

Análise de

IMAGENS

na detecção de

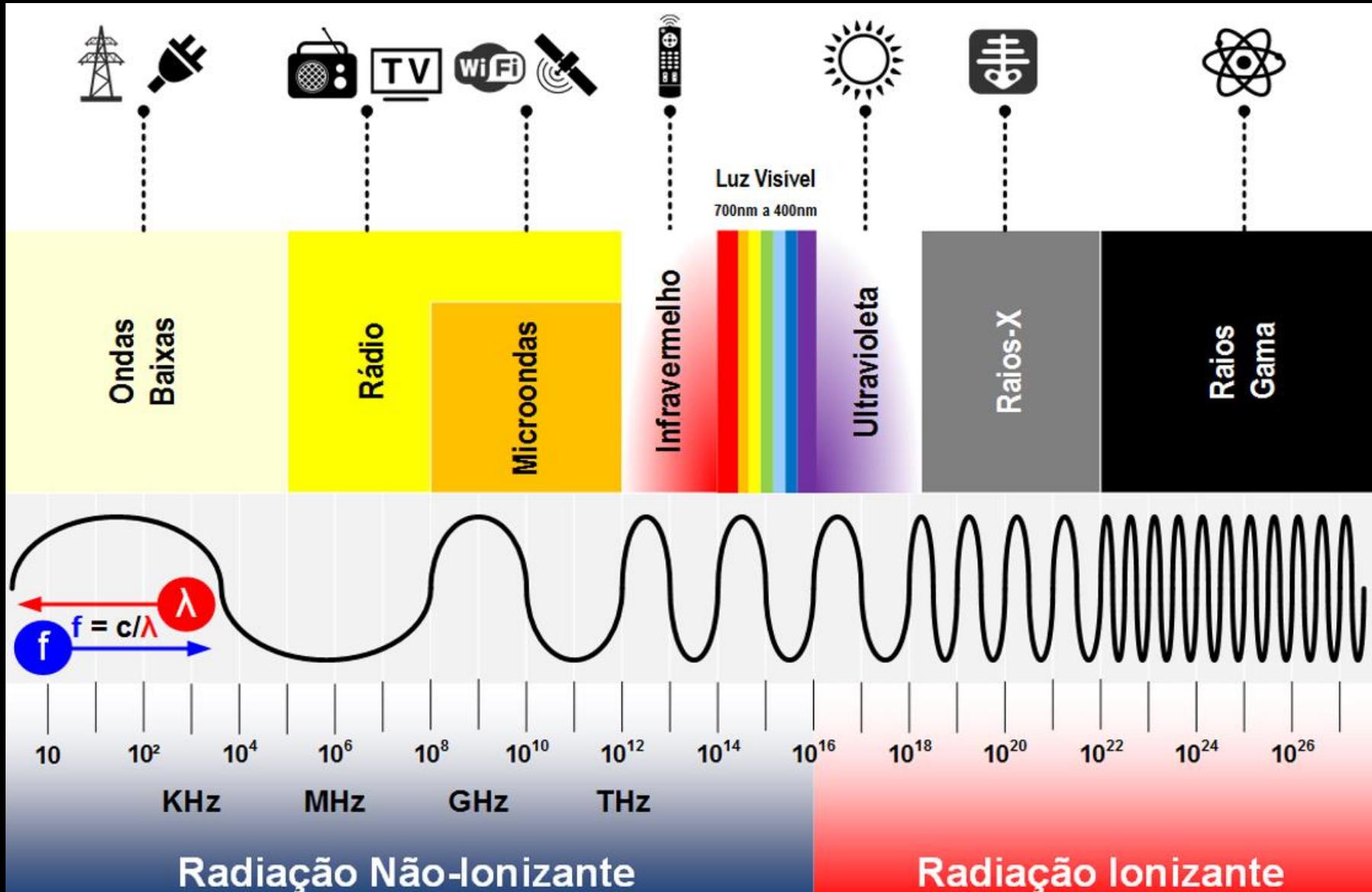
PATÓGENOS ASSOCIADOS

A SEMENTES.

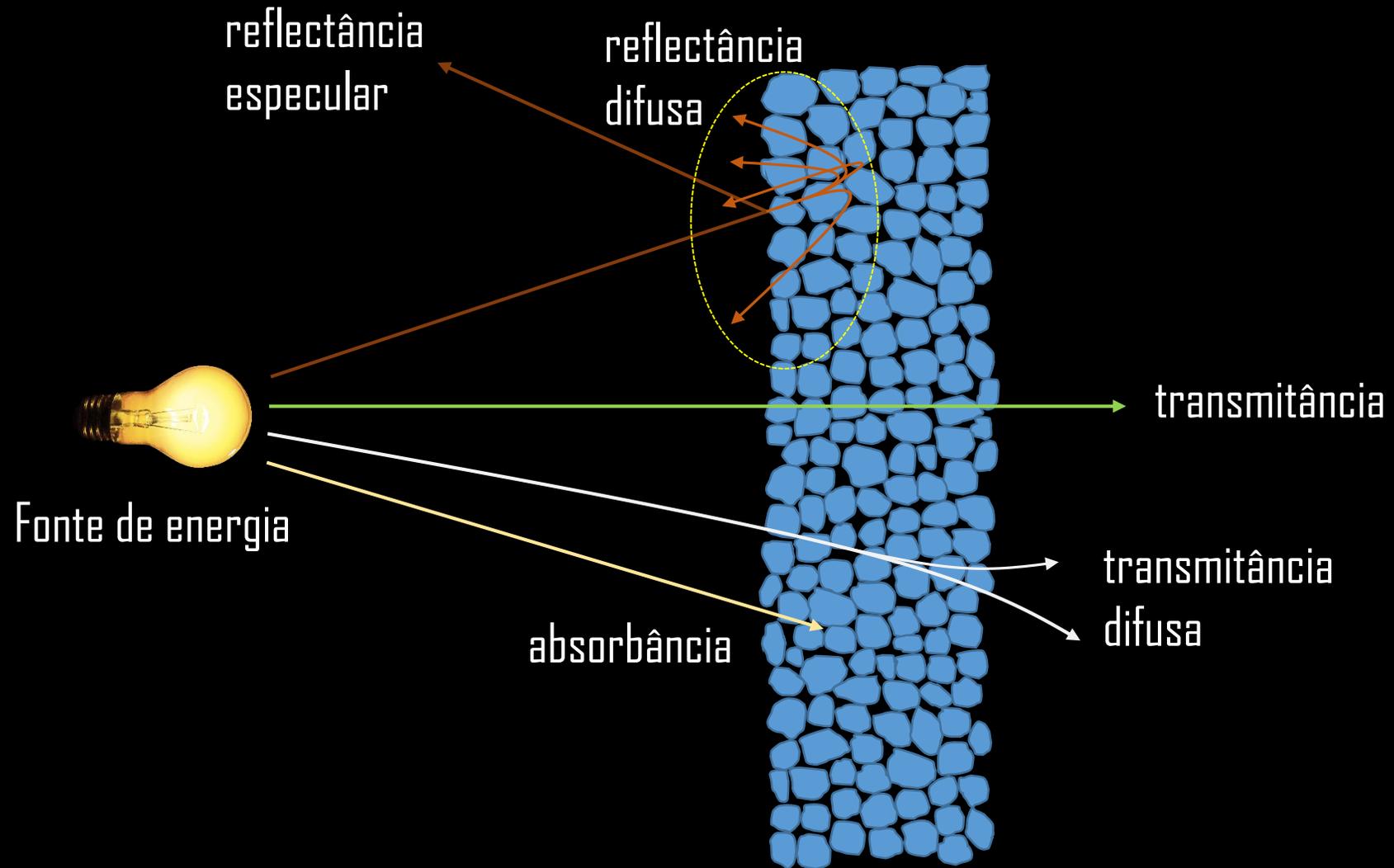
Francisco Guilhien Gomes Junior
Departamento de Produção Vegetal
USP/Esalq



O espectro eletromagnético



Propriedades ópticas dos materiais

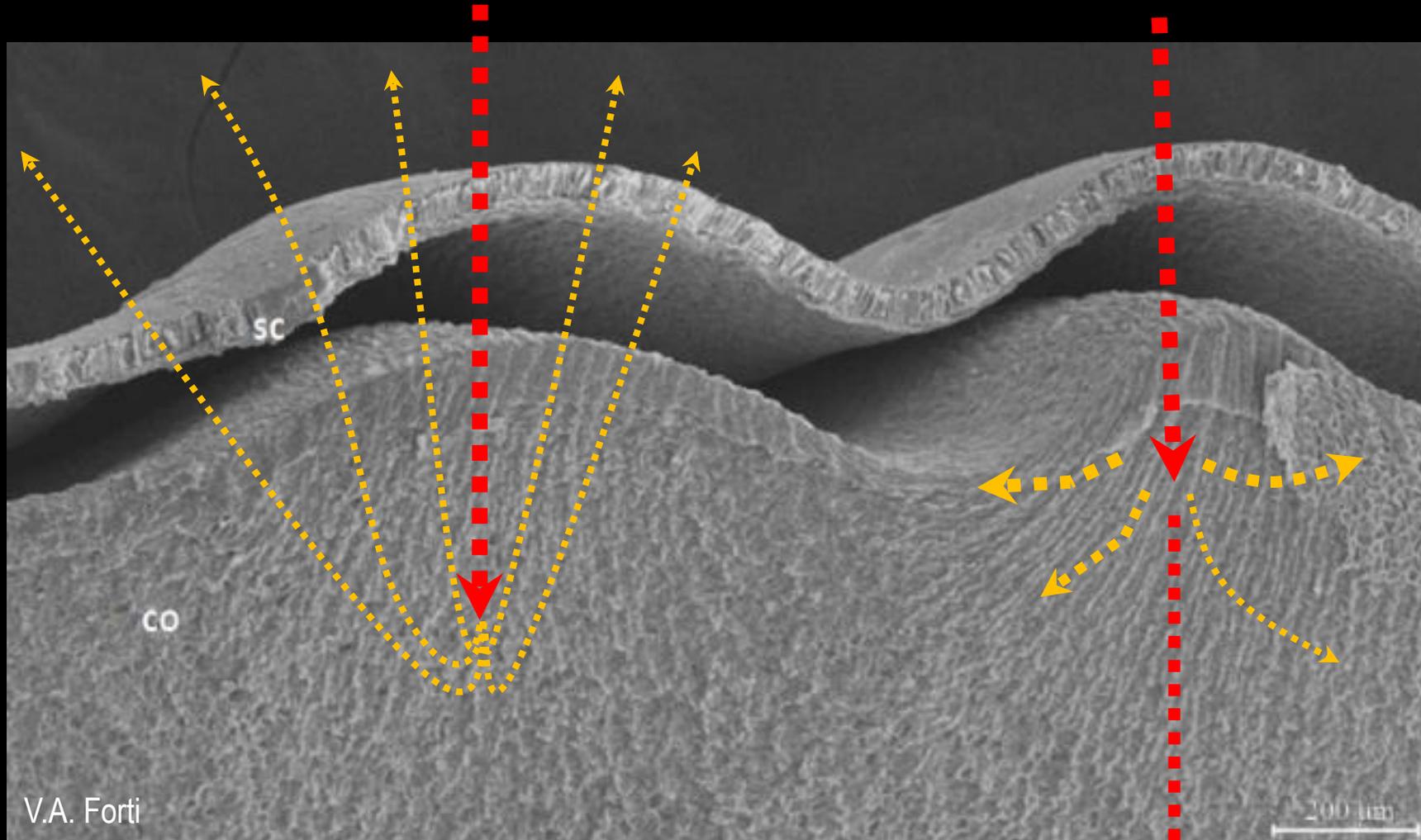


NIR

RAIOS X

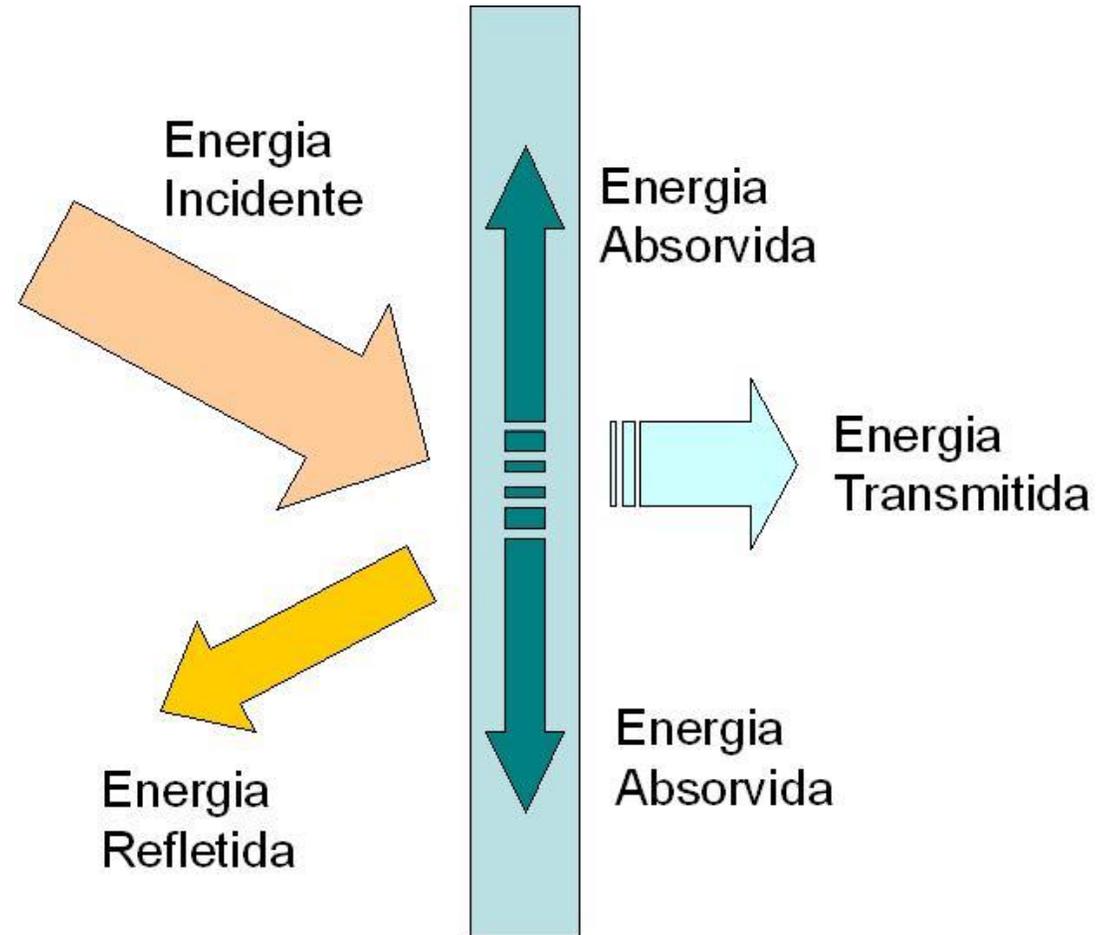
Ondas de menor energia

Ondas de maior energia



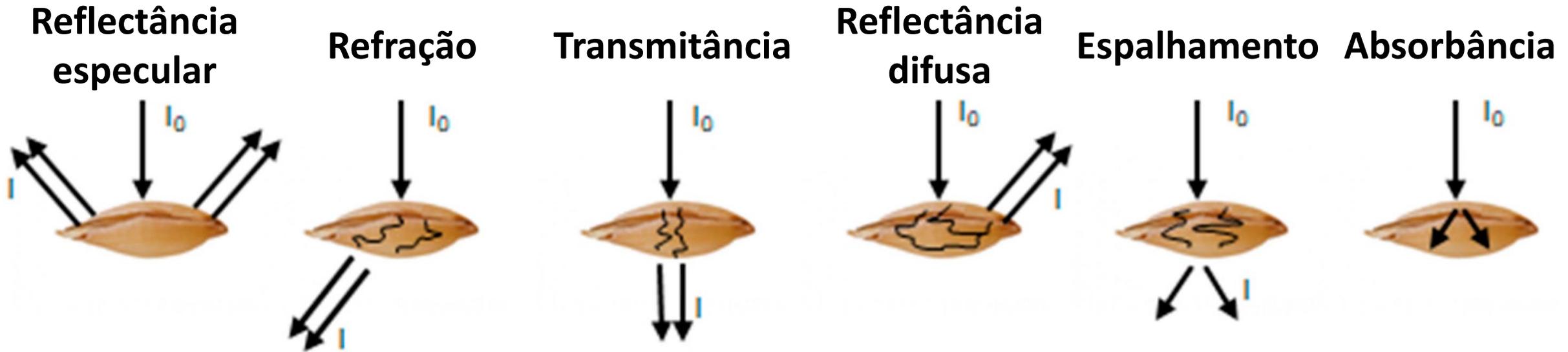
Microscopia eletrônica de varredura do tegumento e do cotilédone de semente de soja

Espectroscopia

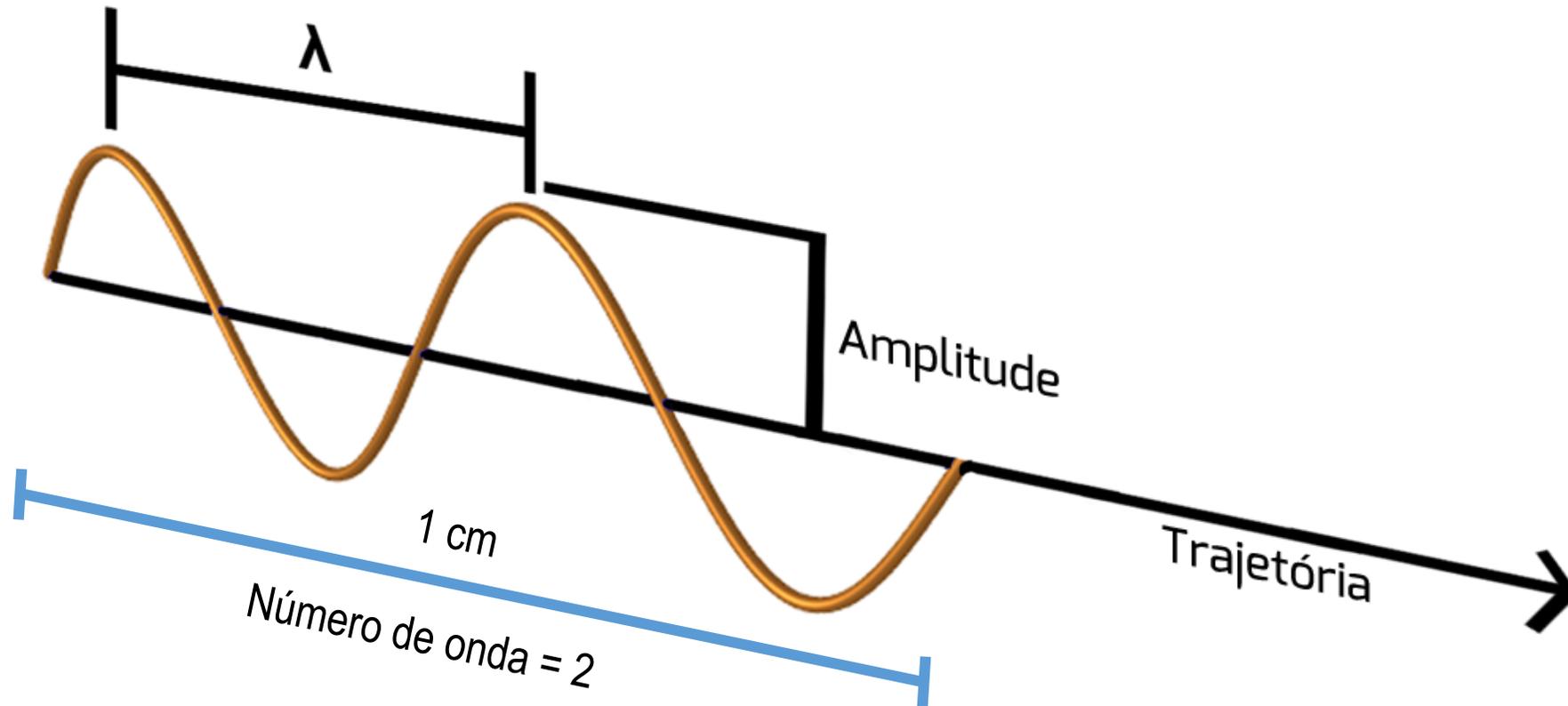


Toda técnica de levantamento de dados físico-químicos através da transmissão, absorção ou reflexão da energia radiante incidente em uma amostra

