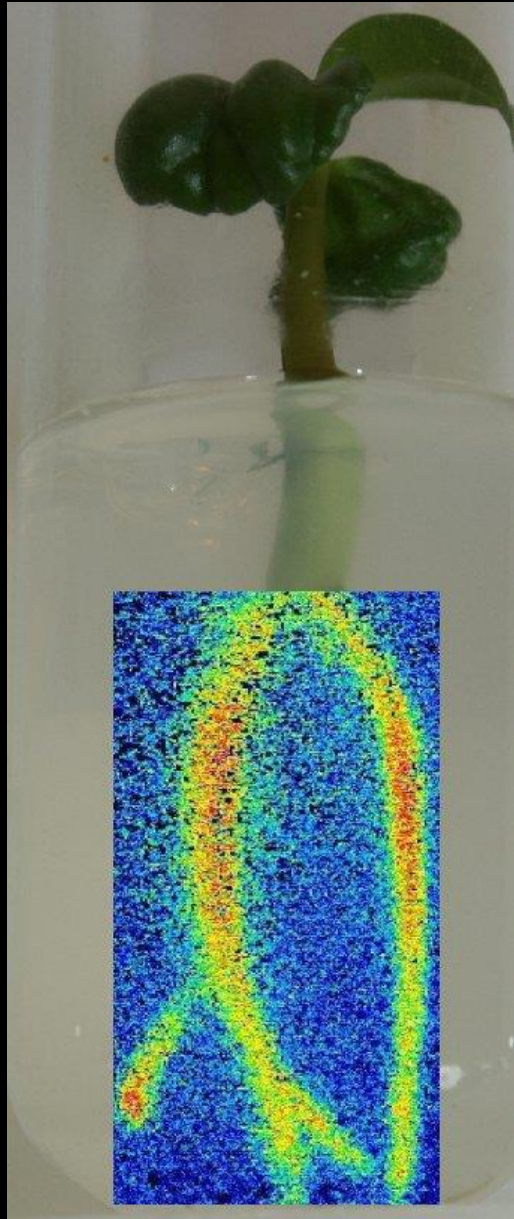


Fenômeno óptico de interferência que ocorre quando a luz laser incide sobre uma superfície onde se desenvolve um processo dinâmico biológico ou não biológico

# Avaliação de semente de milho (Biospeckle)



Áreas  
pontilhadas  
mais  
escuras  
apresentam  
maior  
atividade  
biológica

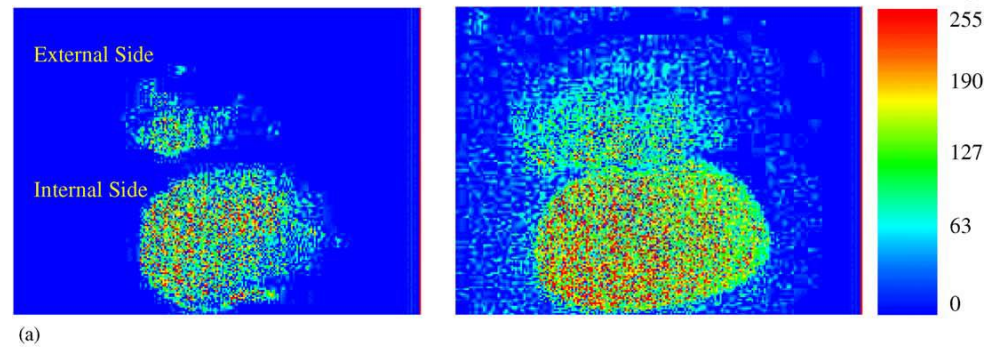


## **Análise da raiz de plântula de café por Biospeckle**

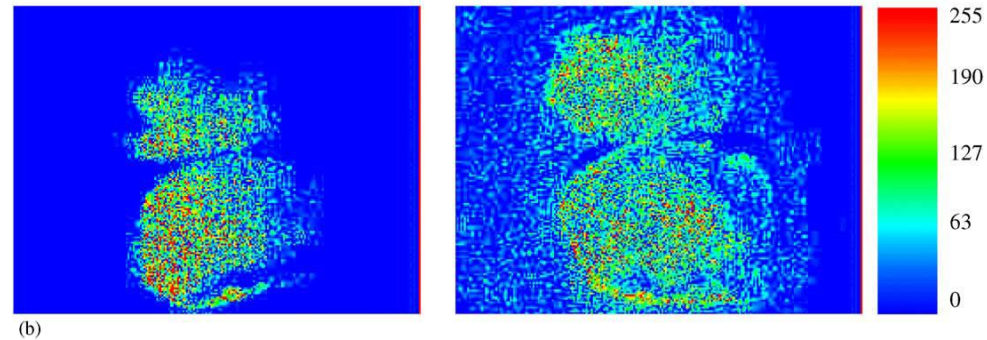
**Azul = baixa atividade  
Vermelho = alta atividade**



