



XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA Instituto Agronômico - Campinas, SP

7 a 9 de Fevereiro de 2017

USO DE IMAGENS DIGITAIS PARA AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE *Monilinia fructicola* EM NECTARINA ‘AUROJIMA’

Daniele Candido da Costa¹; Juliana Sanches²; Antônio C.L. Lino²; Patrícia Cia²

¹Instituto Agronômico (IAC), Pós-Graduação em Agricultura Tropical e Subtropical, Campinas - SP danielecandido90@gmail.com ² Centro de Engenharia e Automação, Instituto Agronômico, CEA/IAC, Jundiaí – SP. jsanches@iac.sp.gov.br; lino@iac.sp.gov.br; pcia@iac.sp.gov.br;

RESUMO – A aplicação de tecnologia na área agrícola vem sendo desenvolvida para permitir o uso de visão de máquina na análise automática. É um processo que consiste na captura, processamento e análise de imagens digitais que podem ser usadas para caracterizar um material. O fungo *Monilinia fructicola* é o agente causal da principal doença em fruteiras de caroço como a nectarina, sendo sua quantificação e avaliação muito importantes para o desenvolvimento de modelos para seu controle. Esta técnica tem potencial para substituir medições manuais e acelerar o processo de avaliação, fornecendo maior precisão. Sendo assim, a hipótese desse trabalho é de que o uso de imagens digitais é capaz de avaliar de forma eficiente e precisa a severidade de doenças. O objetivo foi desenvolver uma rotina computacional visando avaliar o crescimento de *M. fructicola* em nectarina a partir do uso de imagens digitais. Para isso, frutos de nectarina ‘Aurojima’ foram inoculados com o patógeno *M. fructicola* e sua severidade avaliada diariamente por meio de paquímetro e imagem digital. As correlações entre os valores obtidos por meio do paquímetro e da imagem foram de $R^2=0,98$, $R^2=0,97$, $R^2=0,99$ e $R^2=0,95$, referentes às avaliações efetuadas três, quatro, cinco e seis dias após a inoculação, respectivamente. A rotina desenvolvida permitiu quantificar de forma precisa e eficiente a área da lesão mostrando assim que a técnica pode ser aplicada para esse fim.

Palavras-chave: imagem digital, *Monilinia fructicola*, nectarina

INTRODUÇÃO

O avanço da ciência e tecnologia tem permitido desenvolver análises automáticas que aliam câmeras e computadores e que podem ser aplicadas na área agrícola (BROSNAN & SUN, 2004). O processo compreende na captura, processamento e análise das imagens (SONKA et al., 1999) que são executados com auxílio de *softwares*. A visão de máquina é uma técnica que pode ser utilizada para otimizar a contagem, classificação e reconhecimento de frutos, resultando na caracterização de um dado material por meio de imagens digitais. SONG et al. (2004), desenvolveram um método para reconhecimento e contagem de frutos de pimenta, enquanto SILVA et al. (2009) desenvolveram uma técnica para classificar morangos pelo seu tamanho e formato. Recentemente, SOFU et al. (2016) aplicaram a técnica de imagem em uma mesa de classificação visando selecionar frutos de maçãs por tamanho, cor, peso, manchas e a presença da doença ‘sarna da macieira’.



XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA

Instituto Agronômico - Campinas, SP

7 a 9 de Fevereiro de 2017

O uso de imagem digital permite maior precisão e eficiência (CHEN et. al., 2002) na avaliação dos frutos, sendo uma alternativa tanto para o setor produtivo quanto para pesquisa. É capaz de simplificar alguns processos de monitoramento dispendiosos e que levam muito tempo ou requerem aparelhos complexos para serem realizados (CUBERO et. al., 2011). Camargo & Smith (2009) aplicaram a técnica para identificar padrões de sintomas em folhas de diversas plantas infectadas por fungos e bactérias. Assim, imagina-se que pode ser aplicado também em frutos infectados como um método prático para facilitar a detecção e avaliação dos mesmos.

No caso de pesquisas científicas, o método atualmente utilizado para quantificar a severidade é baseado em medir o crescimento dos patógenos com auxílio de paquímetro. A utilização de imagens digitais tem potencial para substituir essa medição e acelerar o processo de avaliação, e ao mesmo tempo fornecer maior precisão.