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



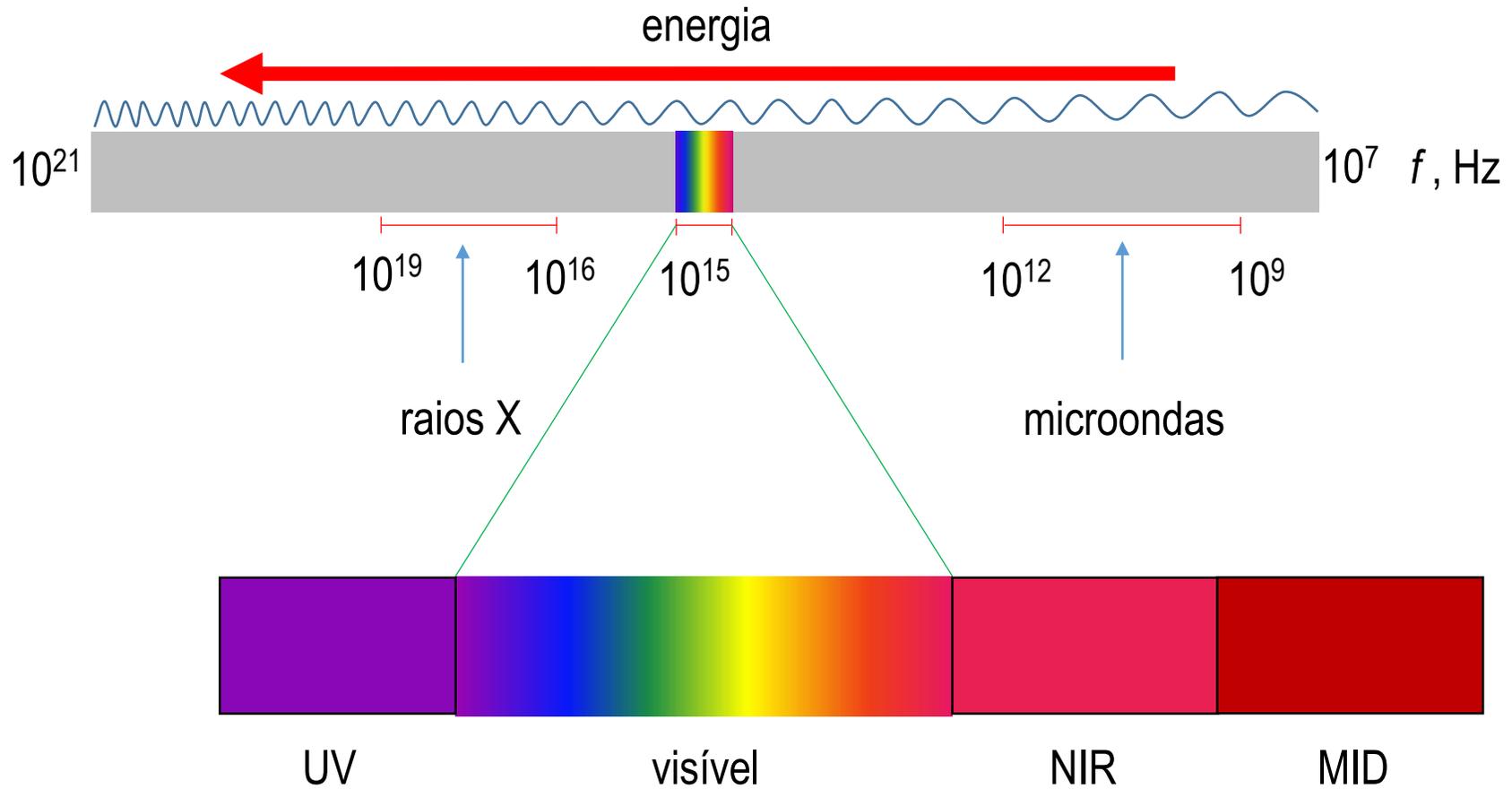
Número de onda: quantidade de ondas existentes em 1 centímetro, ou seja, $1/\lambda$ (cm)

Espectroscopia por infravermelho próximo (NIRs)

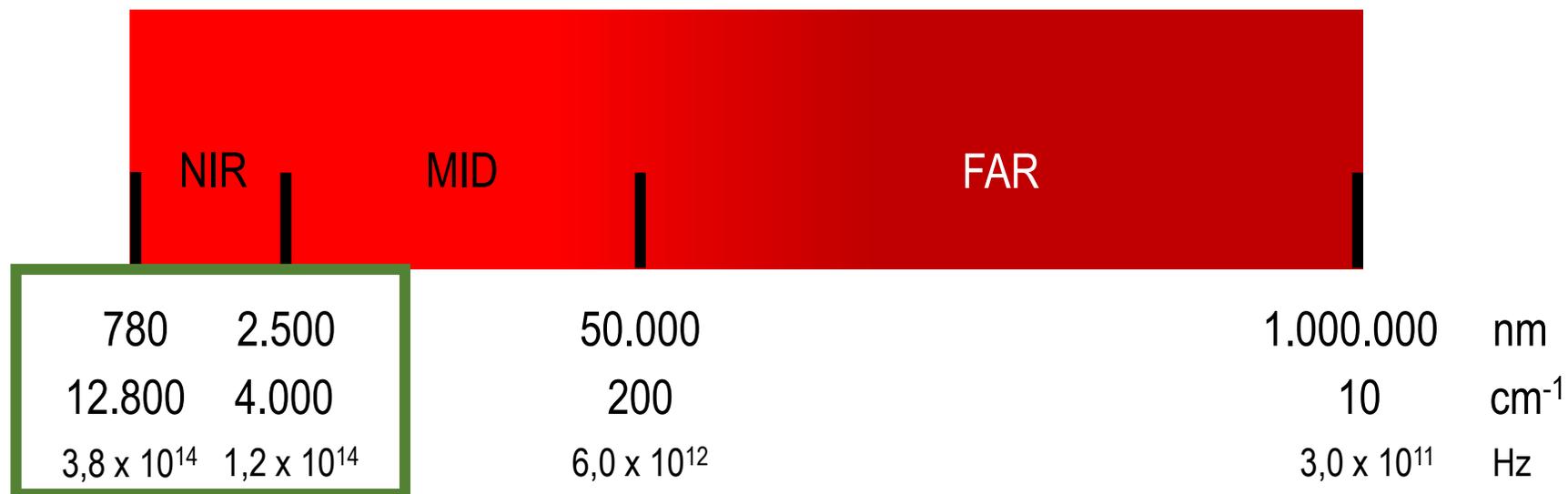
Baseia-se na absorção de luz infravermelha pelos compostos orgânicos

- 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

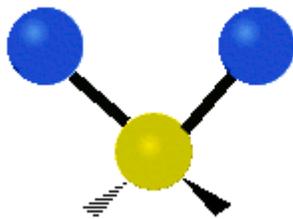


Infravermelho e Infravermelho Próximo

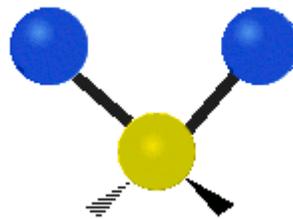


Na região do infravermelho (λ 780 a 2500nm)
radicais como **-OH**, **-NH**, **-CH** e **-CO** vibram fortemente

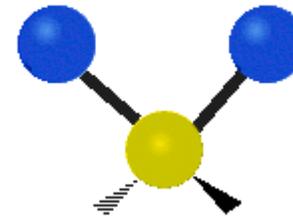
Tipos de vibrações moleculares



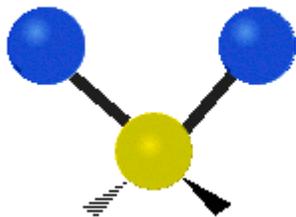
estiramento simétrico



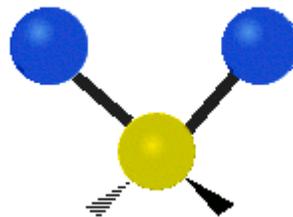
estiramento assimétrico



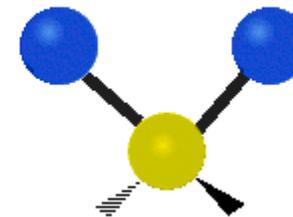
tesoura (ou dobramento angular)



balanço (wag)

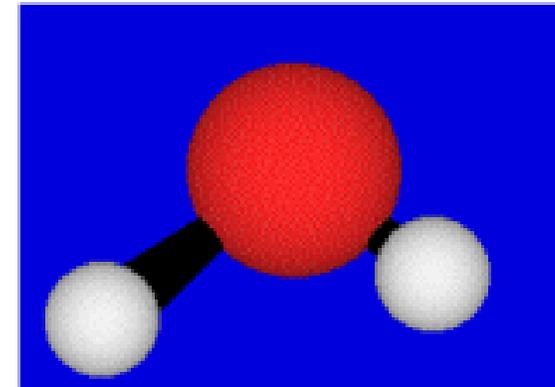
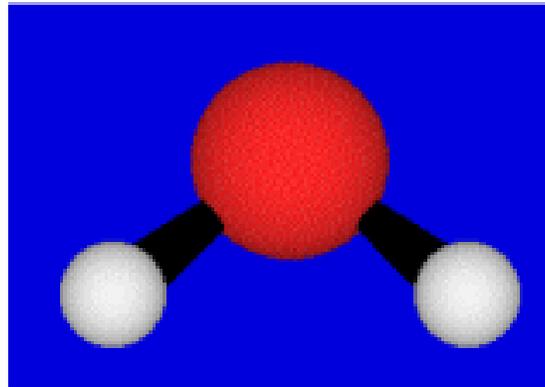
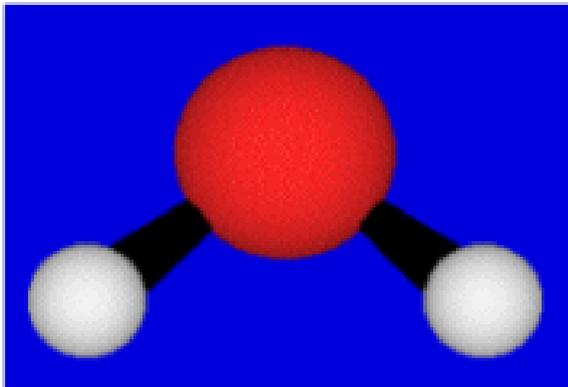
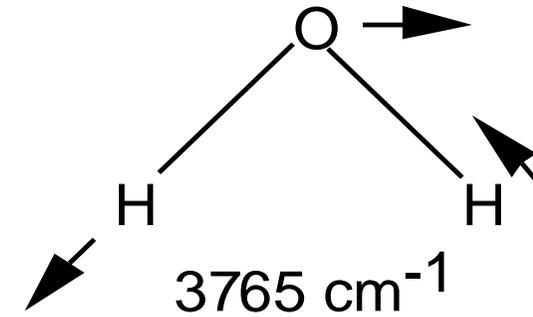
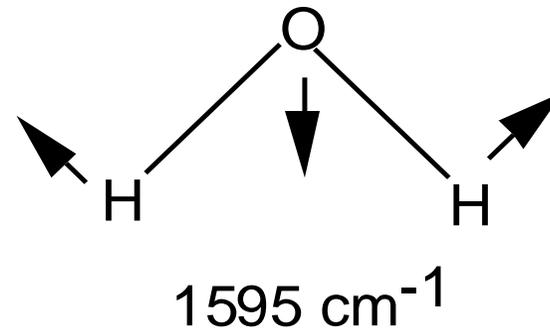
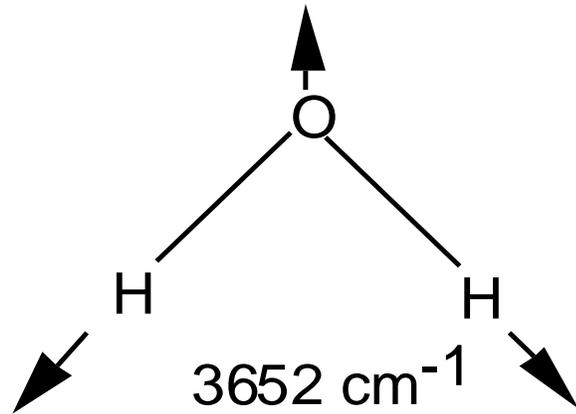


torção (twist)

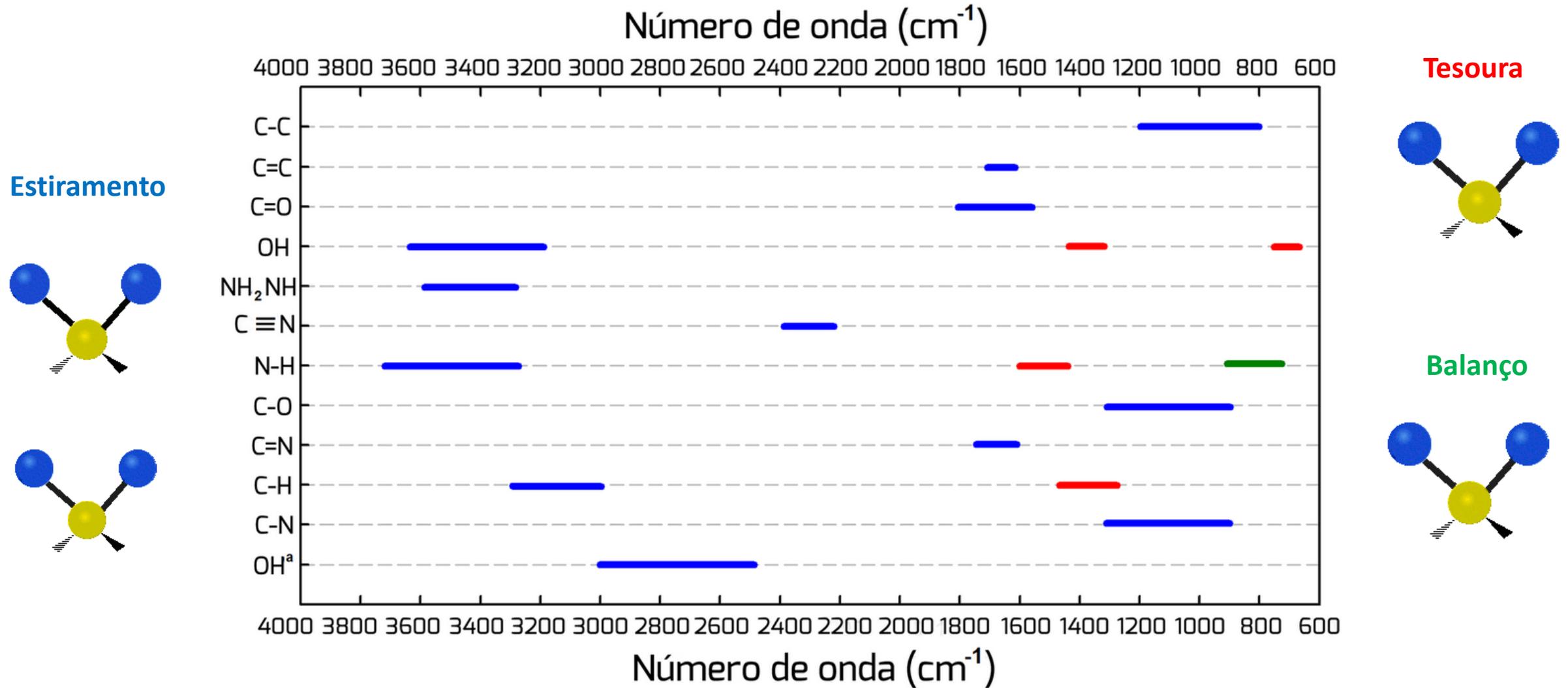


rotação

Modos normais de vibração da molécula de água



Frequências de absorção no IV de algumas ligações químicas

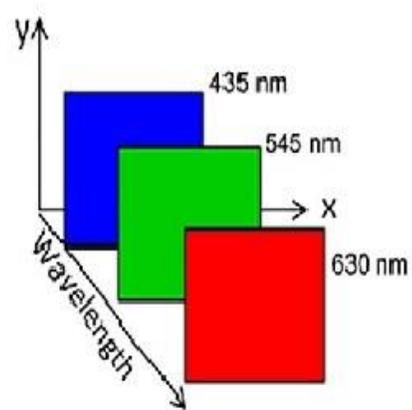


Estão representadas frequências vibracionais resultantes de estiramentos (azul), dobras ou deformações em tesoura (vermelho) e em balanço (verde) da ligação

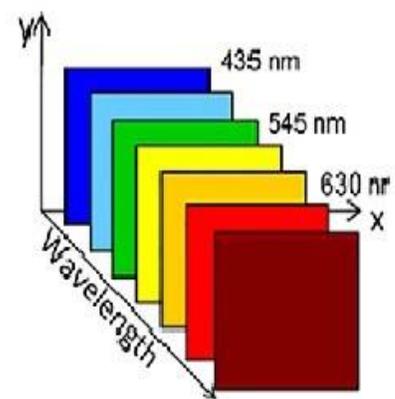
Espectroscopia por infravermelho próximo na análise individual de sementes

- 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)

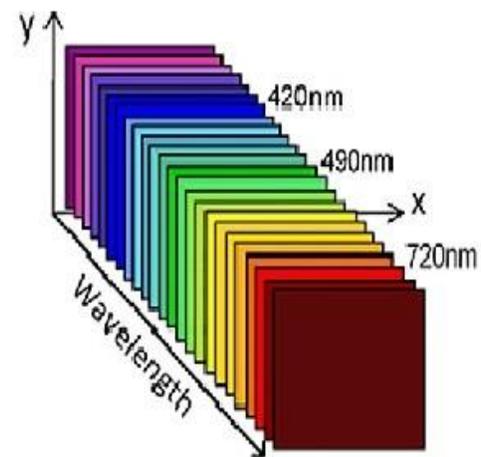
Imagem multiespectral
e
Imagem hiperespectral