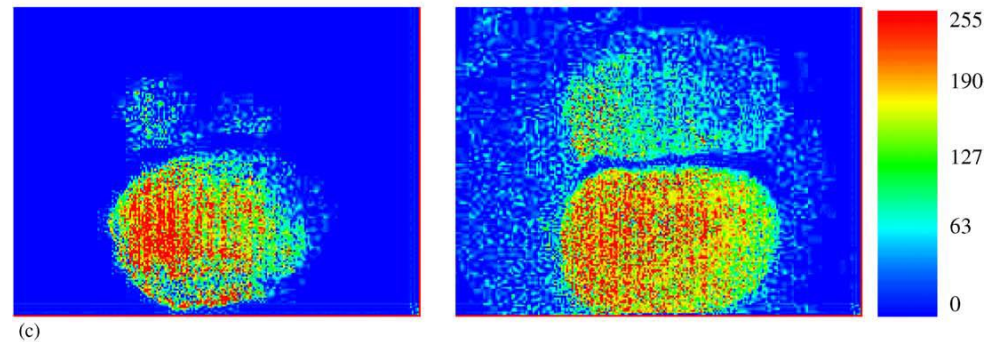
# Detecção de fungos em feijão utilizando a técnica de Biospeckle



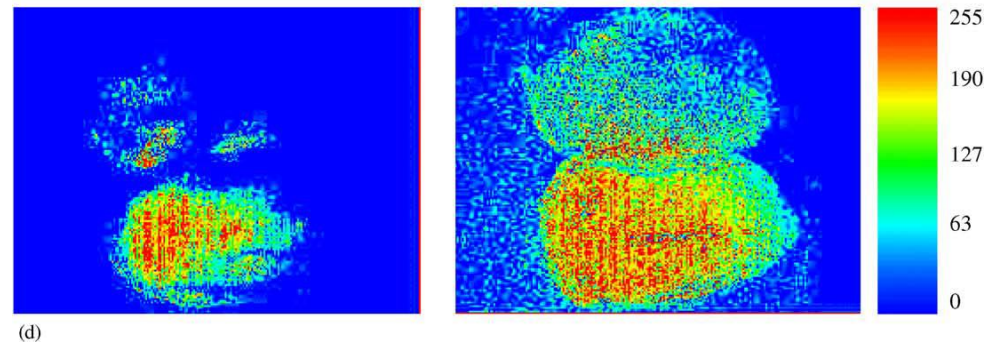
Semente sadia



*Sclerotinia*  
(não detectado)



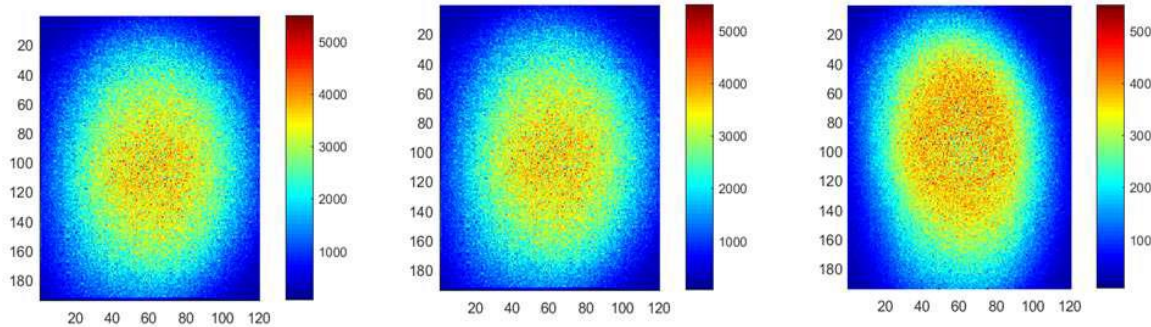
*Aspergillus*  
(detectado)