Doenças como a podridão parda causada por *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey são responsáveis por danos severos na produção de fruteiras de caroço (FORTES et al., 2002). Portanto, estão sendo constantemente estudadas e avaliadas. Pode ser desencadeada pelo manejo inadequado na pós-colheita, situação na qual o desenvolvimento do patógeno é favorecido. Com a evolução da doença, os frutos desidratam-se, e adquirem aspecto mumificado (CASTRO et al., 2003). Por ser a principal doença relacionada às frutas de caroço, foi selecionada como patossistema modelo para esse estudo.

Considerando o proposto acima, a hipótese desse trabalho é de que o uso de imagens digitais é capaz de avaliar de forma eficiente e precisa a severidade de doenças. Portanto, o objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de rotina computacional visando avaliar o crescimento de *M. fructicola* em nectarina ‘Aurojima’ a partir do uso de imagens digitais.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Imagens Aplicadas à Agricultura do Centro de Engenharia e Automação / IAC, em Jundiaí, SP. Frutos de nectarina ‘Aurojima’ foram adquiridos em produtores locais, na região de Jundiaí-SP.

O fungo *M. fructicola* foi mantido em placas de petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), em câmara de crescimento, a 25 °C. O inóculo foi preparado com a adição de água destilada esterilizada sobre a colônia do fungo e, com auxílio de uma alça de Drigalsky os esporos foram desalojados. A suspensão foi filtrada em gaze e a contagem realizada em hemacitômetro, ajustando-se para 10⁵ esporos mL⁻¹. Em seguida, os frutos foram inoculados



XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA

Instituto Agrônômico - Campinas, SP

7 a 9 de Fevereiro de 2017

por injeção subcuticular de 10 μ L da suspensão de esporos, com auxílio de seringa de cromatografia. Com o auxílio de um paquímetro digital (mm) foi feita a medição do comprimento e largura da lesão em milímetros e em seguida, calculada a área aproximada através da fórmula $A=\pi r^2$. Sendo o raio obtido a partir da média entre os valores de comprimento e altura. A captação das imagens seguiu um arranjo experimental constituído de uma câmera CCD, marca Canon, modelo 6D com resolução de 20 MPixel, acoplada a um PC e colocada acima dos frutos (Figura 1A) e iluminados lateralmente por oito lâmpadas de LED (quatro de 10W na parte inferior e quatro de 6W na superior). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 15 repetições compostas por um fruto como unidade experimental. Os frutos foram avaliados diariamente até que a lesão atingisse aproximadamente 50% da área total do fruto.

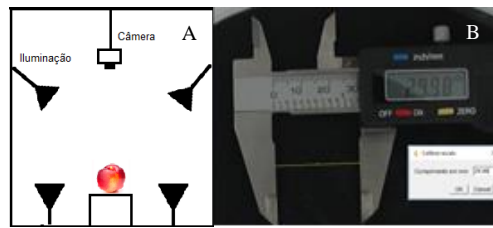


Figura 1. Arranjo experimental para a captura das imagens digitais, (A); medida do paquímetro para realizar a correção das distorções da imagem (B).

Foi desenvolvida uma rotina computacional (*macro*) por meio do *software* ImageJ para realizar o tratamento e análise das imagens. Iniciou-se o processamento das imagens abrindo-se a imagem do paquímetro (Figura 1B) e através do comando “*Set Scale*” a escala de *pixels* foi corrigida para mm; a rotina então salvou uma planilha com as dimensões de comprimento e largura das lesões. As medições feitas por meio do paquímetro e obtidas por imagens digitais foram comparadas pelo do cálculo do coeficiente R^2 .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os frutos apresentaram sintomas de podridão parda no terceiro dia após a inoculação e seu desenvolvimento (50% da superfície) máximo no fruto foi ao sexto dia (Figura 2). Inicialmente é observada uma pequena lesão parda, que evolui para manchas maiores e que são cobertas pela esporulação do fungo. Segundo Gradziel (1994) os frutos perdem sua resistência ao fungo ao longo do amadurecimento e assim há um desenvolvimento rápido da doença.



XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA

Instituto Agronômico - Campinas, SP

7 a 9 de Fevereiro de 2017

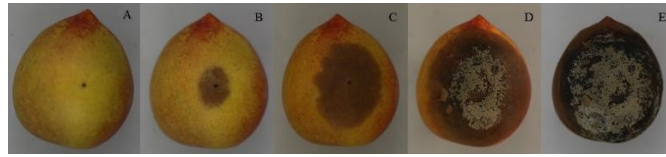


Figura 2. Evolução da lesão causada por *M. fructicola* em nectarinas ‘Aurojima’. Inoculação (A), três (B), quatro (C), cinco (D) e seis (E) dias após a inoculação.