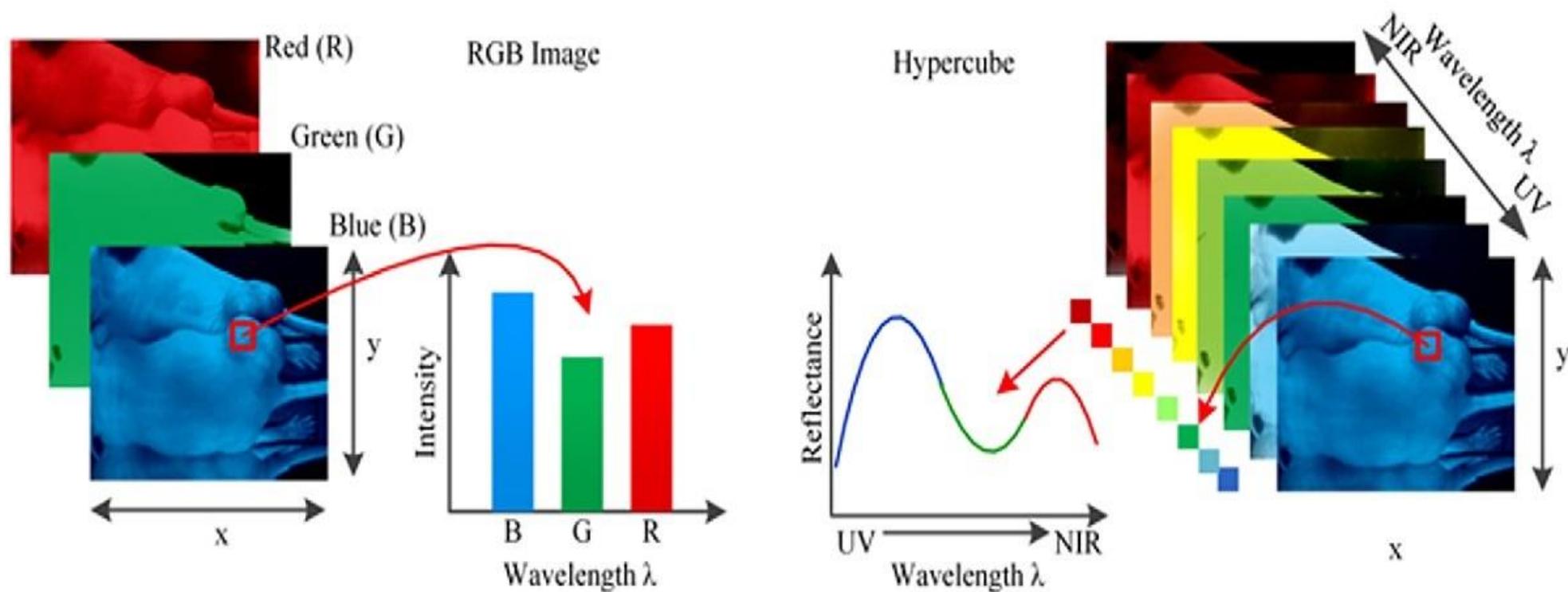
(a) RGB

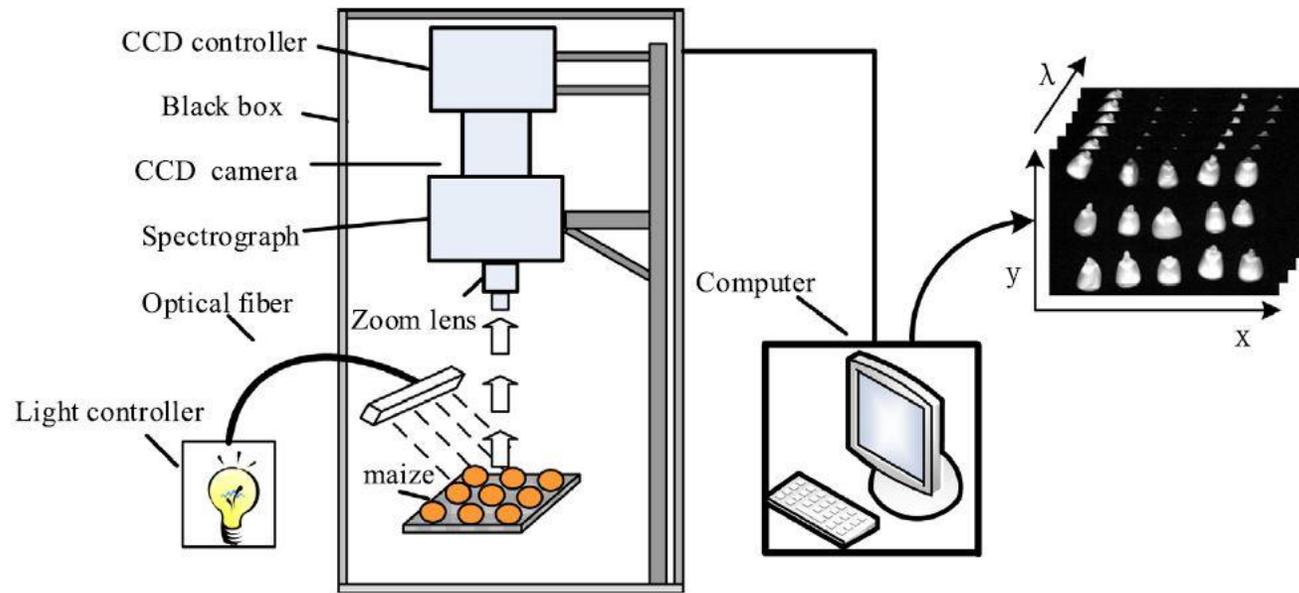


(b) Multispectral



(c) Hiperespectral





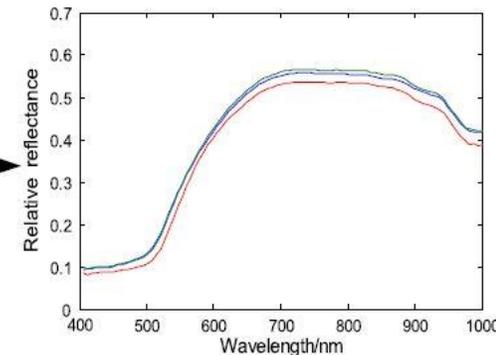
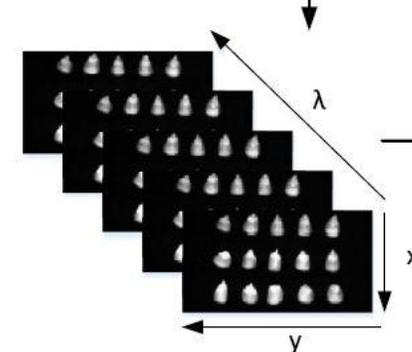
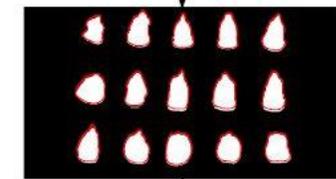
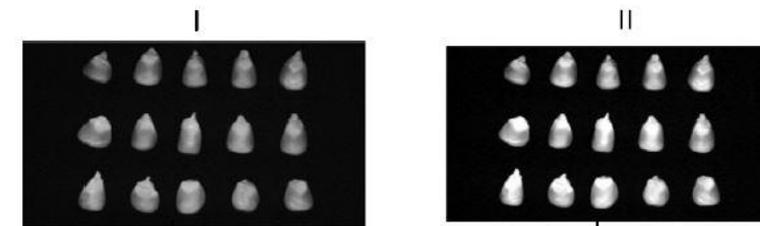
Esquema de um sistema de imagem hiperespectral para aquisição de imagens de refletância de sementes de milho

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

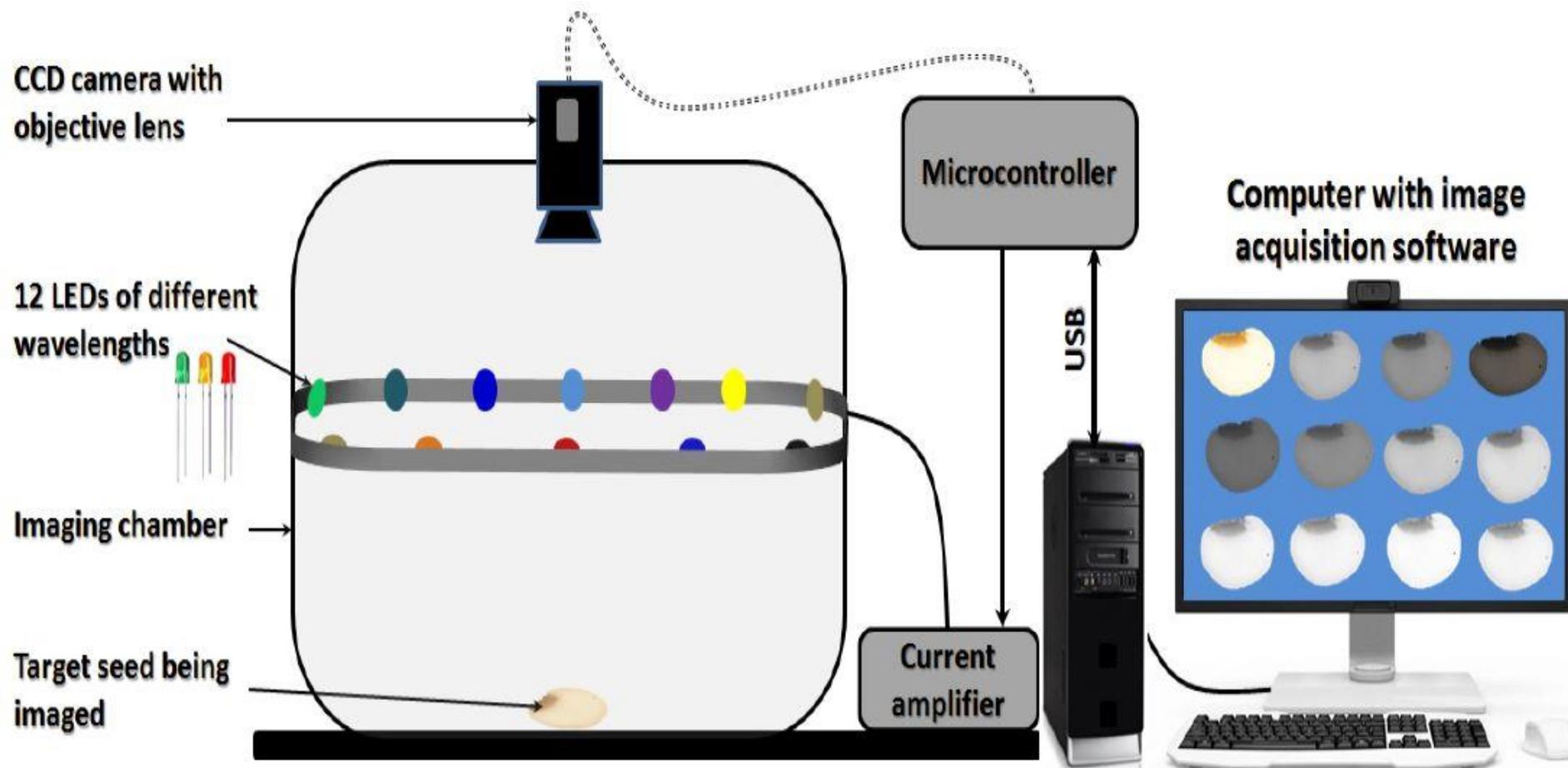
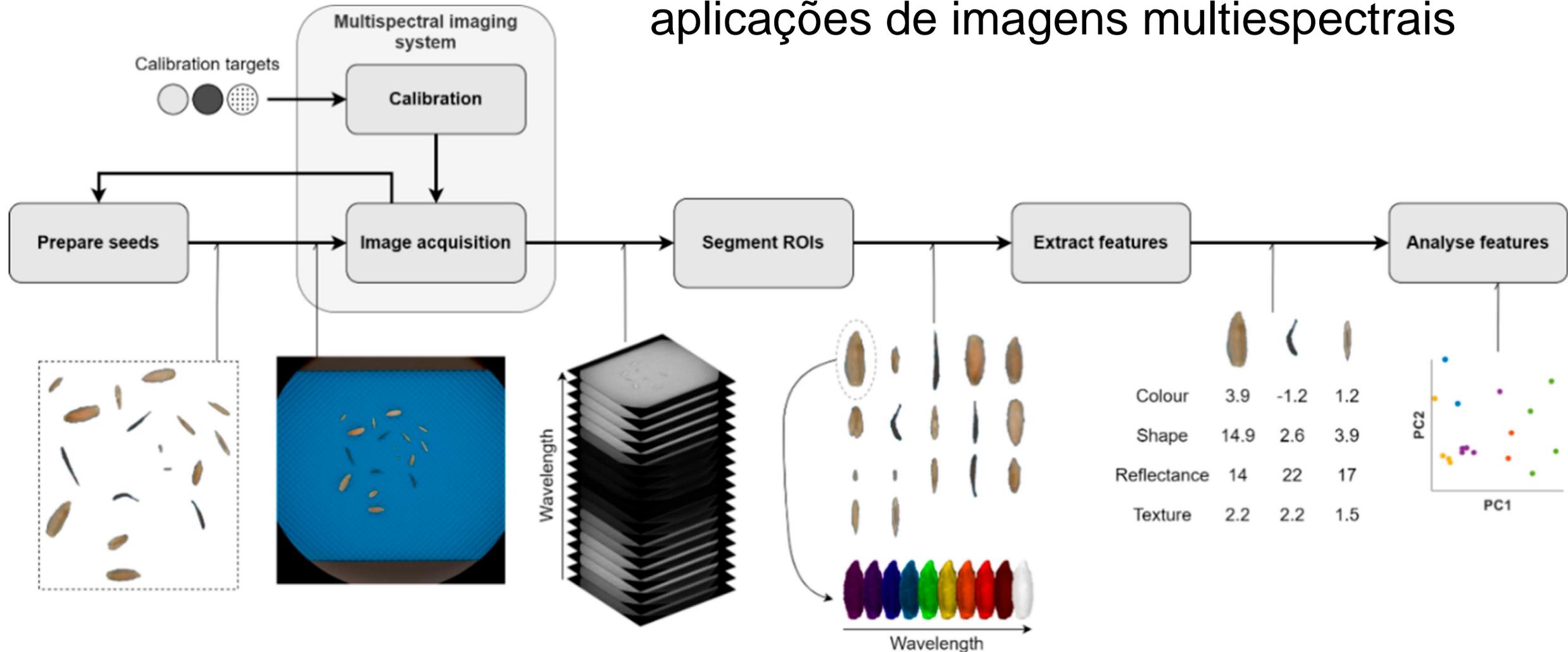
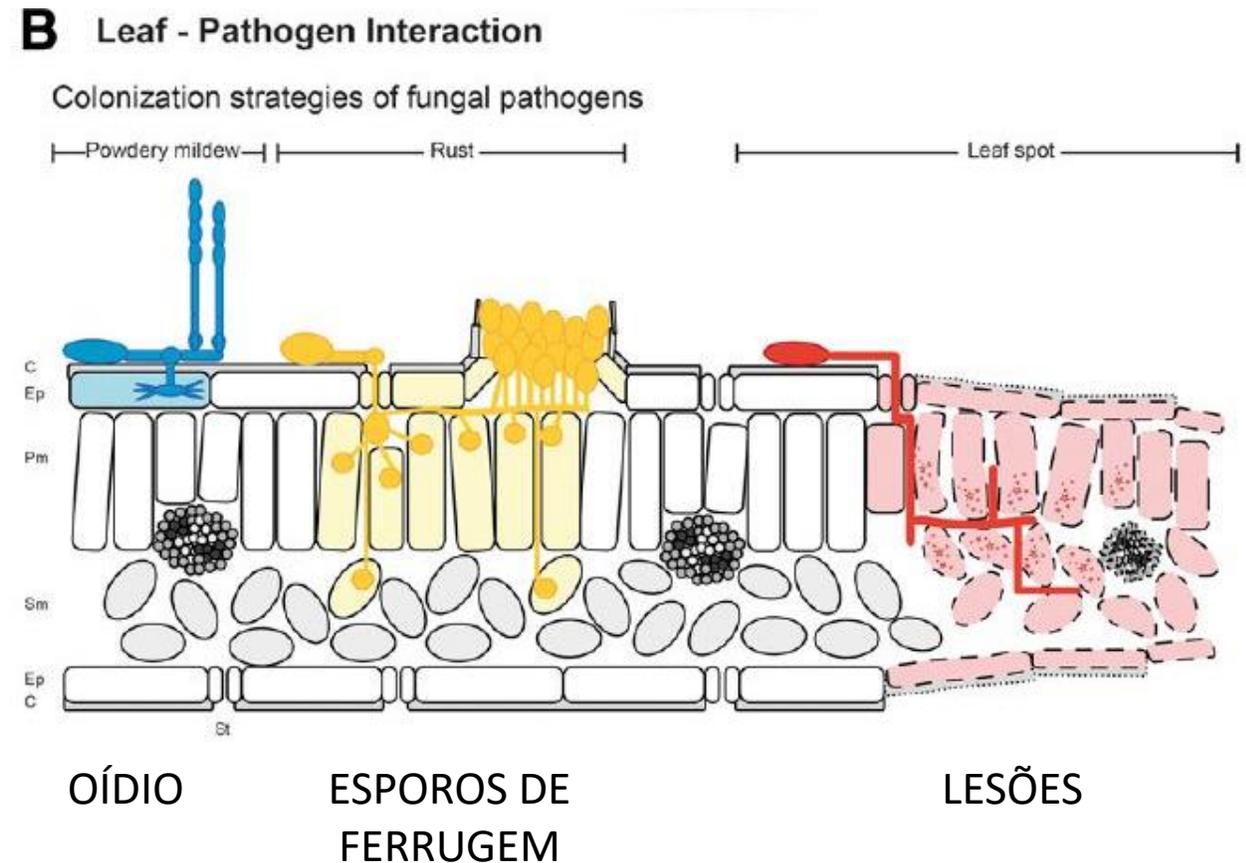
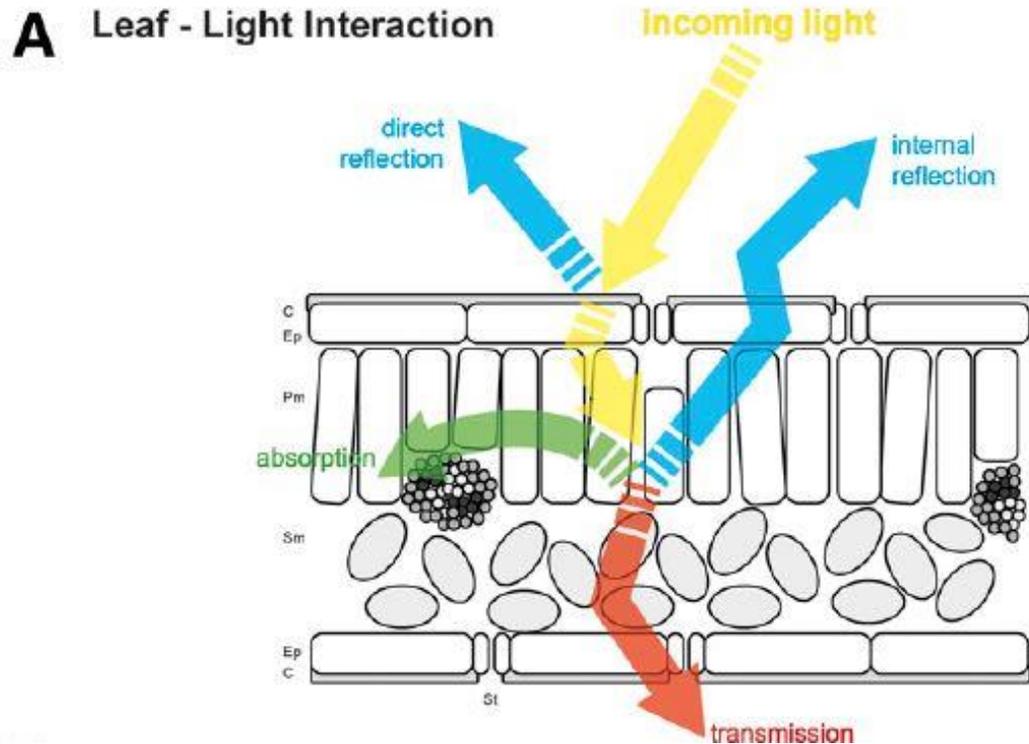


Ilustração do fluxo de trabalho típico em aplicações de imagens multiespectrais



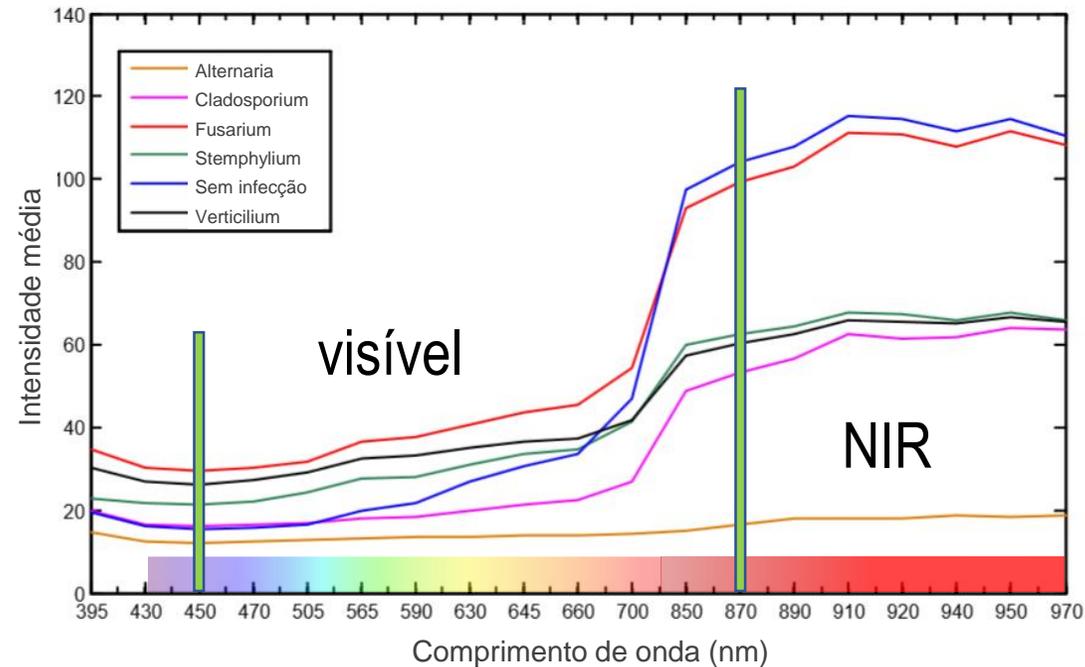
Interação da radiação incidente e alterações causadas por patógenos em tecidos vegetais



[Anne-Katrin Mahlein](#)

