

EDUARDO VICENTE DO PRADO

**USO DE CARACTERÍSTICAS ESPECTRAIS PARA DETECÇÃO
PRECOCE DA ANTRACNOSE E MUCHA-DE-FUSÁRIO EM FEIJOEIRO-
COMUM**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2015

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

P896u
2015
Prado, Eduardo Vicente do, 1970-
 Uso de características espectrais para detecção precoce da
 antracnose e murcha-de-fusário em feijoeiro-comum / Eduardo
 Vicente do Prado. – Viçosa, MG, 2015.
 xiii, 81f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Francisco de Assis de Carvalho Pinto.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Antracnose. 2. Murcha-de- fusário do feijoeiro.
3. Feijão - Doenças e pragas. 4. Análise foliar.
5. Sensoriamento remoto. 6. Redes neurais. I. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Engenharia Agrícola.
Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola. II. Título.

CDD 22. ed. 632.4

EDUARDO VICENTE DO PRADO

**USO DE CARACTERÍSTICAS ESPECTRAIS PARA DETECÇÃO
PRECOCE DA ANTRACNOSE E MURCHA-DE-FUSÁRIO EM
FEIJOEIRO-COMUM**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 21 de dezembro de 2015.

Rogério Faria Vieira

Hélio Garcia Leite

Domingos Sárvio Magalhães Valente

Evandro de Castro Melo

Francisco de Assis de Carvalho Pinto
(Orientador)

DEDICATÓRIA

Ao meu Deus vivo, pela força, amparo e orientação em minha vida.

A Fabiana, meu eterno amor e companheira, ao Dudú e Matheus, meus amados filhos.

A minha querida mãe Sebastiana, meu modelo de vida, com admiração.

A meus irmãos, José, Luís (“in memoriam”), Isaura, Marcos, Daniel e Dione.

Ao meu tio Pedro, pelo eterno bom humor e pela ajuda nos momentos difíceis.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa, ao Departamento de Engenharia Agrícola e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, que me concederam a oportunidade de realizar este curso.

Ao Professor Dr. Francisco de Assis de Carvalho Pinto, a quem devo manifestar meu mais profundo agradecimento, não só pela sua eficaz orientação, mas também pelos conselhos dados além da sua função de orientador e pelo estímulo constantemente prestado para a realização deste trabalho.

Ao Professor Dr. Daniel Marçal de Queiroz, pela compreensão, pela amizade, pelas correções e pelas valiosas sugestões apresentadas.

Ao pesquisador Dr. Trazilbo José de Paula Júnior, pela compreensão, pela amizade, pelas correções e pelas valiosas sugestões apresentadas.

Aos demais membros da banca examinadora pelas valiosas sugestões.

Aos companheiros e colegas do Departamento de Engenharia Agrícola, Anderson, Daniel, Túlio, Frederico, Graciane, Flora, Eduardo, Lucas, Christian, Humberto, Edson, Remo, Marconi, pela amizade.

Aos funcionários do Departamento de Engenharia Agrícola, Zé Mauro, Galinare e Evaristo, pelo carinho e pela disponibilidade constantes.

Especial agradecimento a José Mauro Torres, Alcione Monteiro Torres, Jonas e Carolina.

E a todos aquele que, de uma forma ou de outra, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	ix
ABSTRACT	xii
INTRODUÇÃO	1
BIBLIOGRAFIA	5

CAPÍTULO 1

Uso de informações espectrais foliares do feijoeiro-comum na detecção precoce da antracnose

RESUMO	7
ABSTRACT	7
1. INTRODUÇÃO.....	8
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	9
2.1. Inoculação com <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	10
2.2. Medição das respostas espectrais das folhas do feijoeiro.....	11
2.3. Desenvolvimento do classificador.....	11
2.3.1. Treinamento e arquitetura da RNA.....	13
2.4. Detecção precoce da antracnose	14
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
3.1. Desenvolvimento da doença	14
3.2. Teste entre os vetores de média das classes.....	14
3.3. Análise por componentes principais	15
3.4. Classificador por redes neurais artificiais	15