As imagens das nectarinas lesionadas foram abertas, recortadas, e processadas no ImageJ através do comando “*Threshold Color*”, que utilizando o espaço de cor “*L a* b**”, seleciona somente a área da lesão. A seguir as imagens foram binarizadas e, por meio da ferramenta “*Analyze Particles*”, determinou-se a área, largura e comprimento das lesões causadas pelo fungo (Figura 3).

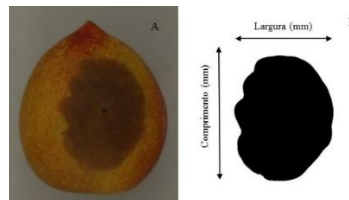


Figura 3. Lesão causada por *M. fructicola* em nectarina ‘Aurojima’ (A), região da lesão segmentada para medição área (B).

A segmentação da lesão está ligada à cor dos frutos, já que depende do contraste com a cor da lesão. Nesse sentido há maior dificuldade em processar nectarinas, pois sua coloração não é uniforme. Assim, alguns processos não puderam ser completamente automatizados. Uma possível solução para esse problema está em diferenciar as rotinas de acordo com a coloração predominante do fruto e identificar a coloração da lesão para que o *software* seja capaz de diferenciá-los de forma mais eficiente.

Após a segmentação da lesão foram extraídos os valores relacionados ao tamanho. As correlações entre os valores obtidos por meio do paquímetro e da imagem foram de $R^2=0,98$, $R^2=0,97$, $R^2=0,99$ e $R^2=0,95$, referentes às avaliações efetuadas três, quatro, cinco e seis dias após a inoculação, respectivamente (Figura 4A, 4B, 4C e 4D).



XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA

Instituto Agronômico - Campinas, SP

7 a 9 de Fevereiro de 2017

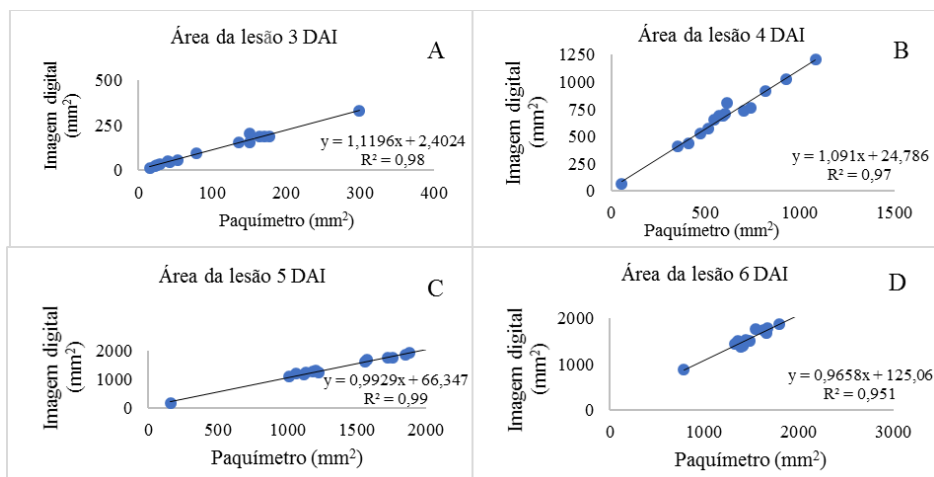


Figura 4. Correlação entre a área (mm²) obtida por meio de imagem digital e real (paquímetro), aos três (A), quatro (B), cinco (C) e seis dias (D), após a inoculação de *M. fructicola* em nectarina 'Aurojima'. DAI: dias após a inoculação.

Percebe-se que as correlações das áreas apresentaram alta relação entre as medições da imagem e paquímetro, pois os valores do coeficiente de determinação se aproximam de um. Observa-se também um aumento da severidade ao longo dos dias, o que é compatível com o desenvolvimento da doença. Aos seis dias após a inoculação, os frutos estavam, em geral, completamente tomados pelo fungo. A rotina proposta para realização das avaliações foi eficiente já que por meio dela obteve-se dados significativos de correlação, embora alguns ajustes nos códigos devam ser realizados para garantir maior rapidez ao processo de avaliação.