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

Detecção de fungos em sementes de espinafre



Stemphylium



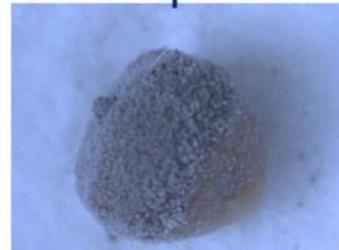
Alternaria



Fusarium

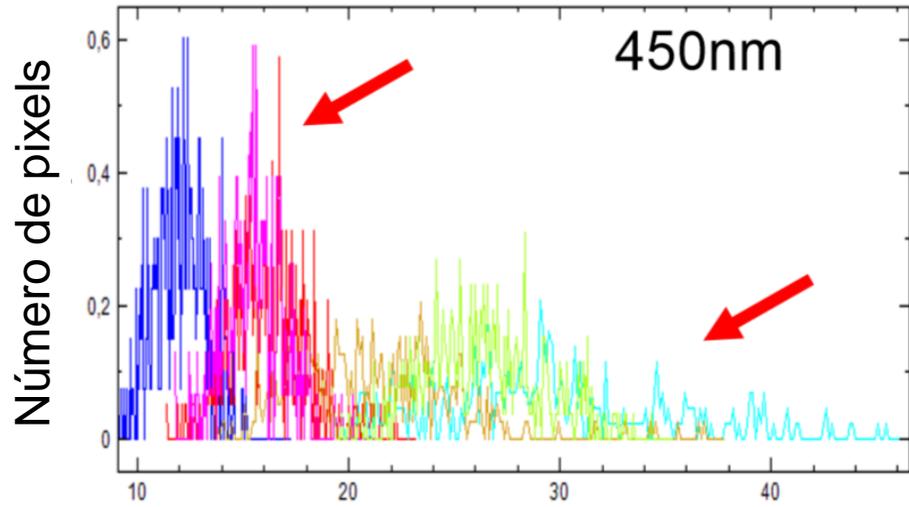


Cladosporium

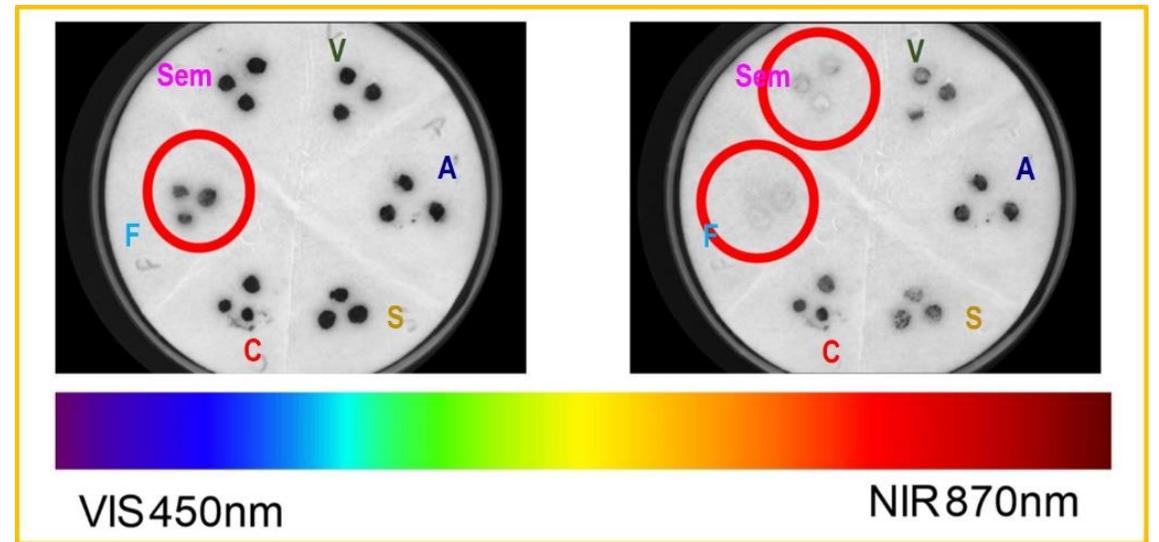
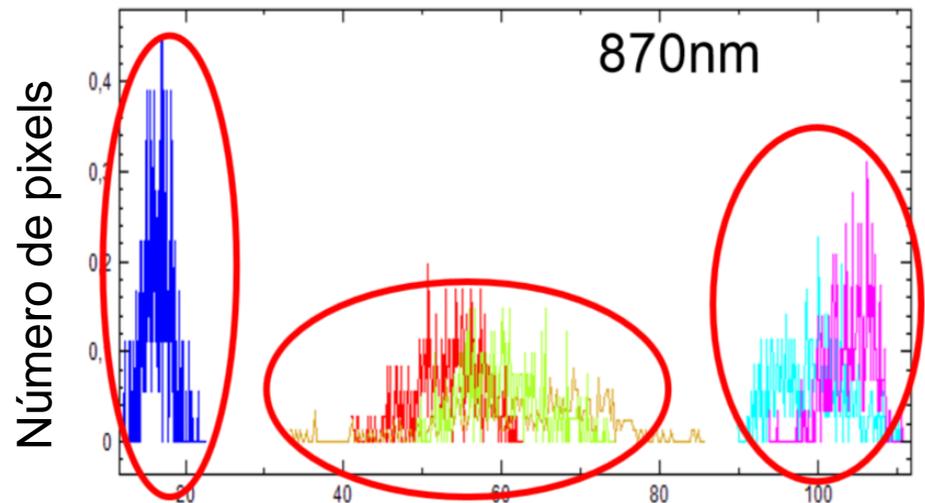


Verticillium





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:

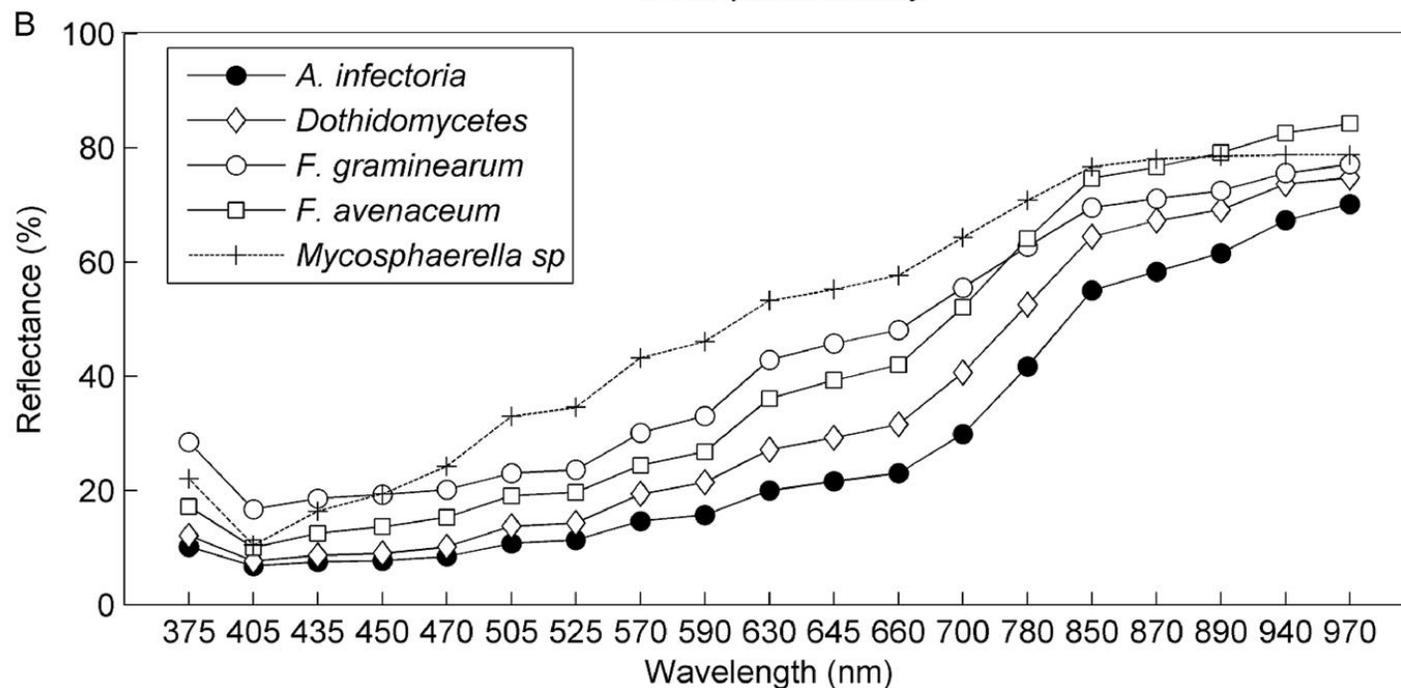
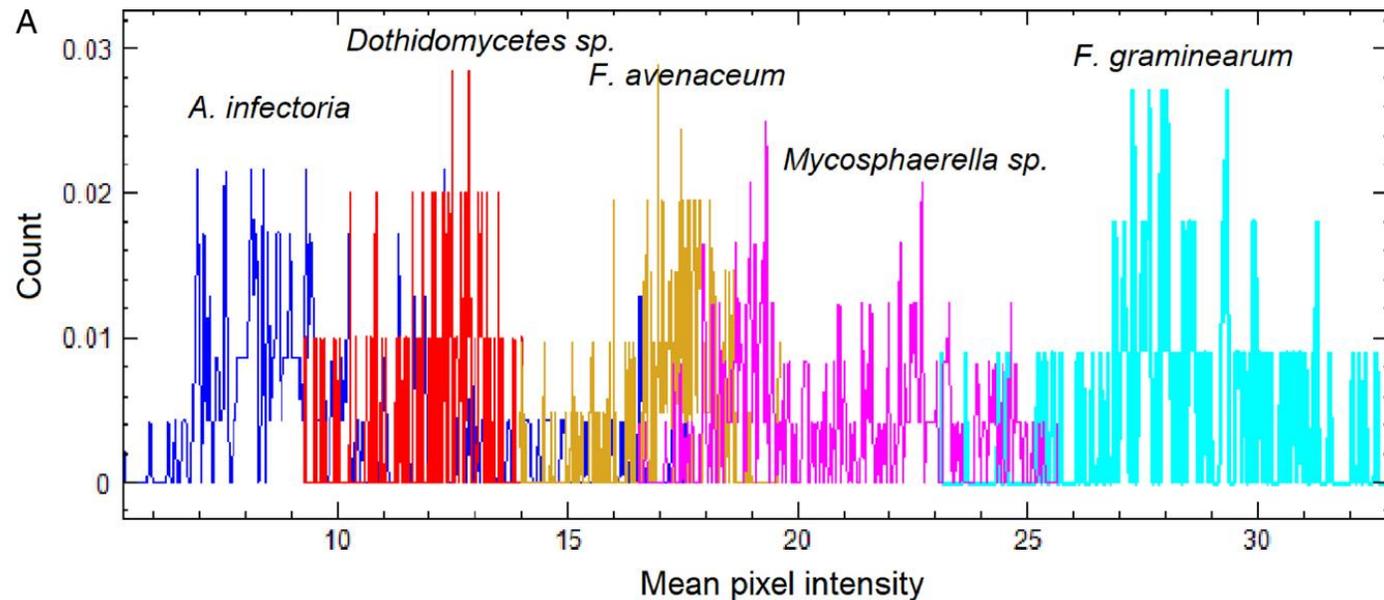
Alternaria infectoria

Dothidomyces sp.

Fusarium graminearum

Fusarium avenaceum

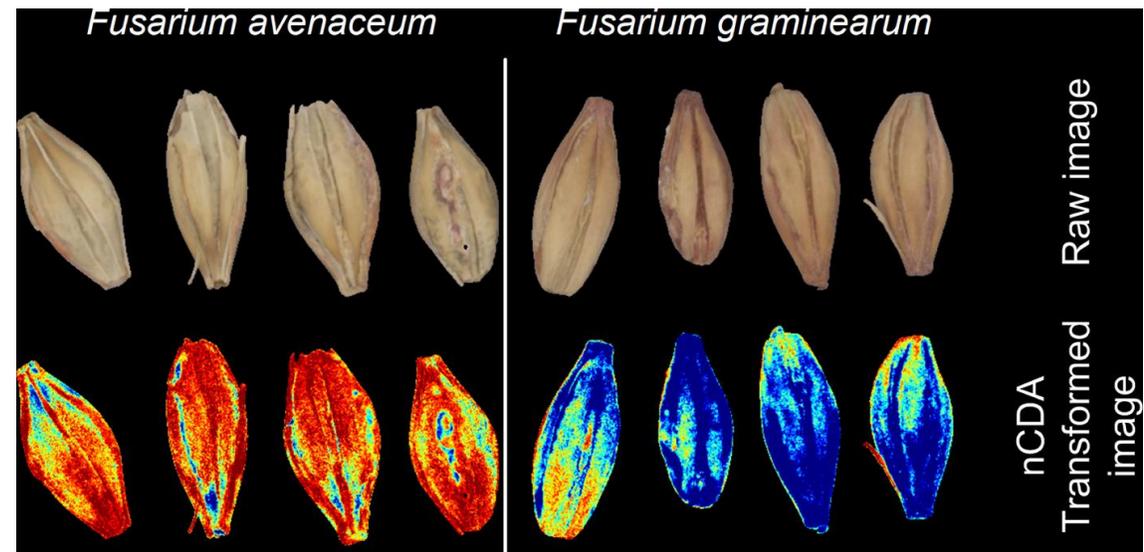
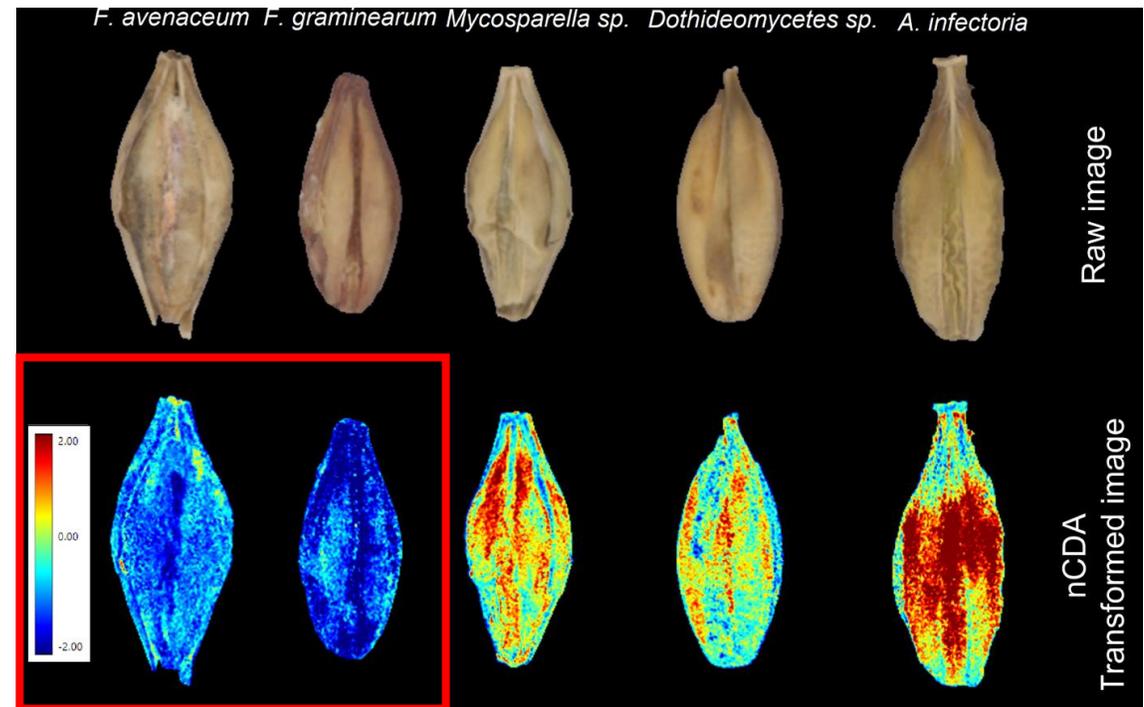
Mycosphaerella tassiana



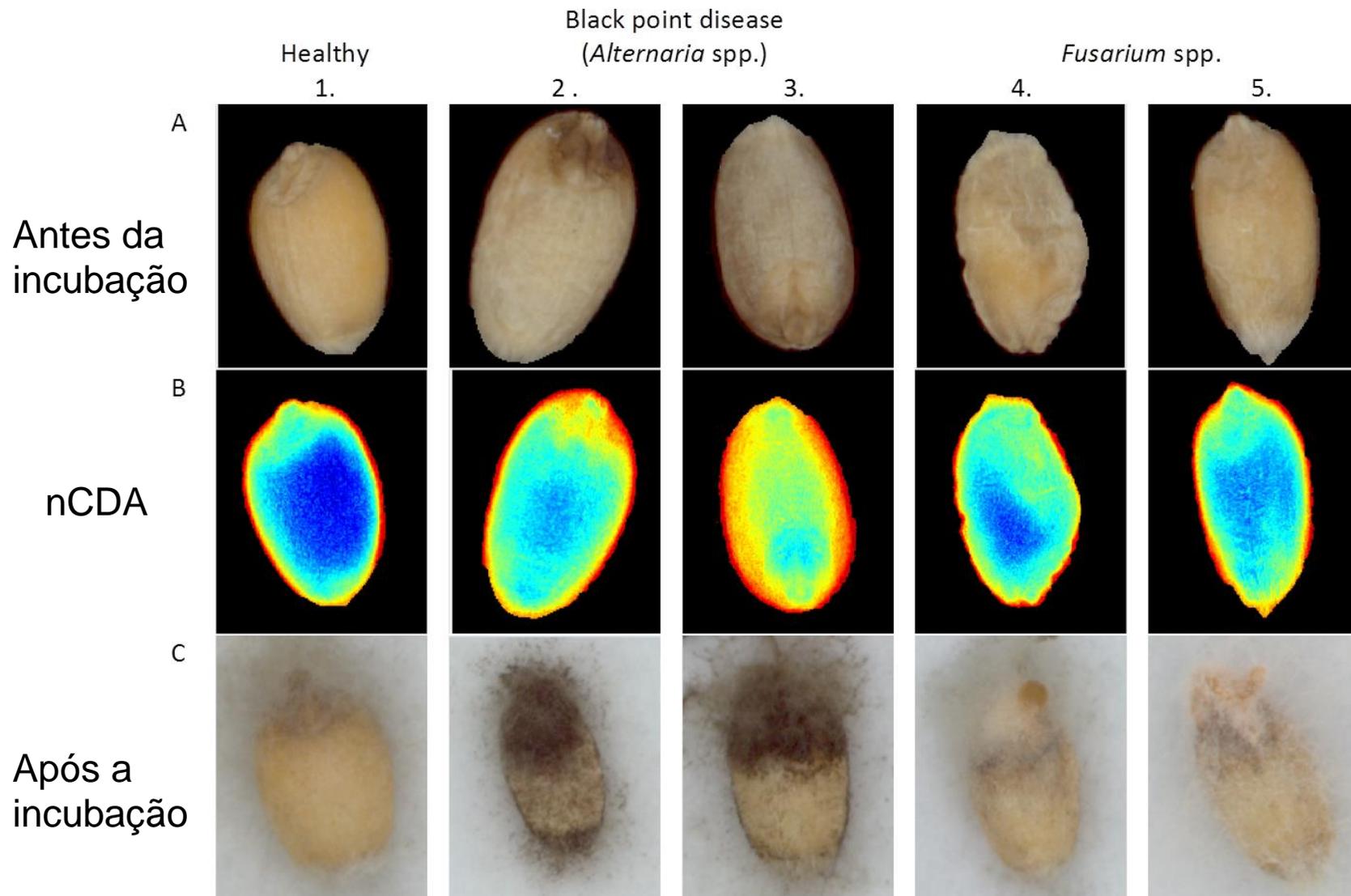
Análise discriminante canônica normalizada

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

Modelo nCDA aprimorado: comparações de pares



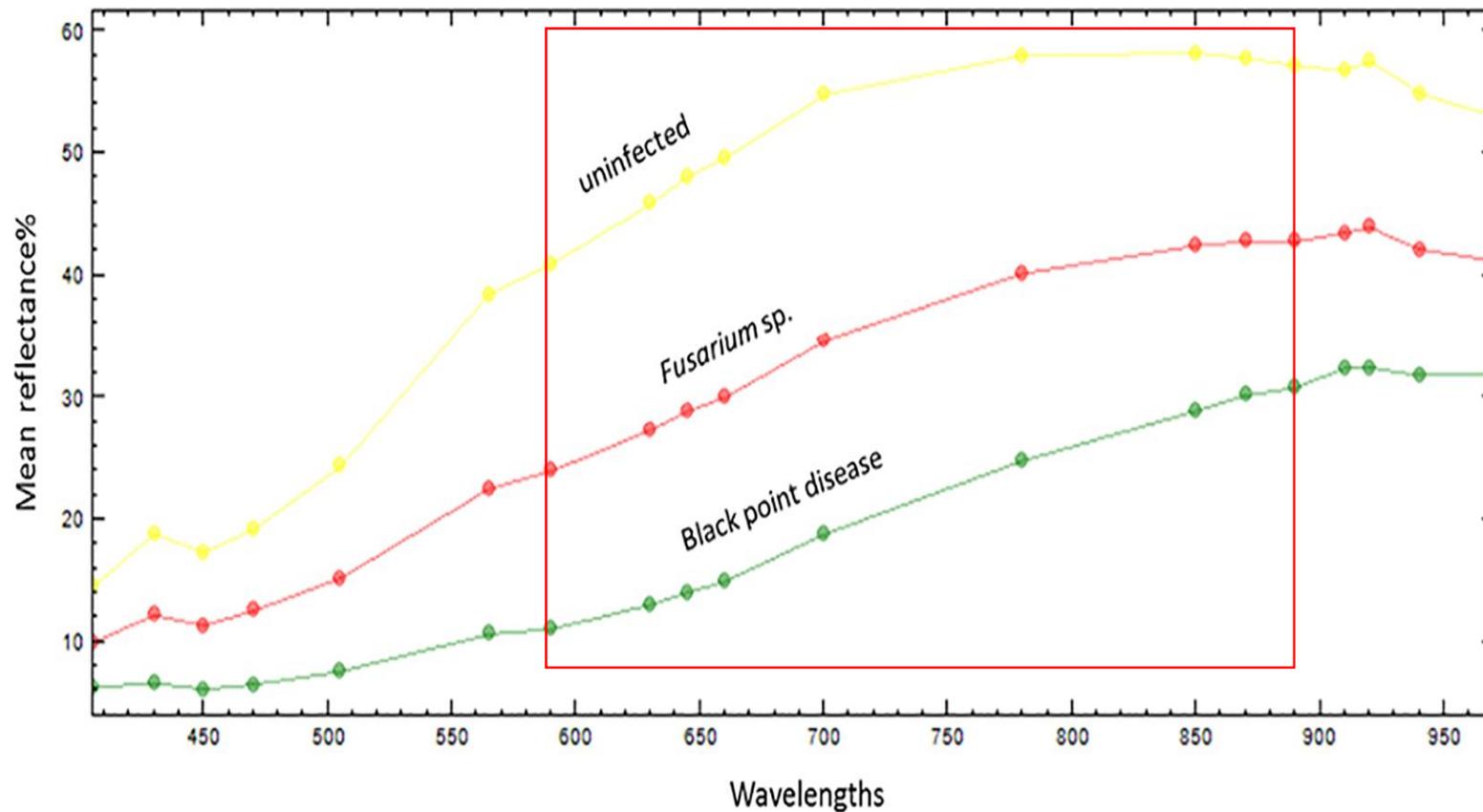
Detecção de fungos em sementes de trigo



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

Vrešak et al. (2016)