3.5. Detecção precoce da antracnose	17
4. CONCLUSÕES	20
5. AGRADECIMENTOS	20
6. BIBLIOGRAFIA	20

CAPÍTULO 2

Detecção precoce da antracnose em feijoeiro-comum utilizando índices de vegetação e informações espectrais foliares

RESUMO	23
ABSTRACT	23
1. INTRODUÇÃO.....	24
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
2.1. Inoculação com <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	26
2.2. Medição das respostas espectrais das folhas do feijoeiro.....	27
2.3. Desenvolvimento do classificador.....	28
2.3.1. Índices de vegetação	29
2.3.2. Arquitetura das RNAs	29
2.3.3. Treinamento, validação e testes das RNAs	30
2.4. Detecção precoce da antracnose	31
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
3.1. Desenvolvimento da doença	31
3.2. Teste entre os vetores de média das classes.....	32
3.3. Análise por componentes principais	32
3.4. Classificação visual da antracnose.....	32

3.5. Classificador por redes neurais artificiais	33
3.6. Detecção precoce da antracnose	38
4. CONCLUSÕES	39
5. AGRADECIMENTOS	39
6. BIBLIOGRAFIA	40

CAPÍTULO 3

Uso de informações espectrais foliares na detecção precoce da murcha-de-fusário em feijoeiro-comum

RESUMO	43
ABSTRACT	44
1. INTRODUÇÃO.....	44
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	45
2.1. Inoculação com <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i>	46
2.2. Medição das respostas espectrais das folhas do feijoeiro.....	47
2.3. Desenvolvimento do classificador.....	48
2.3.1. Índices de vegetação	49
2.3.2. Treinamento e arquitetura das redes neurais	50
2.4. Detecção precoce do fusário.....	51
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
3.1. Desenvolvimento da doença	51
3.2. Teste entre os vetores de média das classes.....	53
3.3. Análise por componentes principais	53
3.4. Classificador por redes neurais artificiais	54

3.5. Detecção precoce da murcha-de-fusário	56
4. CONCLUSÕES	58
5. AGRADECIMENTOS	59
6. BIBLIOGRAFIA	59

CAPÍTULO 4

Comportamento espectral foliar do feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) infectado por antracnose ou murcha-de-fusário

RESUMO	62
ABSTRACT	62
1. INTRODUÇÃO.....	63
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	65
2.1. Inoculação com <i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	65
2.2. Inoculação com <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>phaseoli</i>	66
2.3. Medição das respostas espectrais das folhas do feijoeiro.....	66
2.4. Seleção de intervalos de comprimentos de ondas baseada em análise de componentes principais.....	67
2.5. Índices de vegetação.....	67
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
3.1. Desenvolvimento das doenças	68
3.2. Determinação dos intervalos de comprimento de onda relevantes para a discriminação da antracnose e murcha-de-fusário	71
3.3. Índices de vegetação	73

4. CONCLUSÕES	77
5. AGRADECIMENTOS	77
6. BIBLIOGRAFIA	78
CONCLUSÕES FINAIS	81

RESUMO

PRADO, Eduardo Vicente do, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2015. **Uso de características espectrais para detecção precoce da antracnose e murcha-de-fusário em feijoeiro-comum.** Orientador: Francisco de Assis de Carvalho Pinto. Coorientadores: Trazilbo José de Paula Júnior e Daniel Marçal de Queiroz.