A partir das médias dos resultados obtidos a cada dia de avaliação foi determinada a evolução da área da lesão ao longo dos dias (Figura 5). Os dados apresentados indicam que houve semelhança na evolução da doença, observados tanto pelo método do paquímetro quanto da imagem. Esses dados reforçam a eficiência do uso de imagens digitais para obter resultados de crescimento da doença.

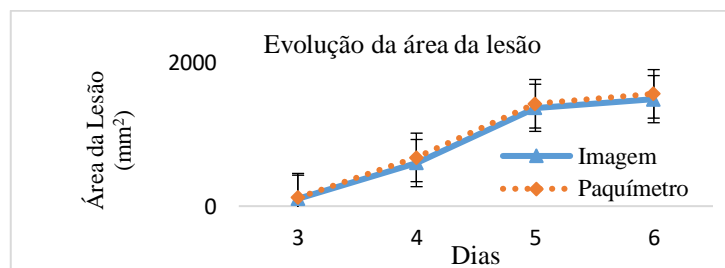


Figura 5. Evolução da área da lesão de *M. fructicola* ao longo de quatro dias de avaliação. Os pontos representam a média dos valores das áreas de 15 frutos de nectarina 'Aurojima' obtidos por meio do paquímetro e imagem digital.

CONCLUSÕES



XL CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA

Instituto Agrônômico - Campinas, SP

7 a 9 de Fevereiro de 2017

A avaliação do crescimento de *Monilinia fruticola* em frutos de nectarina ‘Aurojima’ por meio de imagens digitais é possível. A rotina desenvolvida permitiu quantificar de forma precisa e eficiente a área da lesão mostrando assim que a técnica pode ser aplicada para esse fim. Porém, ainda se faz necessário maiores estudos para ajustar as rotinas para automatizar todo o processo.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP, pelo auxílio financeiro deste trabalho (Proc. n. 2013/25728-7), ao CNPQ pela bolsa de produtividade em desenvolvimento tecnológico e extensão inovadora do segundo autor e à CAPES pela bolsa de mestrado do primeiro autor.

REFERÊNCIAS

- BROSNAN, T.; SUN, D.W. Improving quality inspection of food products by computer vision - a 94 review. *Journal of Food Engineering*, v. 61, p. 3-16, 2004.
- CAMARGO, A.; SMITH, J. S. Image pattern classification for the identification of disease causing agents in plants. *Computers and Electronics in Agriculture*, v. 66, n. 2, p. 121-125, 2009.
- CASTRO, L.A.S.; FORTES, J.F.; COUTO, M.E.O. Doenças In: CASTRO, L.A.S.; FORTES, J.F.; COUTO, M.E.O. Ameixa produção. Pelotas: Embrapa Clima temperado, p. 115, 2003.
- CHEN, Y.; CHAO, K.; KIM, M. S. Machine vision technology for agricultural applications. *Computers and electronics in Agriculture*, v. 36, n. 2, p. 173-191, 2002.
- CUBERO, S. et al. Advances in machine vision applications for automatic inspection and quality evaluation of fruits and vegetables. *Food and Bioprocess Technology*, v. 4, n. 4, p. 487-504, 2011.
- FORTES, J.F. Principais Doenças. In: RASEIRA, M.C.B.; QUEZADA, A.C. Pêssego Produção. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 162, 2002.
- GRADZIEL, T. M. Changes in susceptibility to brown rot with ripening in three clingstone peach genotypes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v. 119, n. 1, p. 101-105, 1994.
- SILVA, D.C.; SANCHES, J.; LINO, A.C.L.; FABBRO, I.M.D. Uso de imagens digitais para seleção e classificação de morangos. In: 3 Congresso Institucional de Iniciação Científica - CIIC 2009, 2009, Campinas. Anais... Campinas: Embrapa Meio Ambiente, IAC, ITAL e Embrapa Informática Agropecuária, 2009. v. 1. p. 1-6.
- SOFU, M. M. et al. Design of an automatic apple sorting system using machine vision. *Computers and Electronics in Agriculture*, v. 127, p. 395-405, 2016.
- SONG, Y. et al. Automatic fruit recognition and counting from multiple images. *Biosystems Engineering*, v. 118, p. 203-215, 2014.
- SONKA, M.; HLAVAC, V; BOYLE, R. *Image Processing, Analysis and Machine Vision*. Pacific Grove: Brooks/Cole Publishing Company, 2nd ed., 1999, 770p.