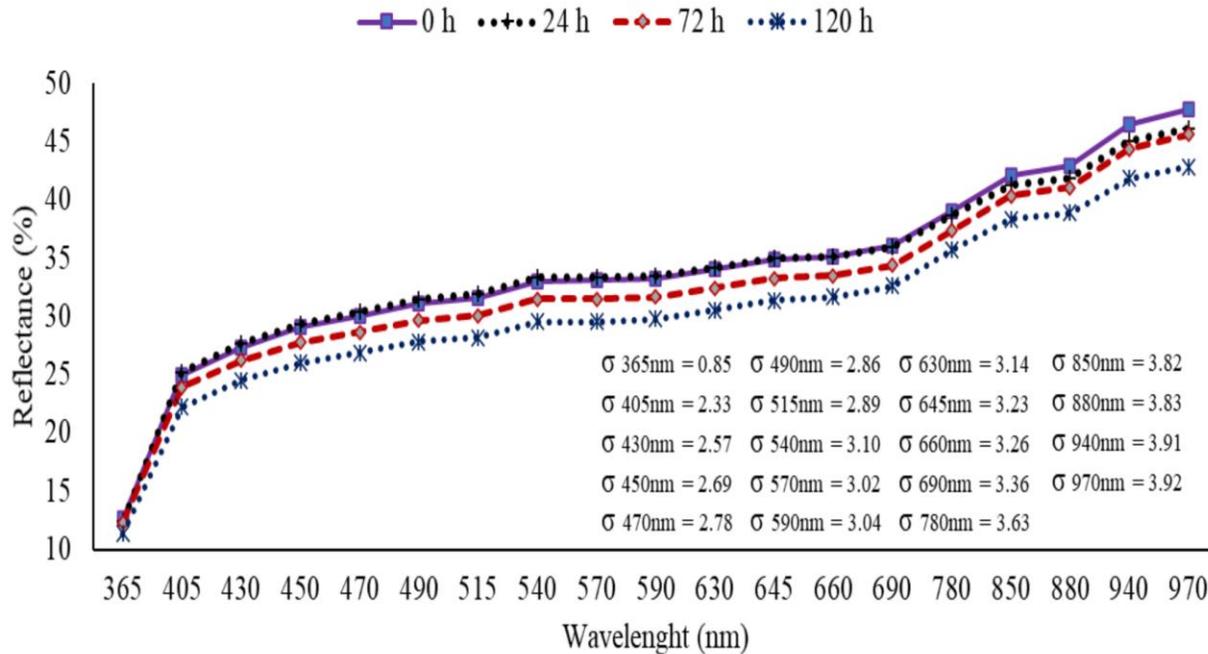
Detecção de fungos em sementes de trigo



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

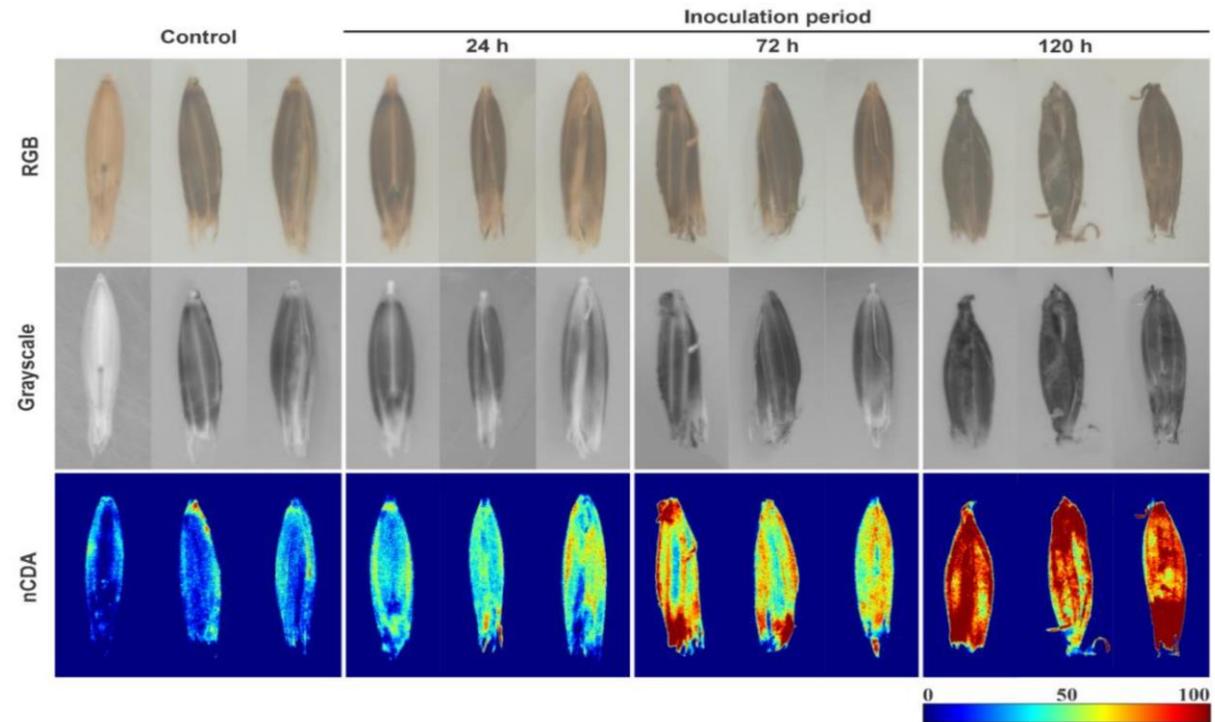
Vrešak et al. (2016)

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)



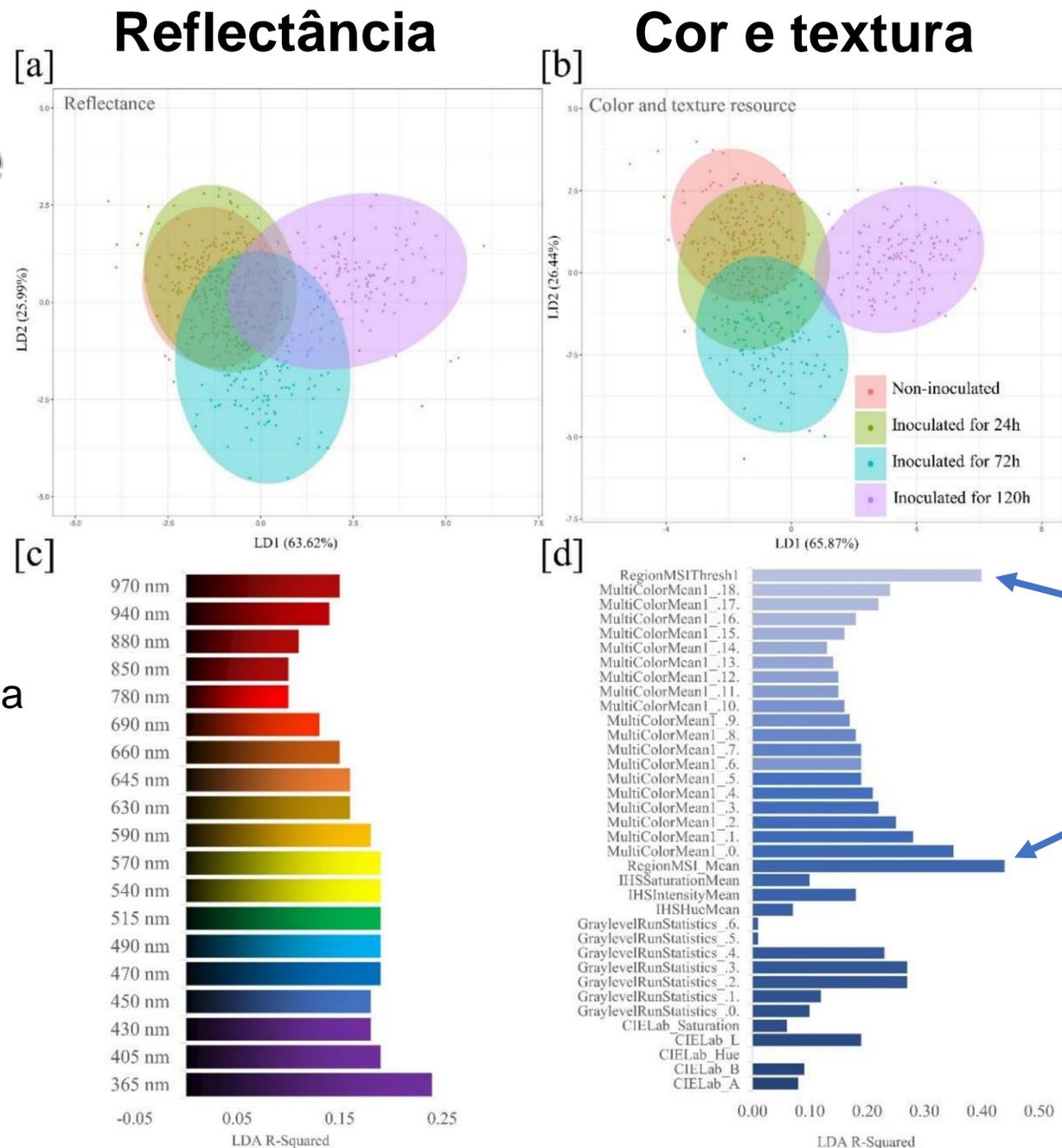
Imagens brutas e correspondentes em tons de cinza e imagens nCDA de sementes de aveia-preta a **365 nm** para sementes livres de fungos (controle) e sementes expostas a *Drechslera avenae* (Eidam) Sharif por 24, 72 e 120 h

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)



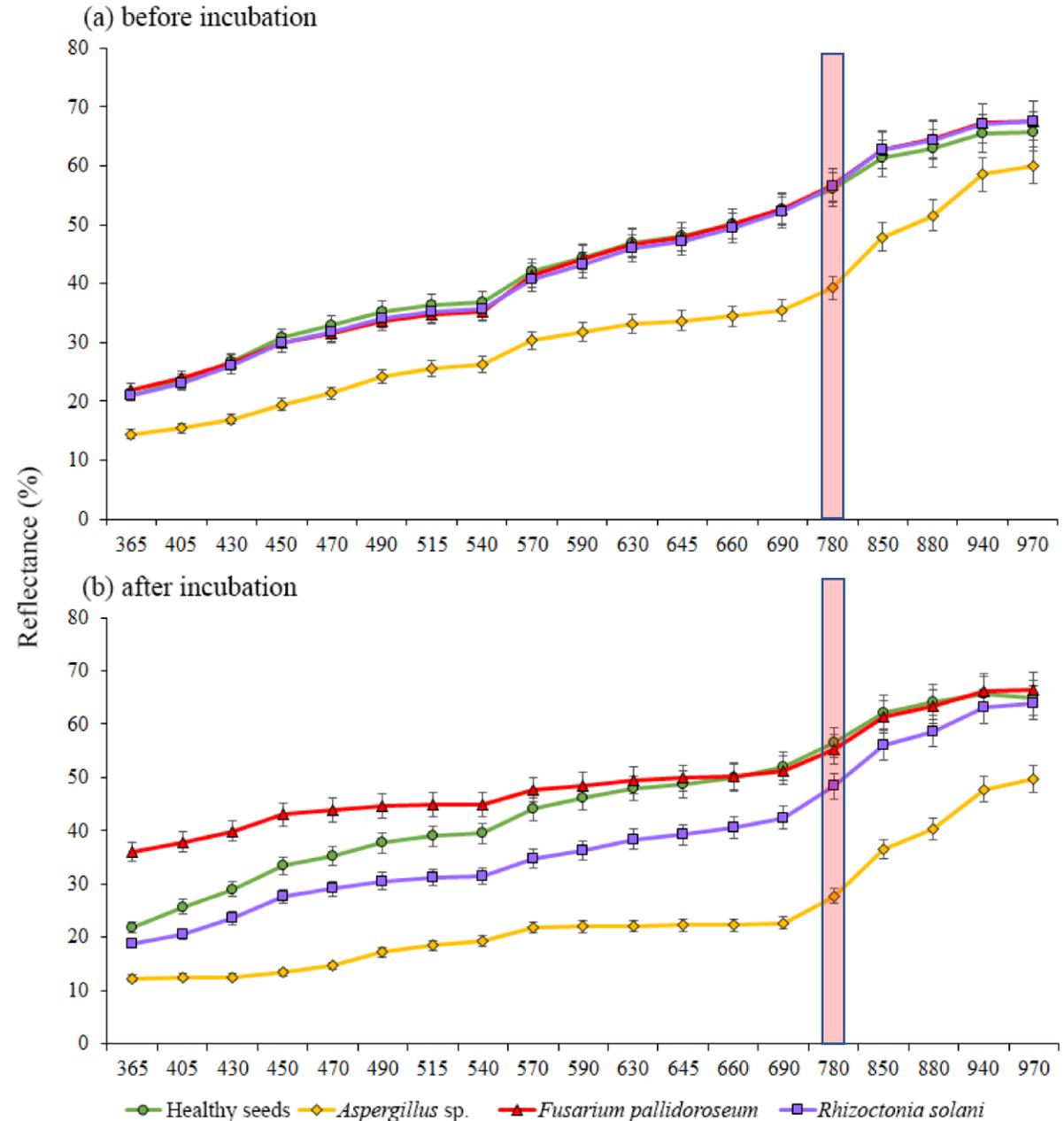
RegionMSI_Mean e **RegionMSIthresh** foram os características mais significativas

Detecção de fungos em sementes de feijão-caupi

Fusarium pallidoroseum
Rhizoctonia solani
Aspergillus sp.

Assinatura espectral para classes de sementes saudáveis 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)

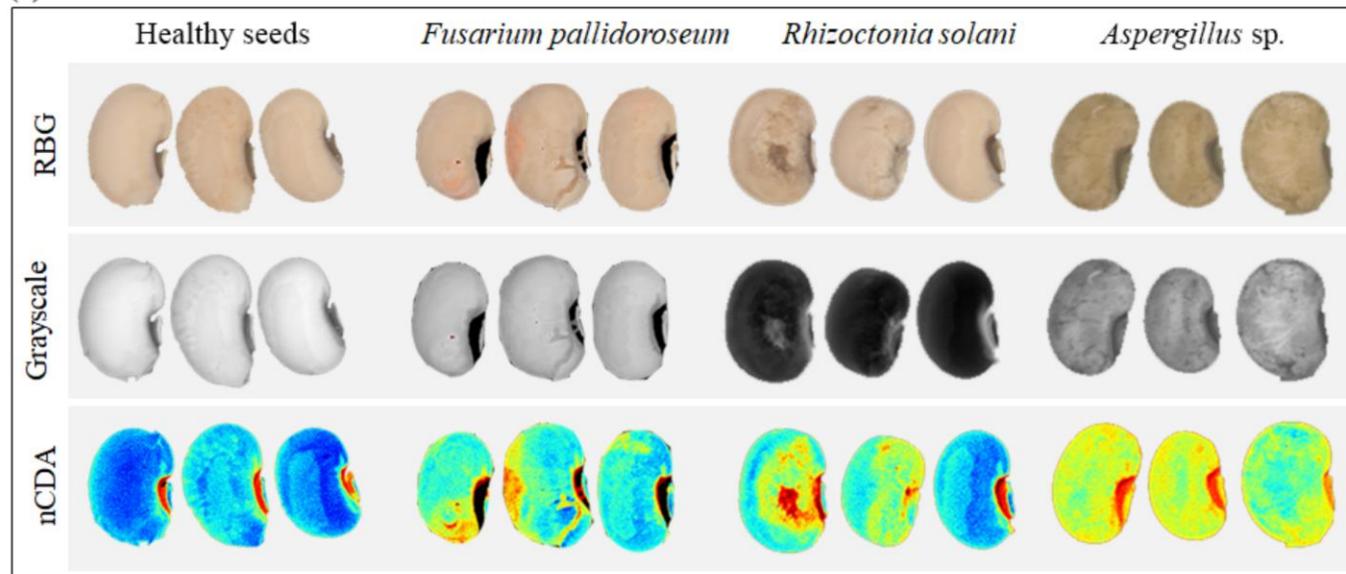
Rego et al. (2020)



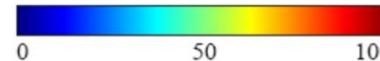
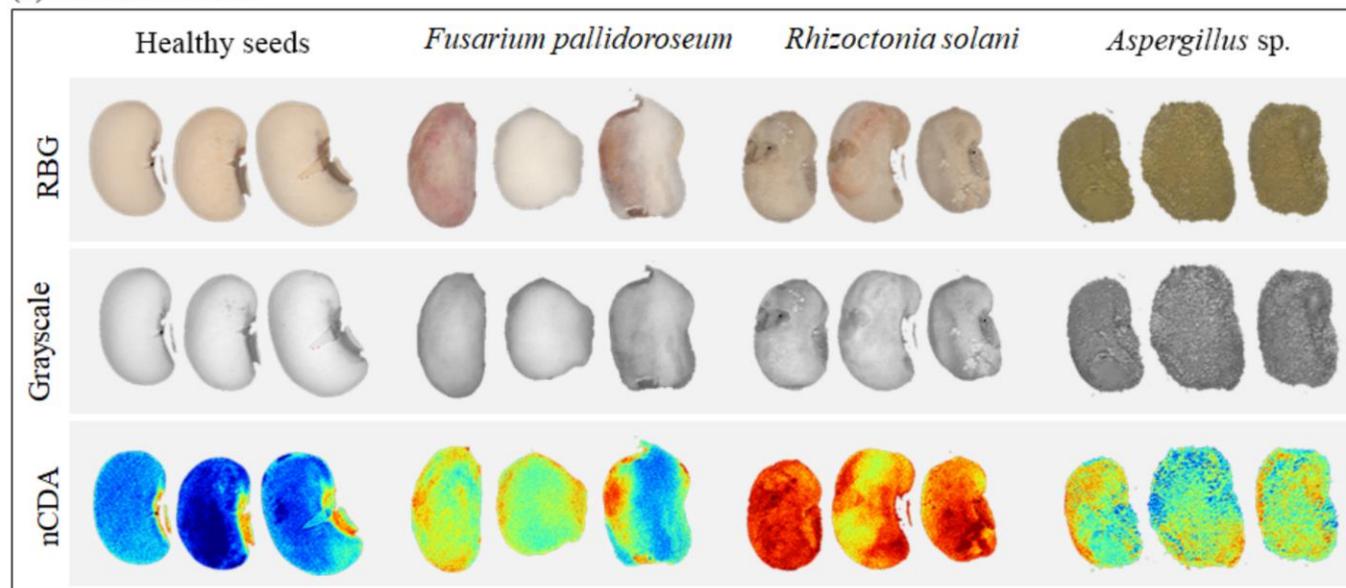
Detecção de fungos em sementes de feijão-caupi