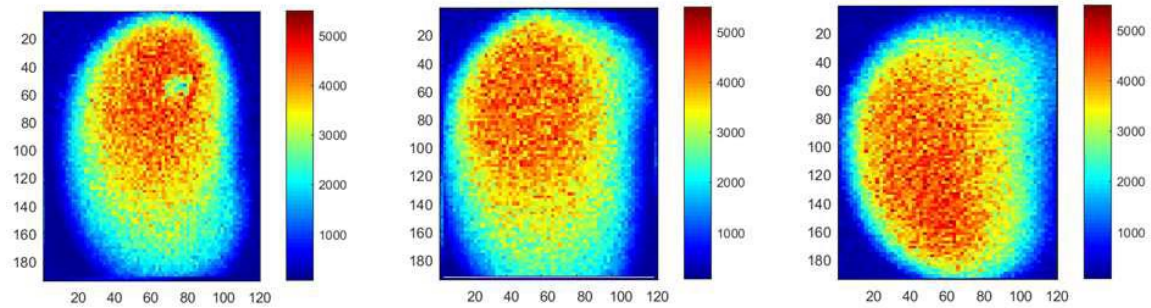
*Colletotrichum*  
(detectado)

# Detecção precoce de sementes de soja infectadas por *Fusarium oxysporum* utilizando a técnica de Biospeckle

HEALTHY



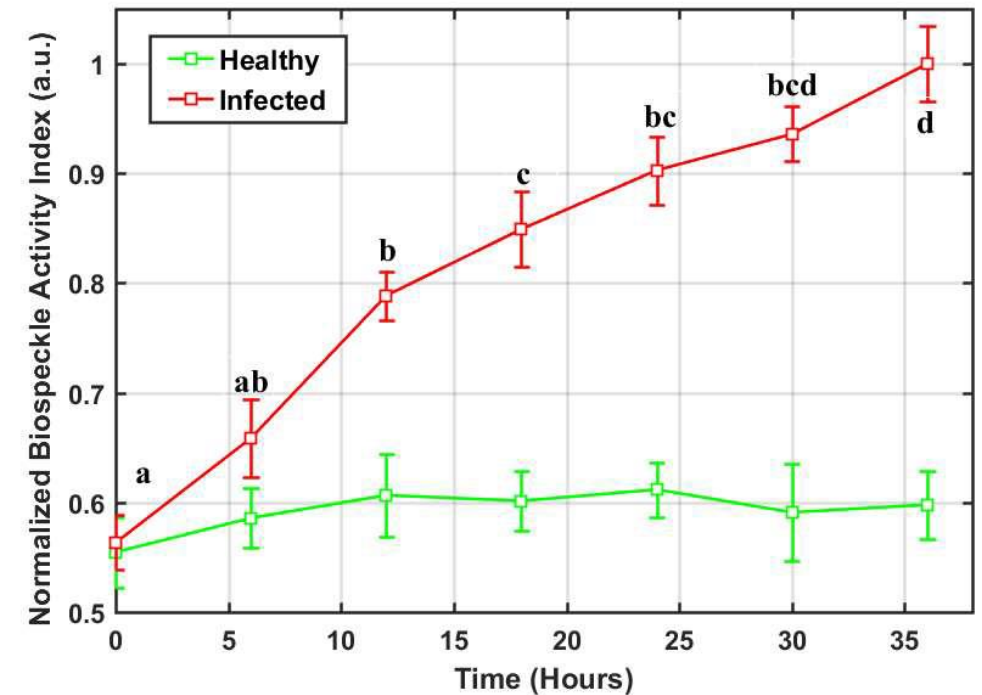
INFECTED



6 h

18 h

30 h



Efeitos dos patógenos nos testes de  
germinação e vigor  
(alguns exemplos)