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

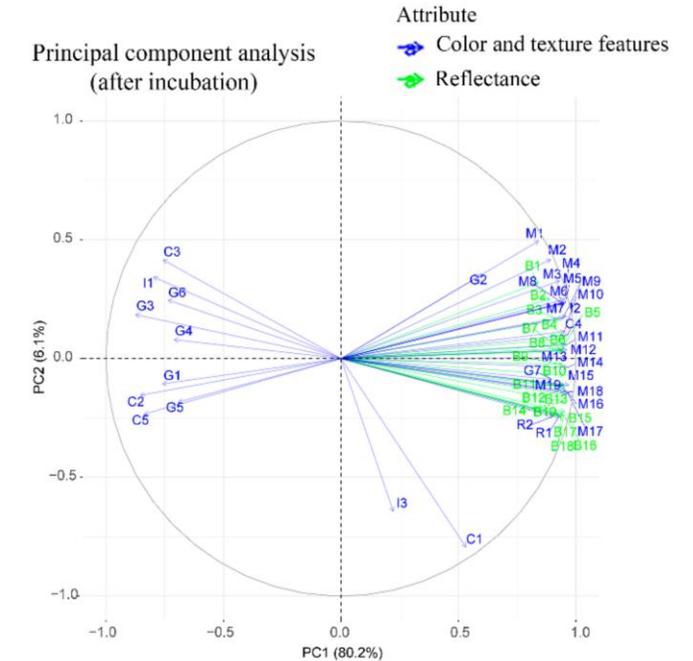
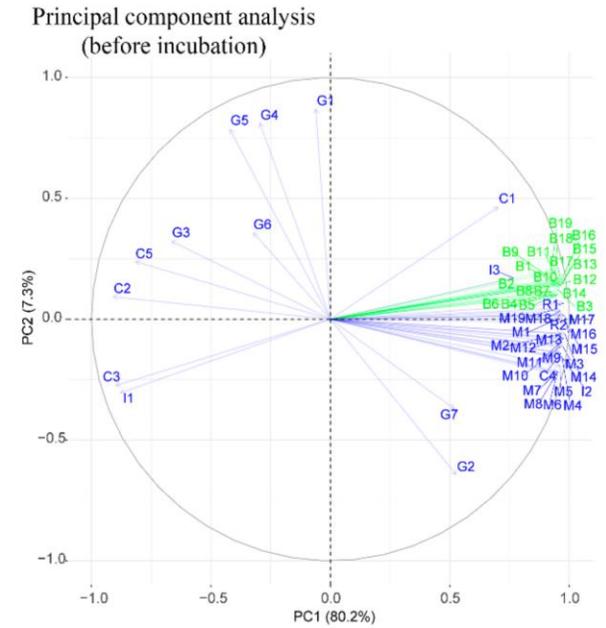
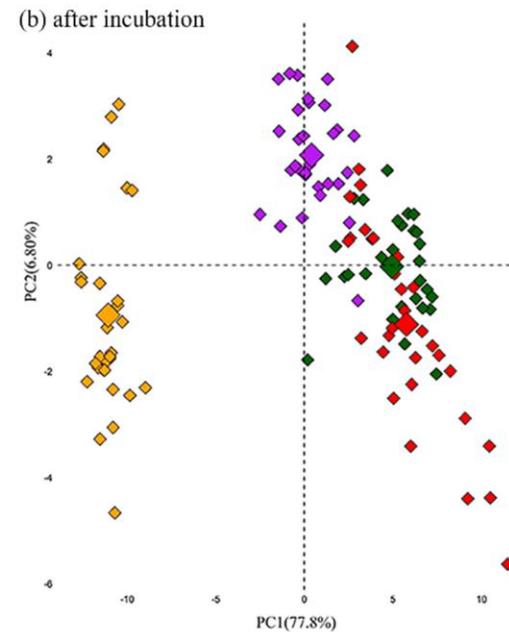
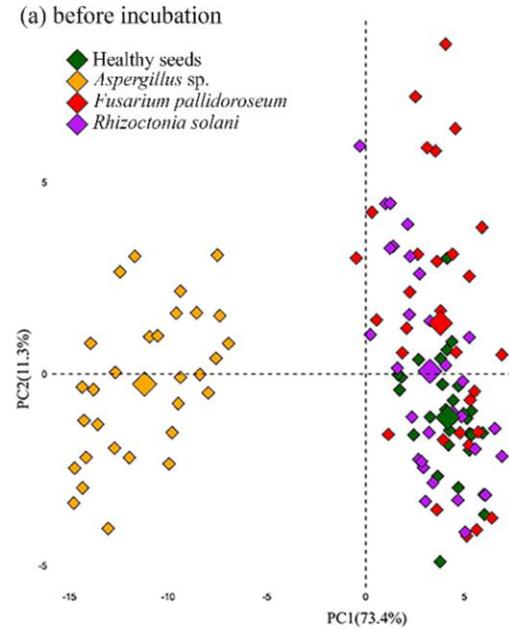


(b) after incubation

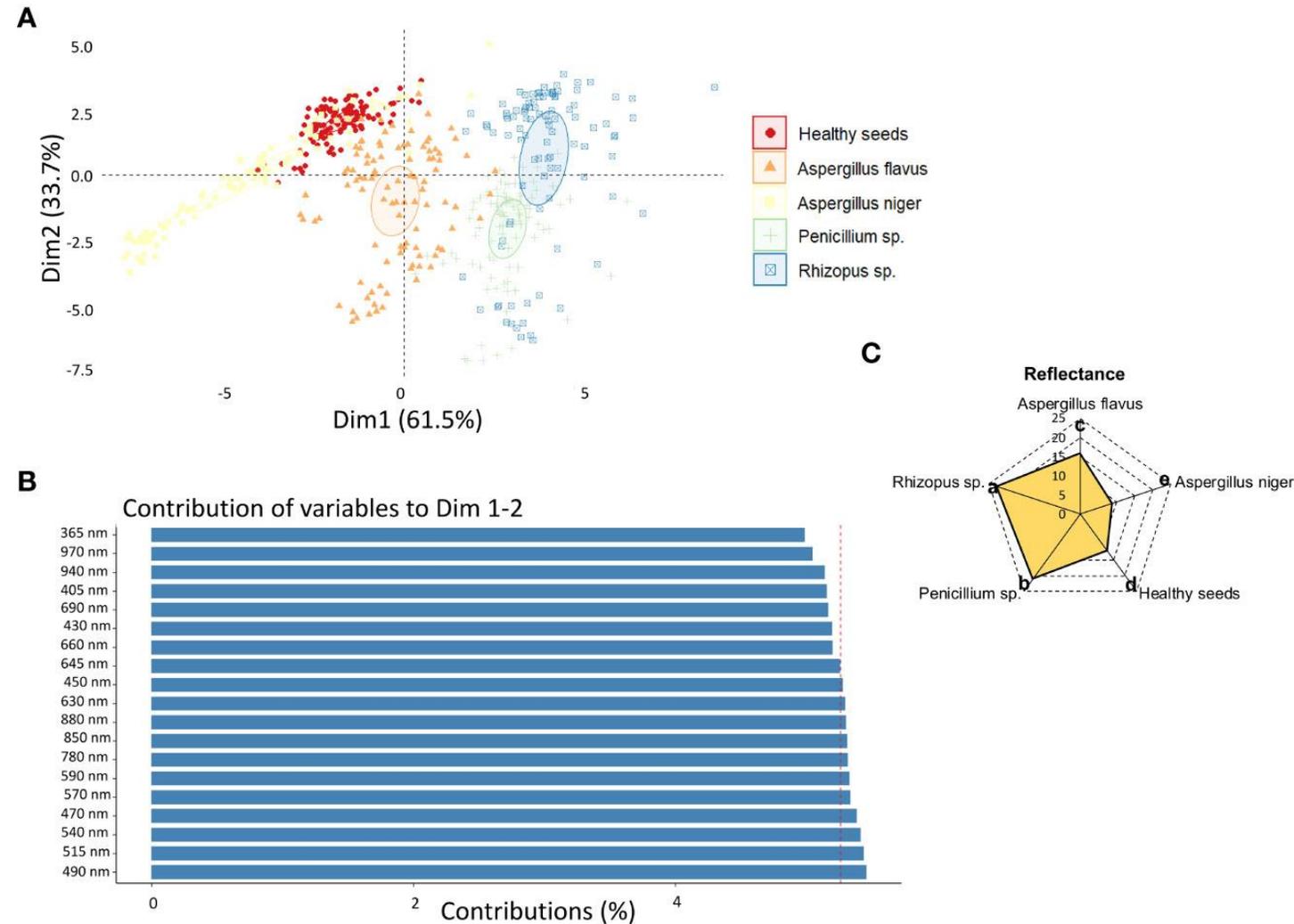


Detecção de fungos em sementes de feijão-caupi

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)



Detecção de fungos em sementes de amendoim utilizando imagens multiespectrais



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

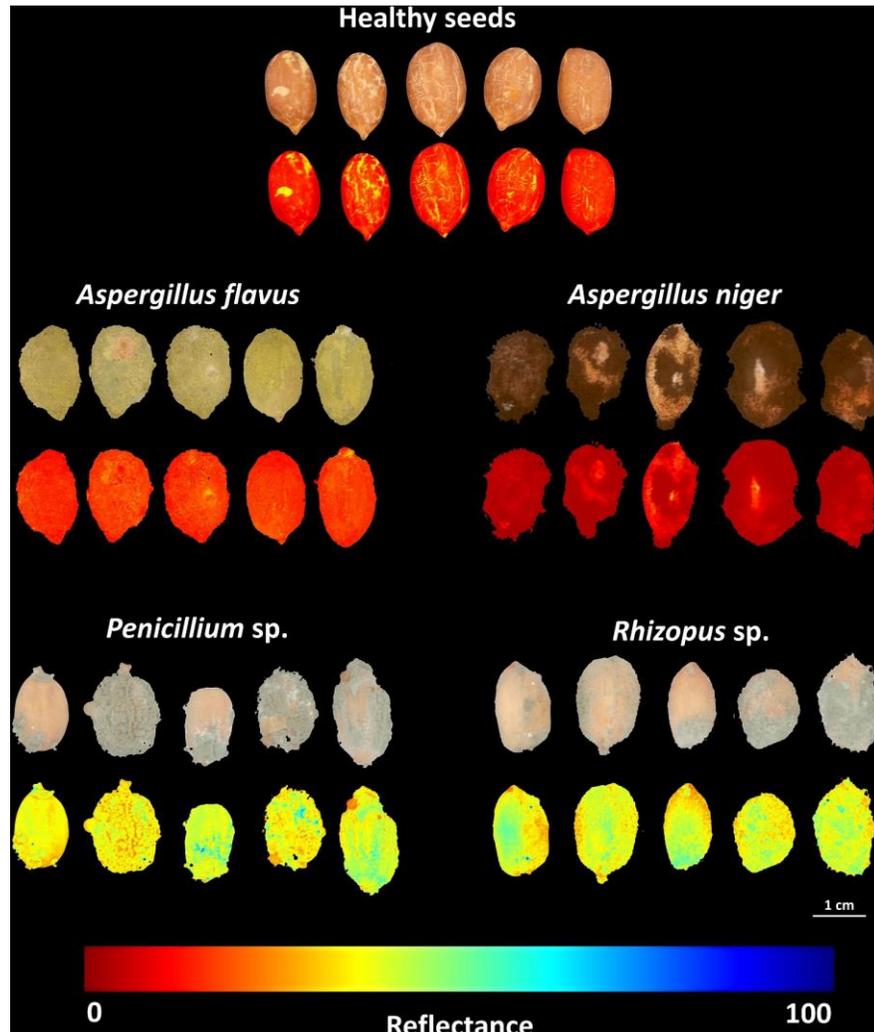
(B) contribuição dos descritores de reflectância para a discriminação das diferentes classes de fungos

(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 multispectrais



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.

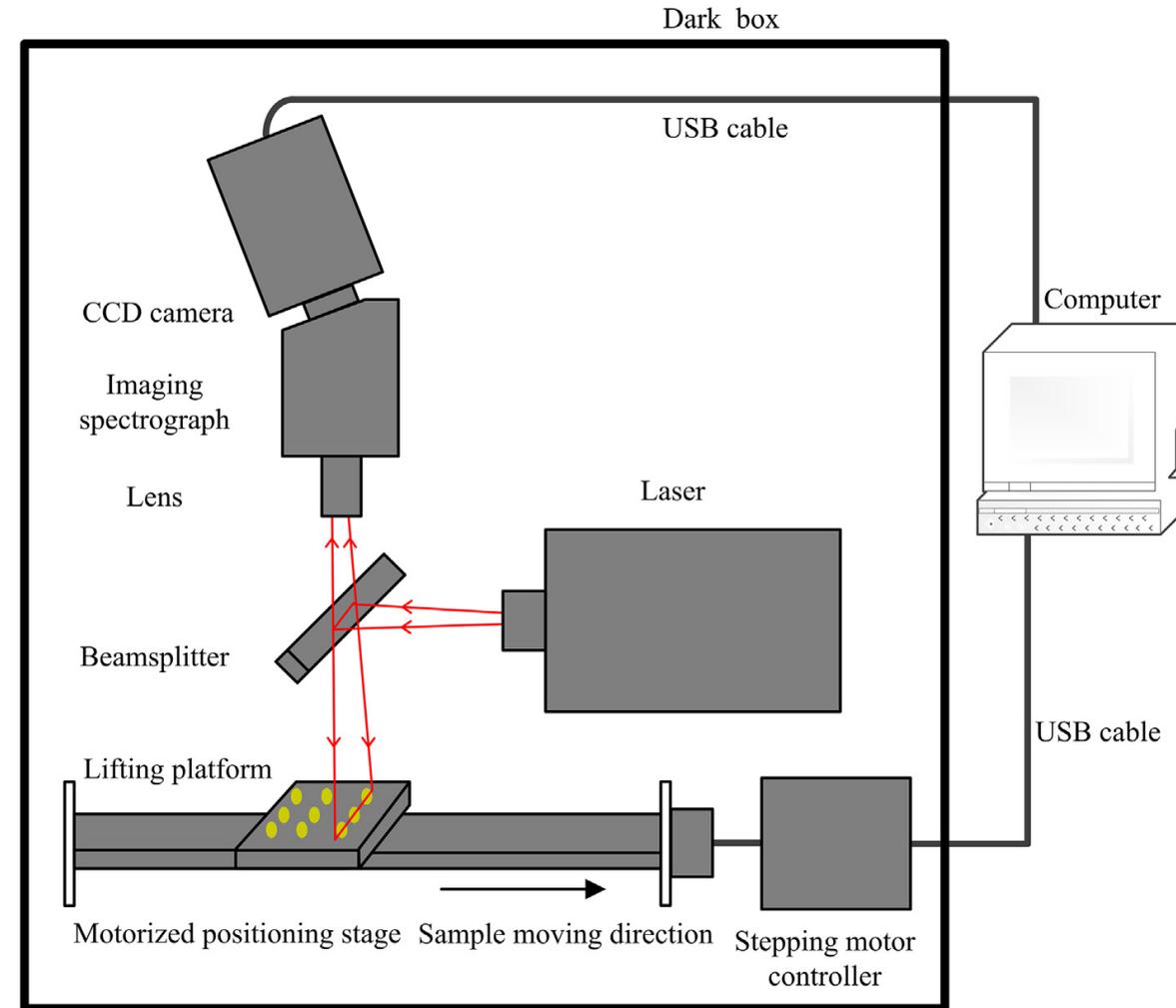
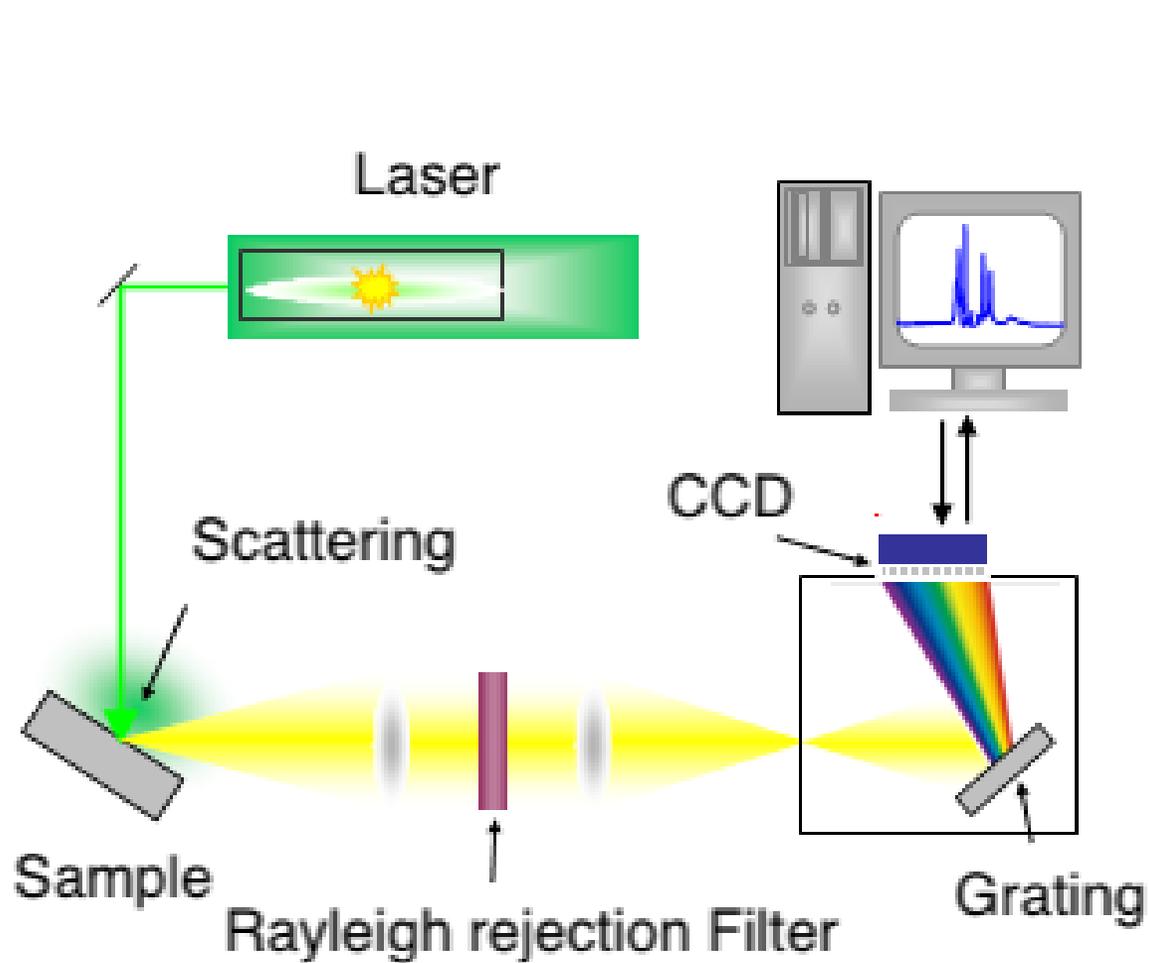
As imagens de refletância foram transformadas pelo algoritmo de discriminação canônica normalizada (nCDA); cada pixel na imagem de refletância contém um único valor de refletância dependente da cor, textura e composição química do micélio do fungo.

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

Sudki et al. (2023)

Imagem hiperespectral Raman

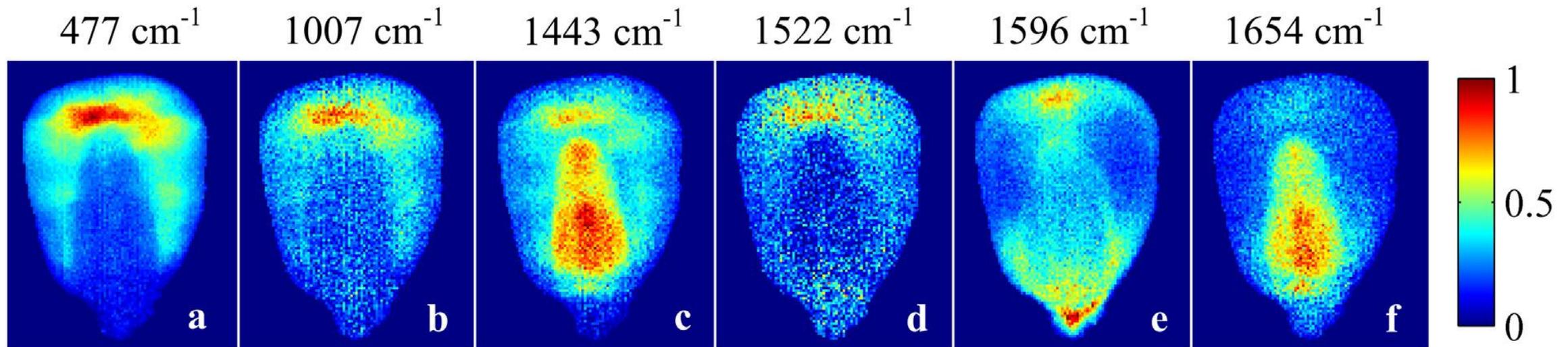
envolve a análise de espalhamento



Yang et al. (2018)

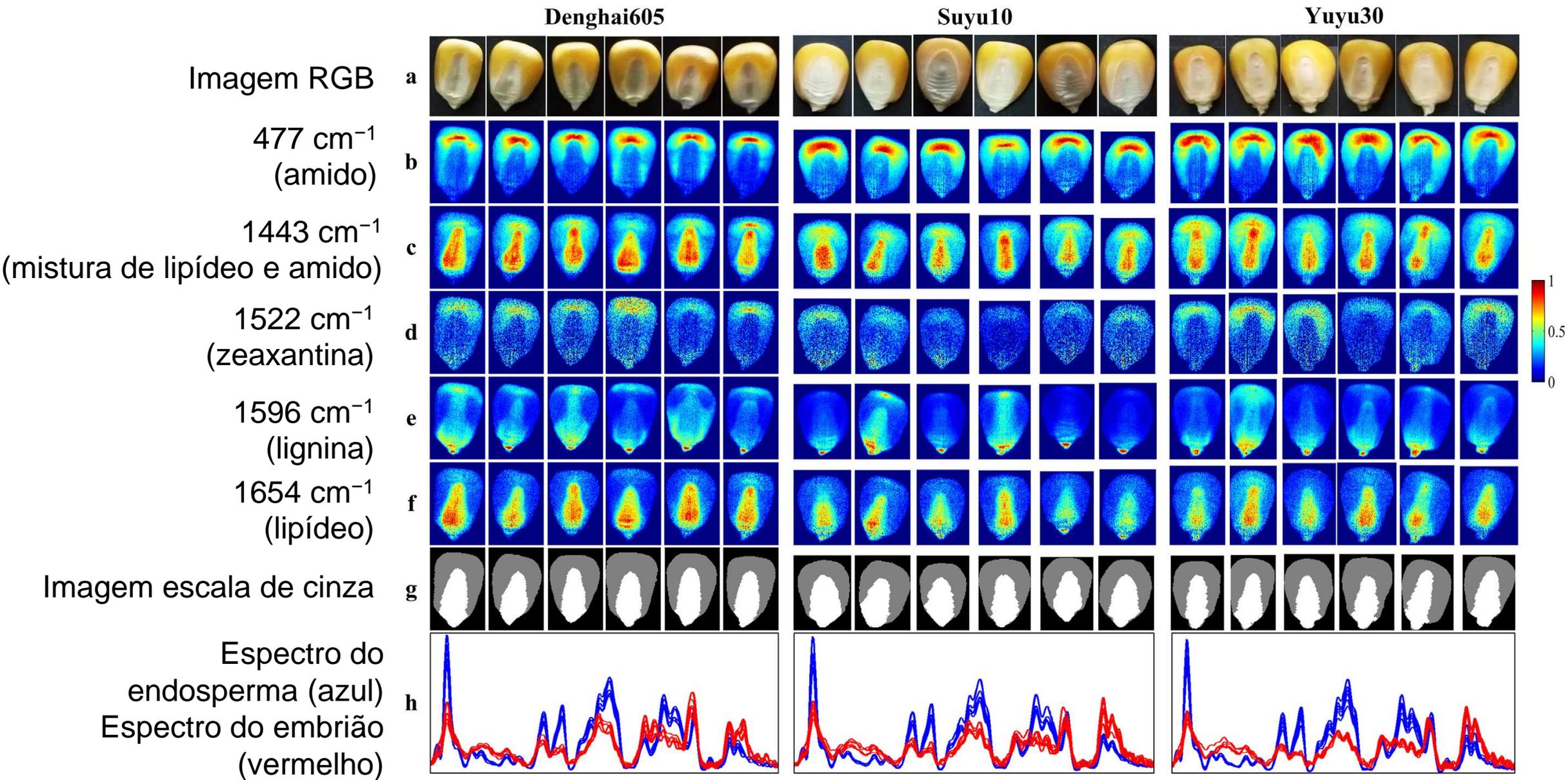
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.04.026>

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



Yang et al. (2018)

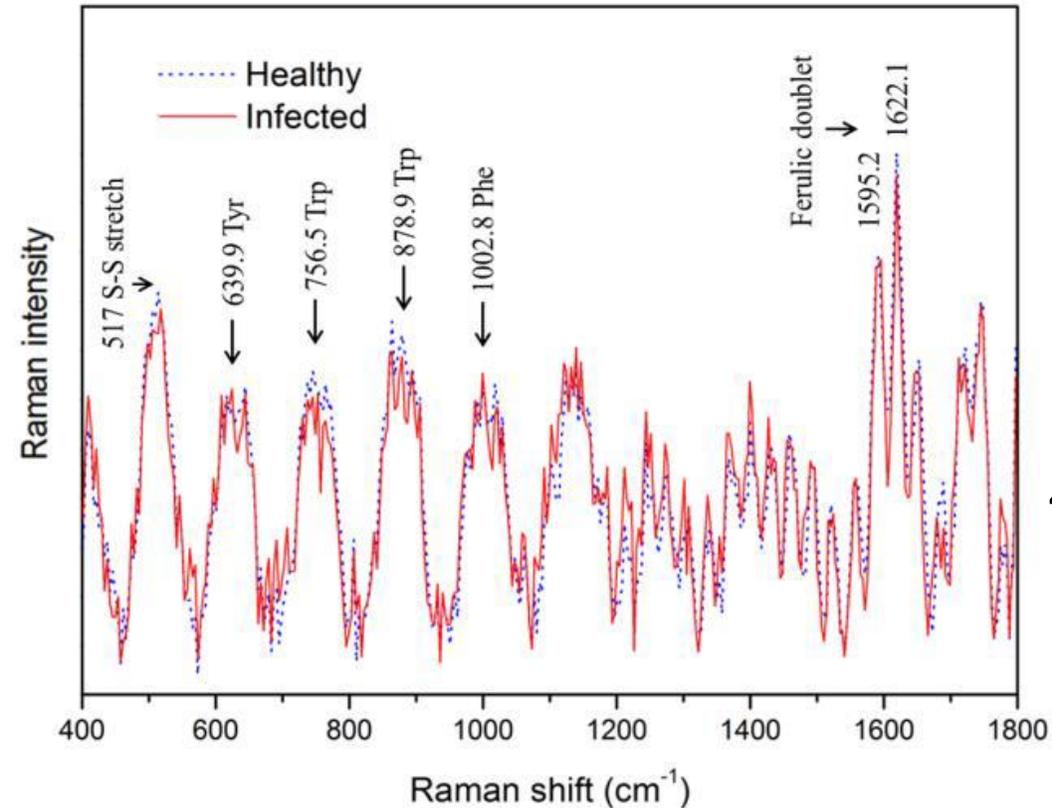
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.04.026>



Yang et al. (2018)

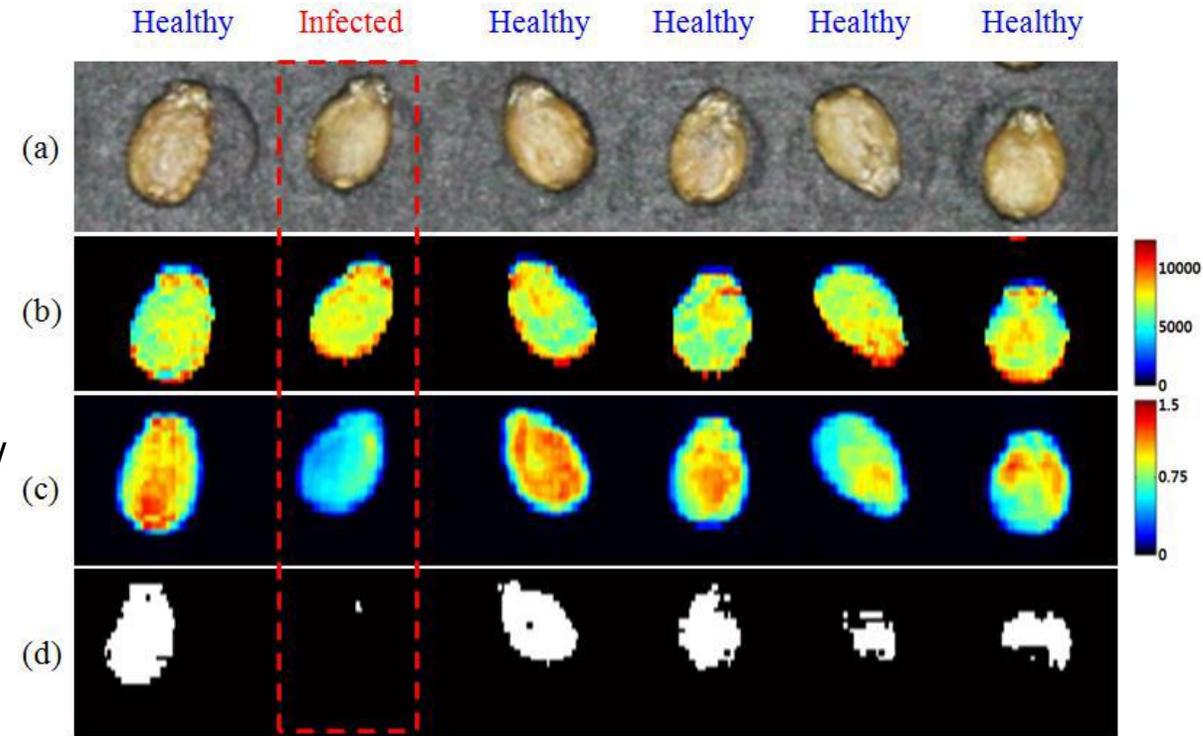
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.04.026>

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



1076.8 cm^{-1}

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

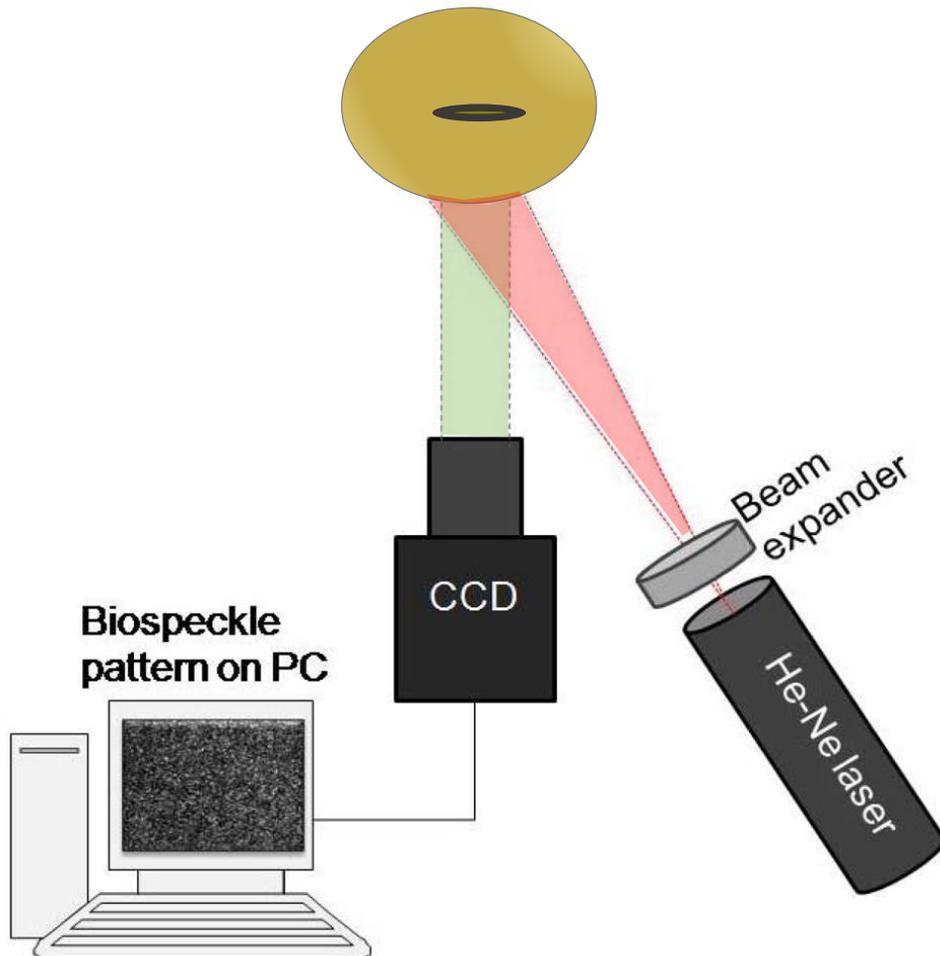


A relação entre duas bandas (em C): $1076.8 \text{ cm}^{-1} / 437 \text{ cm}^{-1}$ proporcionou o melhor resultado para identificar sementes saudáveis e infectadas

doi:10.3390/s17102188

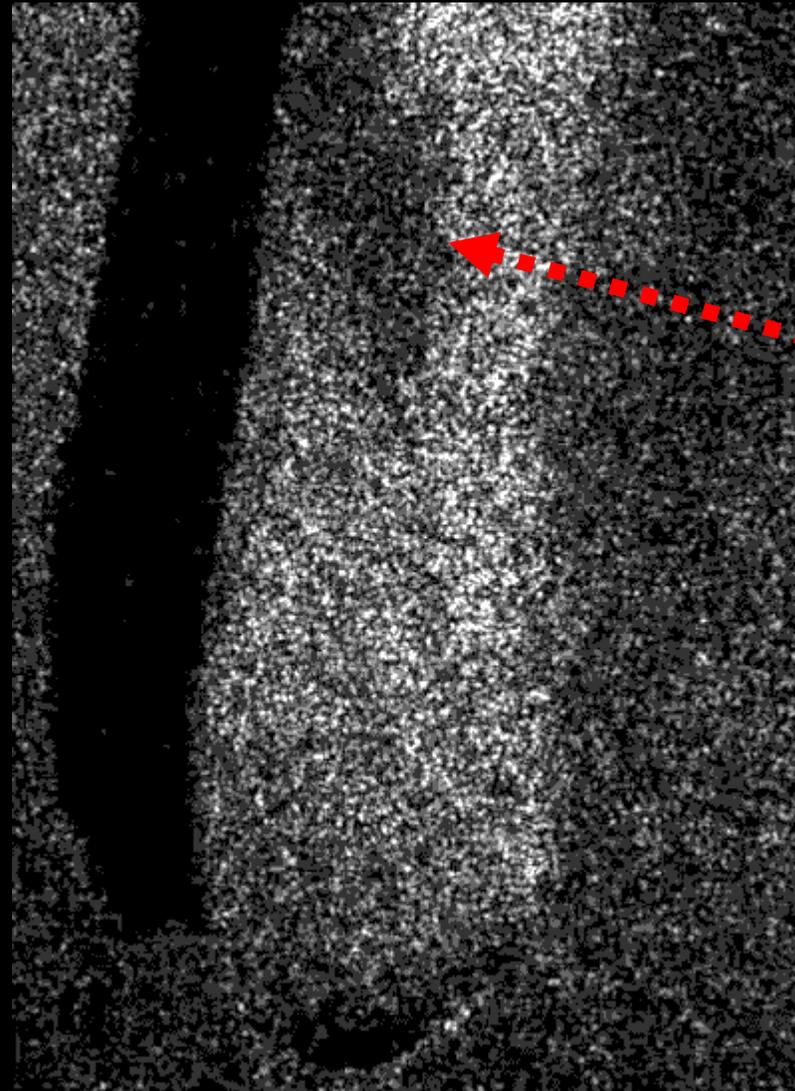
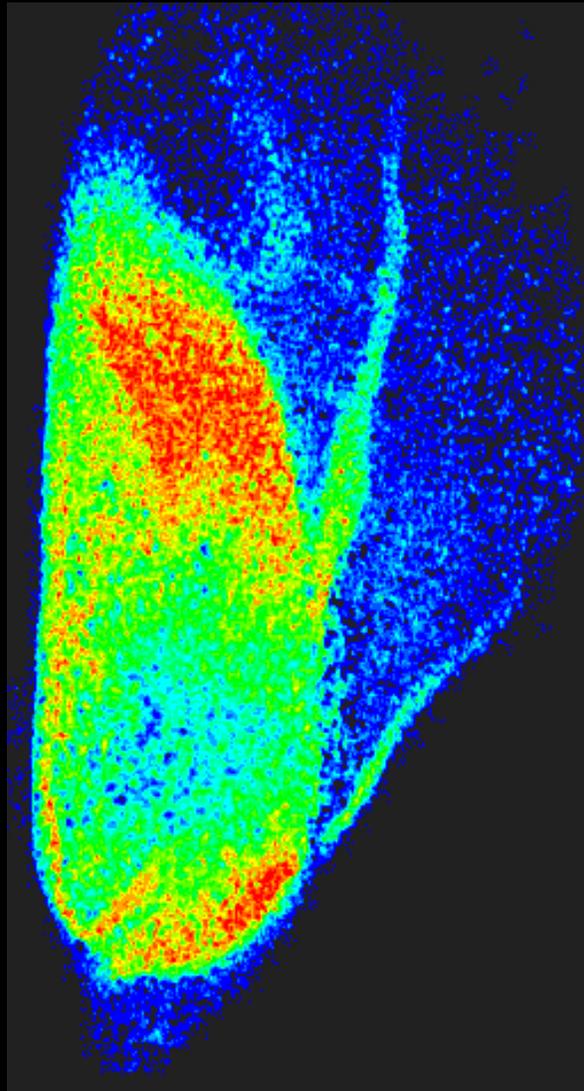
Lee et al. (2017)

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

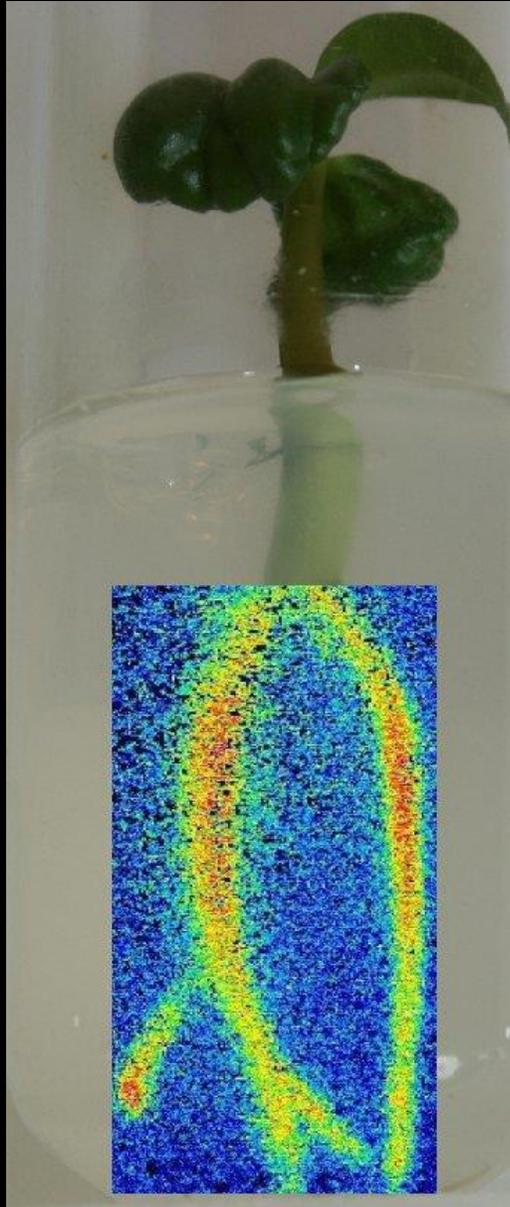


Fenômeno óptico de interferência que ocorre quando a luz laser incide sobre uma superfície onde se desenvolve um processo dinâmico biológico ou não biológico

Avaliação de semente de milho (Biospeckle)



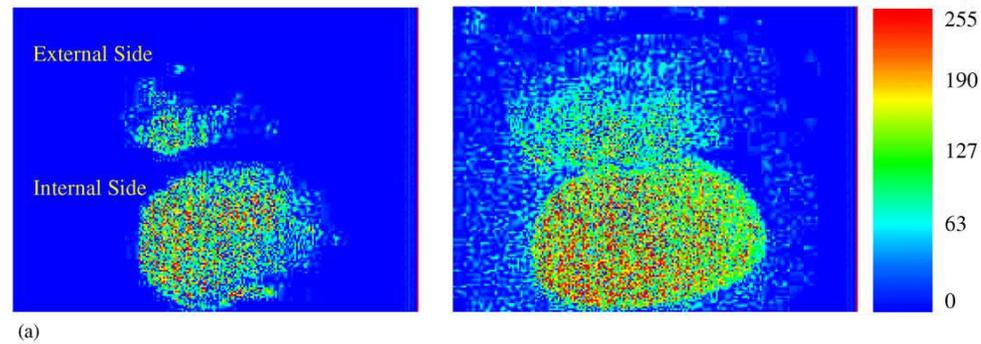
Áreas
pontilhadas
mais
escuras
apresentam
maior
atividade
biológica



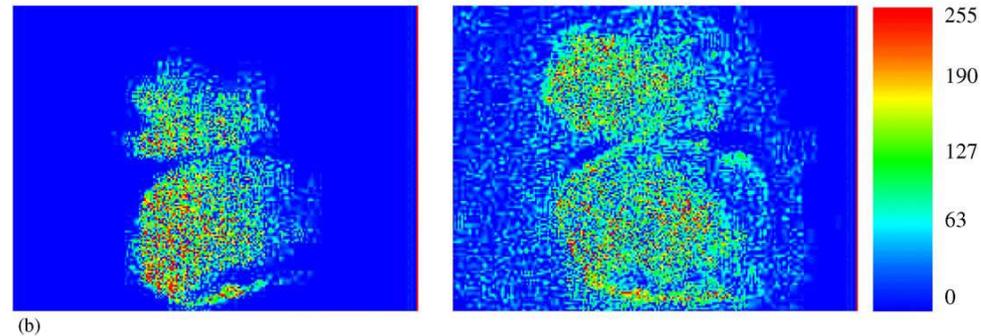
Análise da raiz de plântula de café por Biospeckle

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

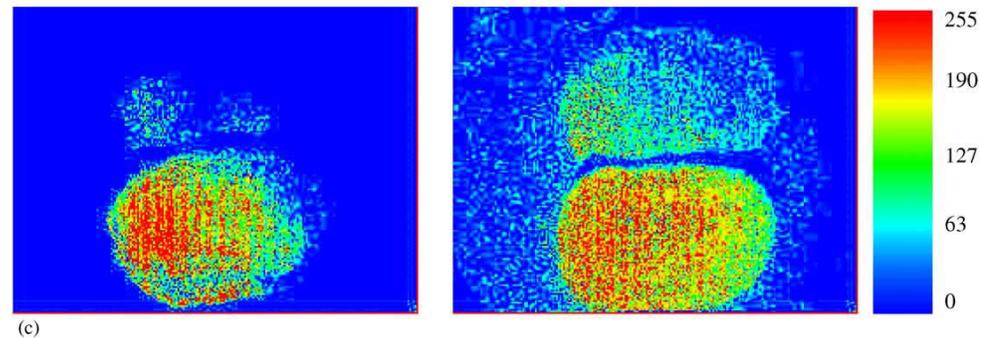
Detecção de fungos em feijão utilizando a técnica de Biospeckle