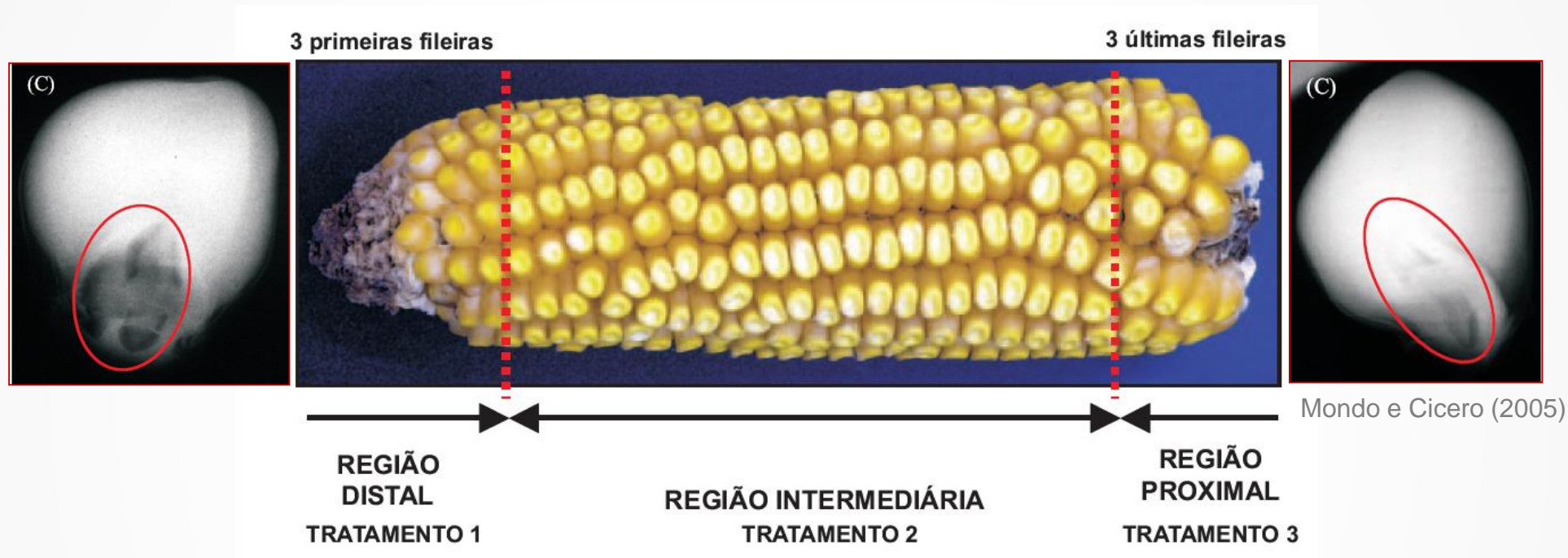


# *Fusarium moliniforme*

Raios X

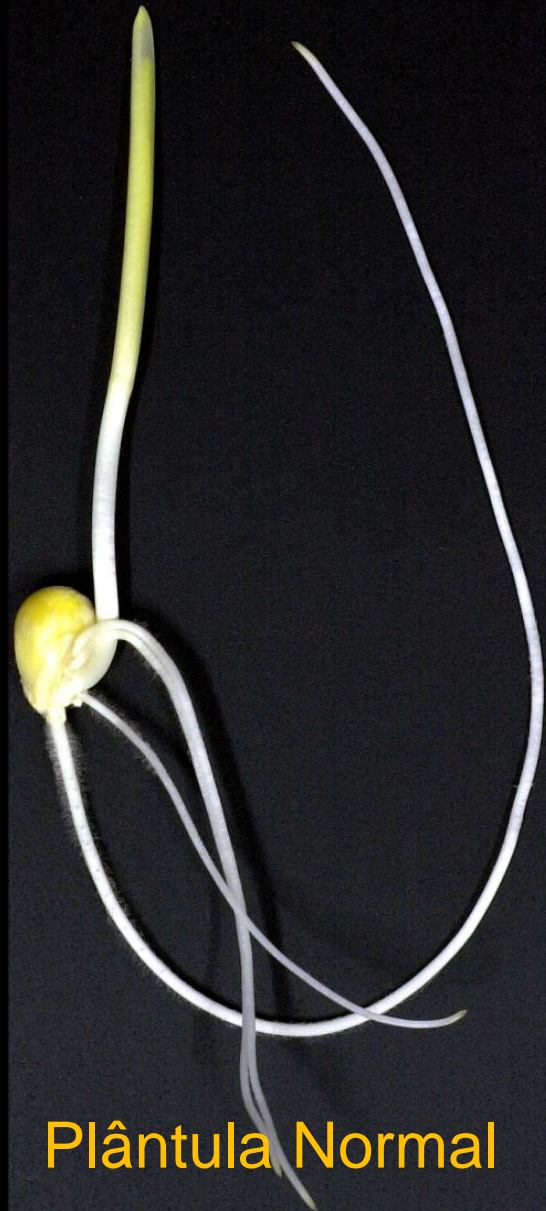


Mondo e Cicero (2005)



PCG (%)	57b	84a	80a
TF (%)	62c	97a	87b
EA (%)	51c	96a	87b
CE ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )	40,5b	13,8a	14,6a

Raios X



Plântula Normal

Mondo e Cicero (2005)