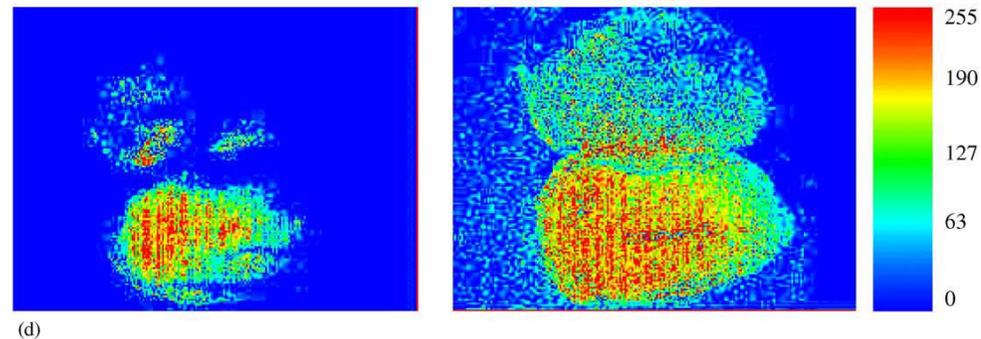
Semente sadia



Sclerotinia
(não detectado)



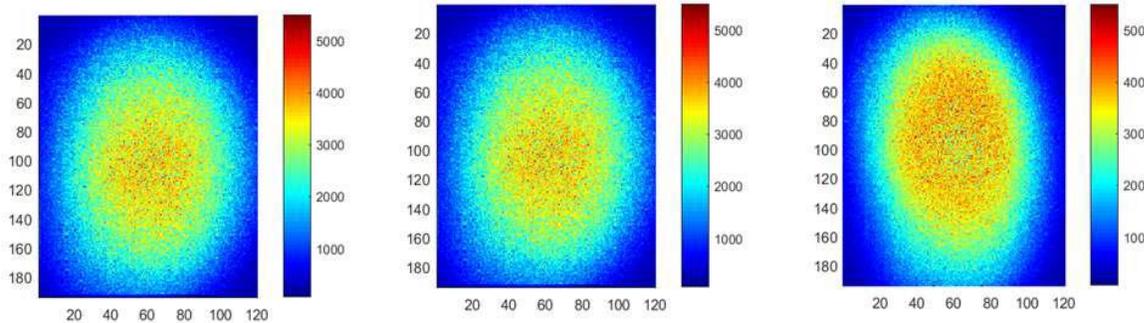
Aspergillus
(detectado)



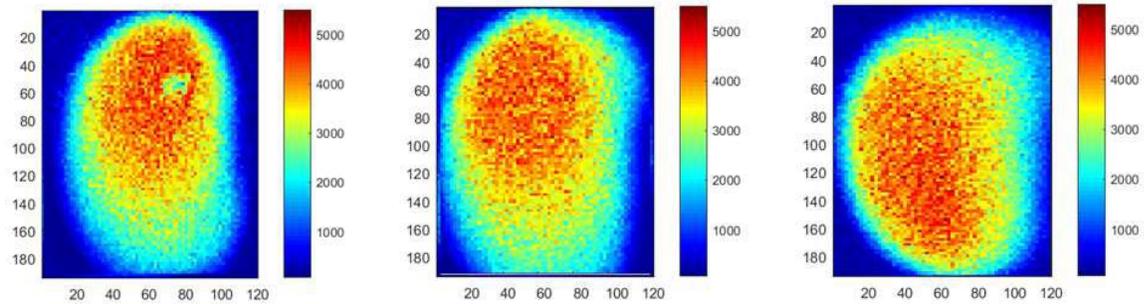
Colletotrichum
(detectado)

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

HEALTHY



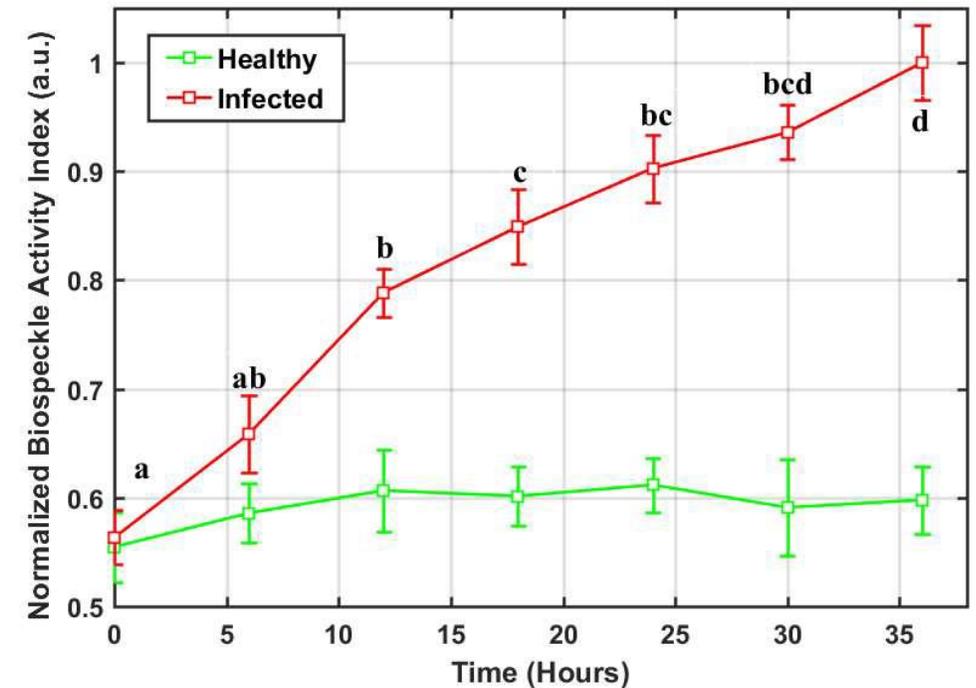
INFECTED



6 h

18 h

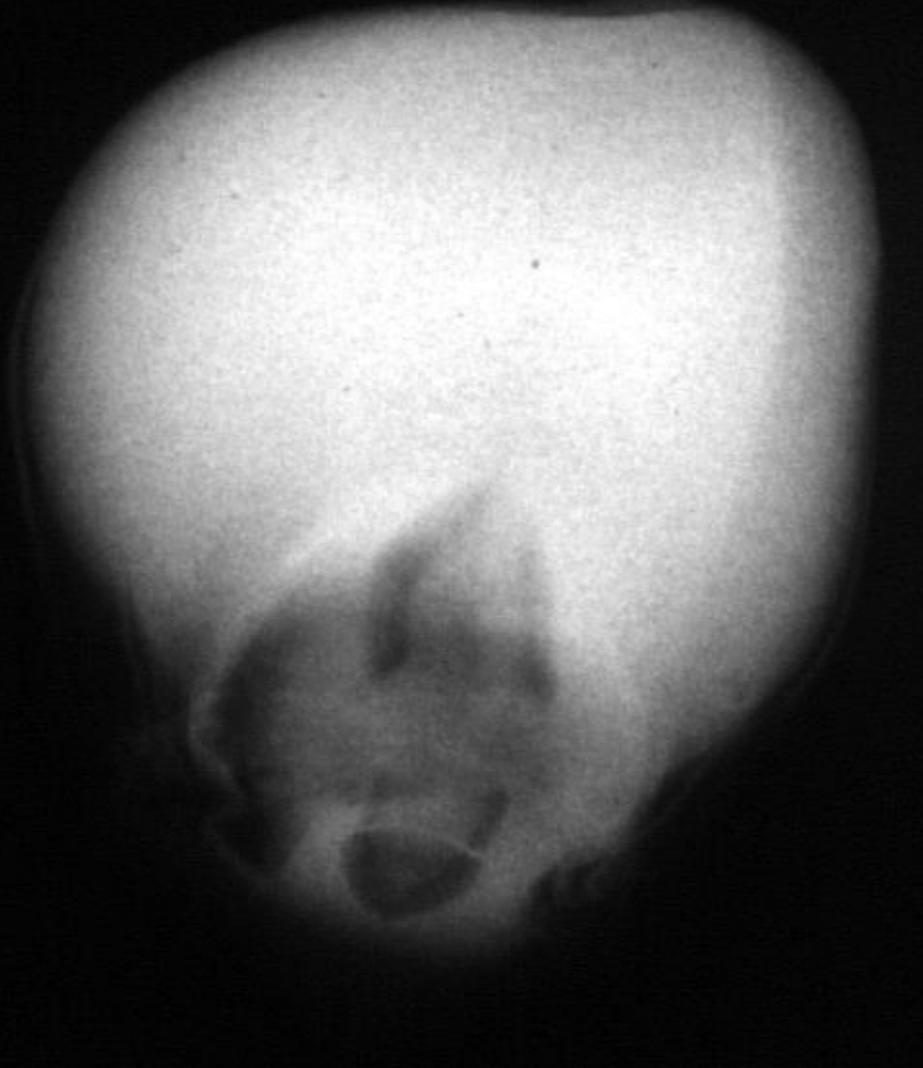
30 h



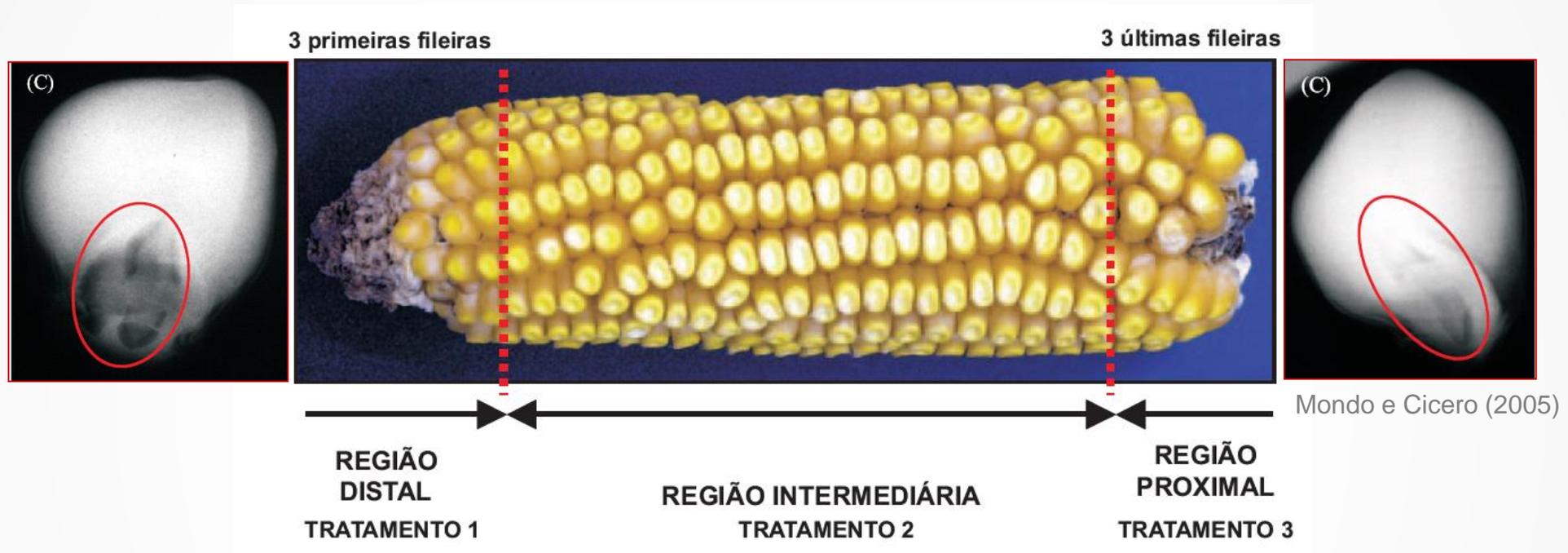
Efeitos dos patógenos nos testes de
germinação e vigor
(alguns exemplos)

Fusarium moliniforme

Raios X

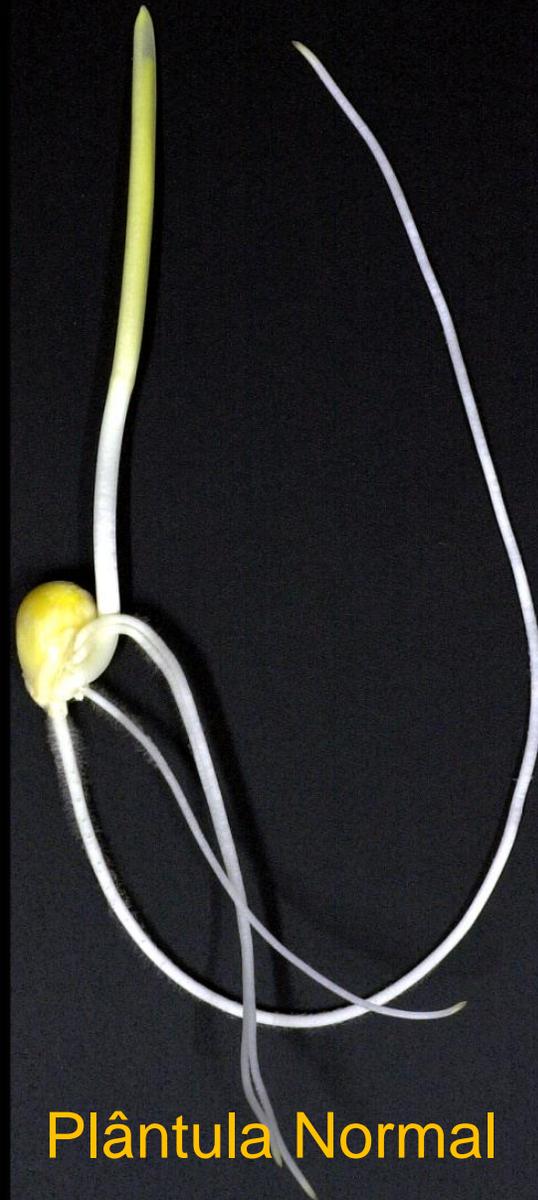


Mondo e Cicero (2005)



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)

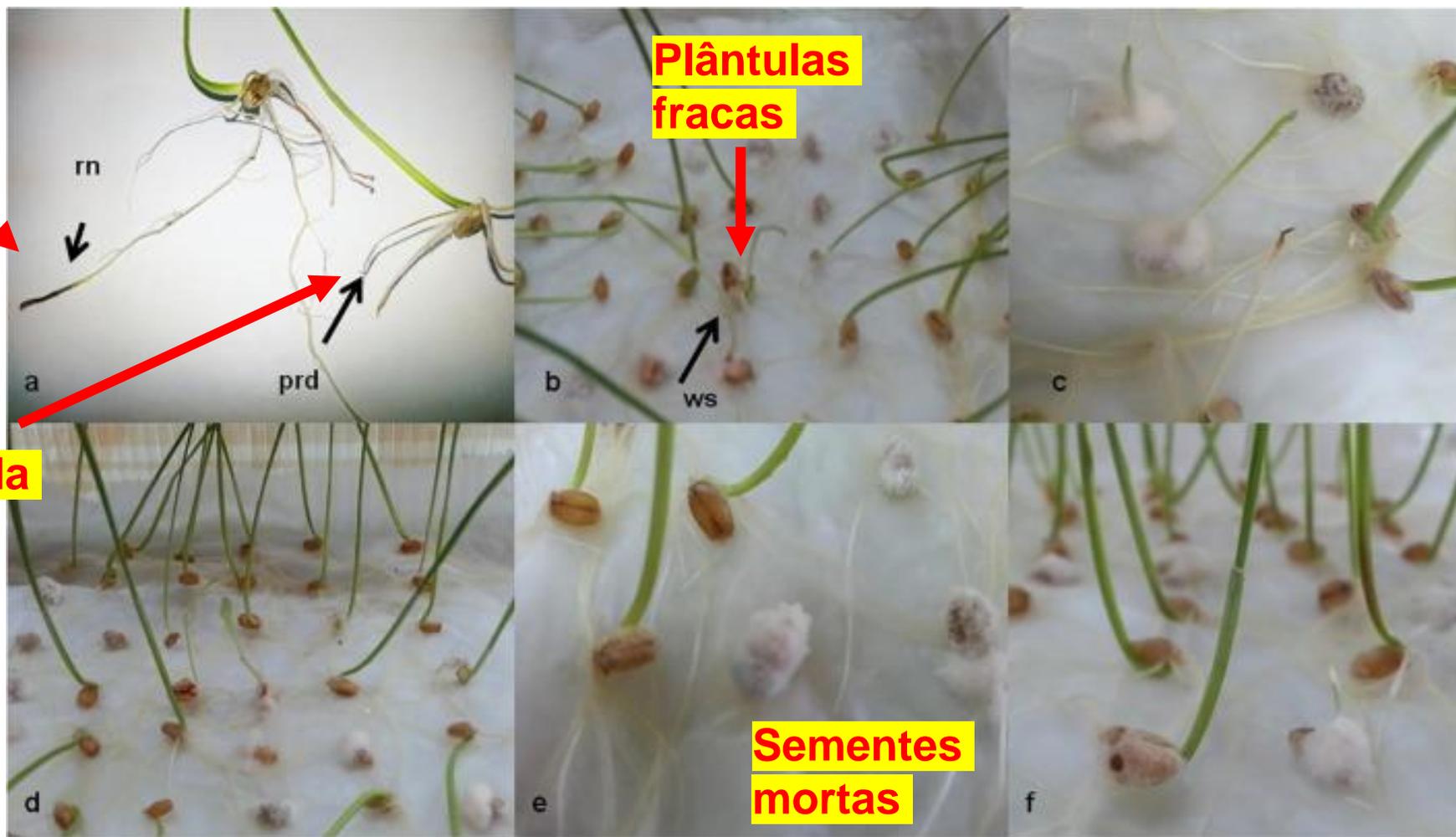
Sintomas causados por *Fusarium sudanense* em trigo

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



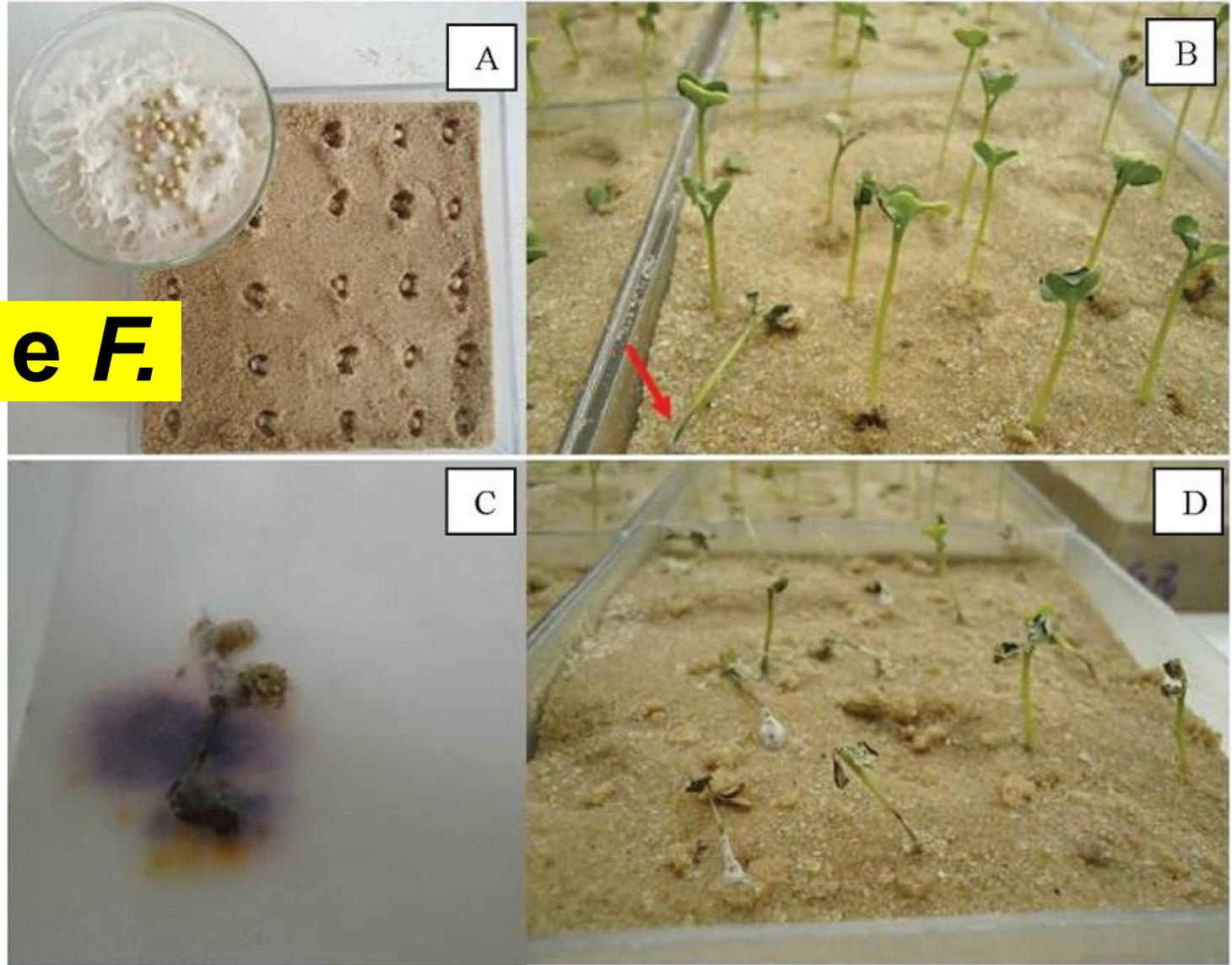
**Damping off
causado por
fungos**



<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





Fusarium



https://www.pioneer.com/us/agronomy/seed_seedling_diseases_cropfocus.html