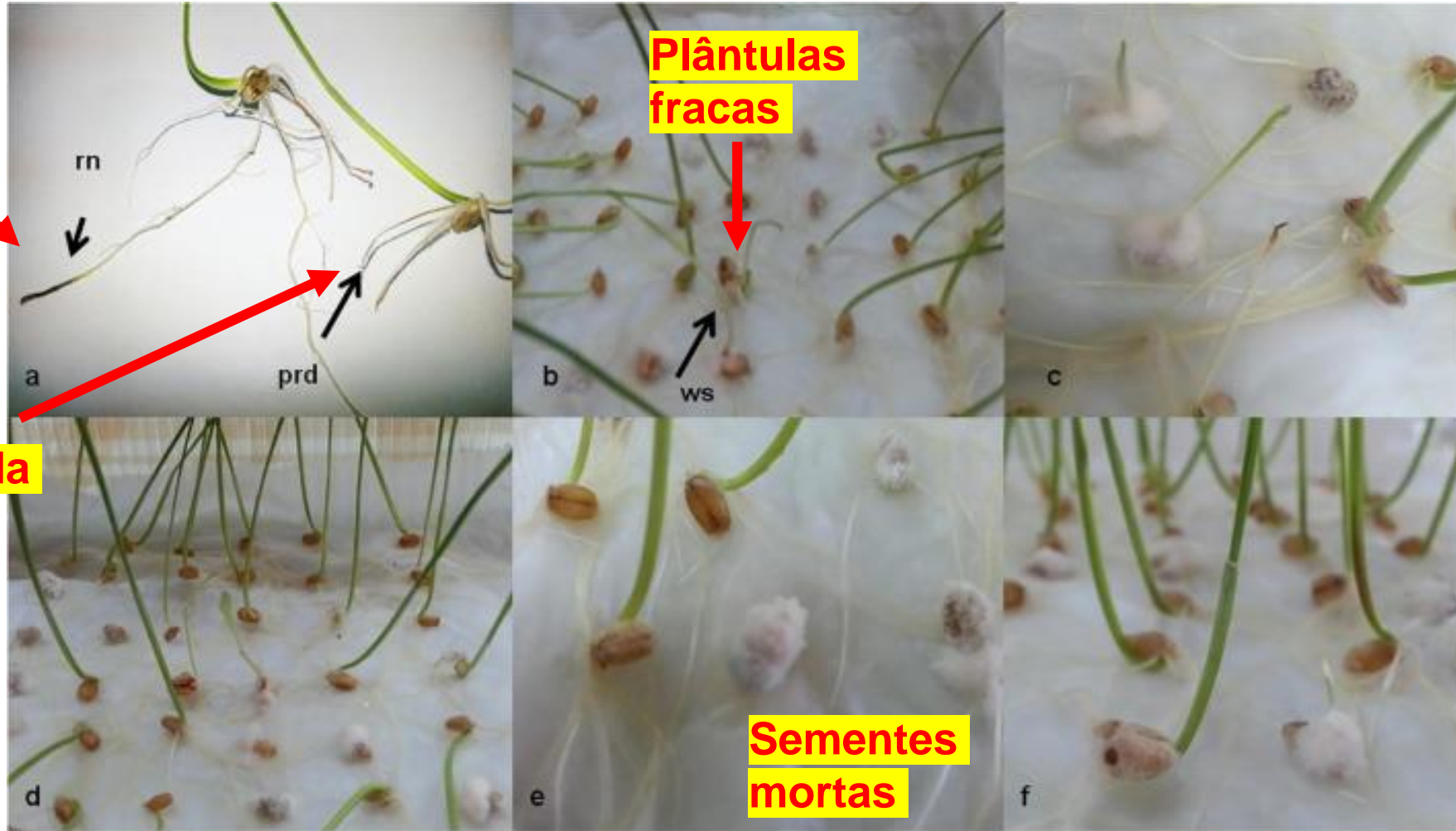
# Sintomas causados por *Fusarium sudanense* em trigo

Necrose da raiz

Raiz pouco desenvolvida

Plântulas fracas

Sementes mortas



[Larran e tal. \(2020\)](#)

<https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.07.005>



# Damping off em melão



**Damping off  
causado por  
fungos**

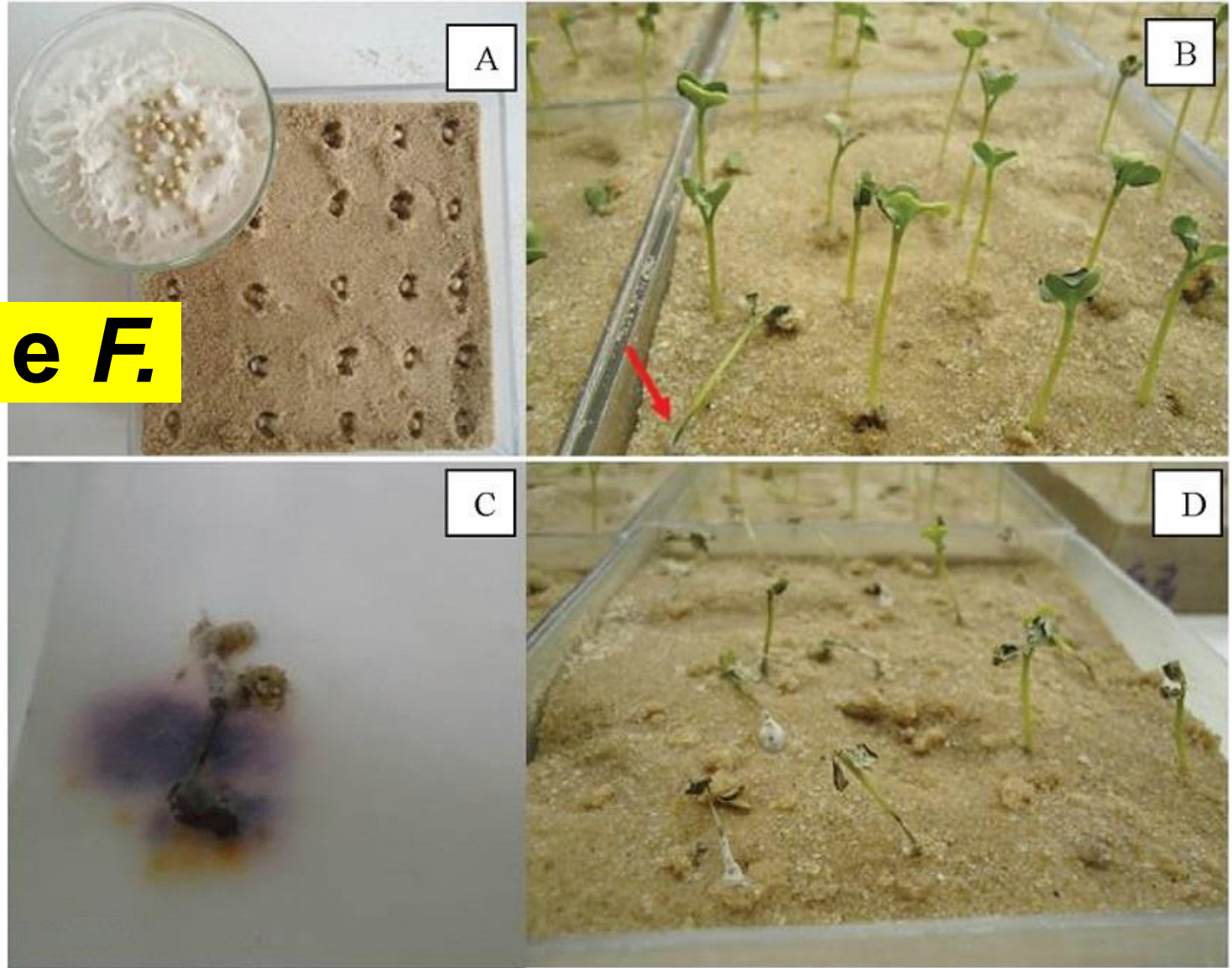


<https://extension.umn.edu/solve-problem/how-prevent-seedling-damping>



# Damping off em crambe

***Fusarium solani* e *F.*  
*oxysporum***



Migliorini et al. (2018)

<https://doi.org/10.5039/agraria.v13i1a5510>

# Rhizoctonia



**Lesão no hipocótilo  
próximo ao nível do solo**

[https://www.pioneer.com/us/agronomy/seed\\_seedling\\_diseases\\_cropfocus.html](https://www.pioneer.com/us/agronomy/seed_seedling_diseases_cropfocus.html)







# Fusarium



[https://www.pioneer.com/us/agronomy/seed\\_seedling\\_diseases\\_cropfocus.html](https://www.pioneer.com/us/agronomy/seed_seedling_diseases_cropfocus.html)