O presente trabalho pretende testar a hipótese de que é possível detectar precocemente doenças fúngicas em feijoeiro, utilizando reflectâncias foliares. Para isso, foram feitas análises diárias do comportamento espectral de folhas infectadas com os fungos *Colletotrichum lindemuthianum* ou *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, causadores da antracnose e murcha-de-fusário, respectivamente, construção de classificadores baseados em redes neurais artificiais para detecção de folhas infectadas, teste de modelos existentes (índices de vegetação) e seleção de comprimentos de onda mais representativos para a detecção das folhas infectadas e nível de conídios por mililitros, utilizando análise por componentes principais. Foram implantados dois experimentos em casa de vegetação. Os dois experimentos (um de antracnose e um de murcha-de-fusário) foram instalados em casa de vegetação, em Viçosa, Minas Gerais. As cultivares de feijão foram Rudá (carioca), RBS Supremo (preto) e Vermelhinho (vermelho). Nestes experimentos, as concentrações de conídios/mL foram: para a antracnose [zero (controle), $1,2 \times 10^4$ (baixa), $1,2 \times 10^5$ (média) e $1,2 \times 10^6$ (alta) conídios/mL]; e para a murcha-de-fusário [zero (controle), $1,0 \times 10^4$ (baixa), $1,0 \times 10^5$ (média) e $1,0 \times 10^6$ (alta) conídios/mL]. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC), com seis repetições para cada doença. Cada experimento foi repetido duas vezes. Medidas de reflectância hiperespectral foram obtidas por espectrorradiômetro com resolução de 1nm. A faixa útil de leitura utilizada foi entre 400 e 900 nm. Para as medidas das reflectâncias foliares utilizou-se uma sonda de contato, que possui uma lâmpada de halogênio integrada de 100 W, que foi ligada 90 minutos antes de cada coleta de dados para sua estabilização. A calibração do espectrorradiômetro utilizando a referência do branco, com placa de Spectralon, foi feita no início de cada coleta de dados e depois a intervalos regulares de 15 minutos. O tempo de medida de cada leitura foi ajustado para 544 ms, sendo que cada coleta de reflectância, em cada folha, foi a média de 10 leituras efetuadas pelo espectrorradiômetro. As severidades da

antracnose e da murcha-de-fusário foram avaliadas, diariamente, por interpretação visual por pesquisador experimentado nesta atividade. Dos dados de reflectância foram retiradas cinco bandas espectrais: azul (440 – 510 nm), verde (520 – 590 nm), vermelho (630 – 685 nm), red edge (690 – 730 nm) e infravermelho próximo (760 – 850 nm). Análise por componentes principais foi aplicada aos dados dessas cinco bandas para uma redução da dimensão dos dados originais, com o primeiro componente principal de cada banda espectral foram gerados os valores dos escores, que serviram como vetores de entrada da rede neural artificial. A acurácia da classificação foi feita pelo índice Kappa. A discriminação das folhas infectadas e sadias obteve índice Kappa de 0,36 a 0,53 e exatidão global de 81,3% a 85,4%, um dia após a inoculação do fungo *C. lindemuthianum* e três dias antes dos primeiros sintomas da doença tornarem-se visíveis. Medidas de reflectâncias e índices de vegetação provenientes de reflectâncias hiper e multiespectrais foliares foram utilizados nos dois experimentos. Os índices de vegetação utilizados foram NDVI, DVI, GNDVI, MCARI, RDVI e TCARI. O classificador mais eficiente utilizou o índice DVI multiespectral como variável de entrada e dois neurônios na camada escondida. Esse classificador obteve coeficiente Kappa de 0,32 e exatidão global de 79,3%. O classificador detectou a antracnose três dias antes que os primeiros sintomas característicos se tornassem visíveis. Os resultados indicaram que o uso de dados hiperespectrais não apresentou melhora significativa na classificação, quando comparado com dados multiespectrais. O classificador não detectou folhas infectadas com o fungo *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* precocemente. O classificador se mostrou eficiente na discriminação, depois que os primeiros sintomas se tornaram visíveis. O classificador obteve coeficiente Kappa de 0,21 na classificação um dia após o surgimento dos primeiros sintomas característicos da doença. Os resultados nos dois experimentos indicaram que as mudanças nas respostas espectrais, relacionados com cada doença, são dependentes do comprimento de onda. O método de seleção de variáveis baseado em análise por componentes principais e os índices de vegetação com base em medidas hiperespectrais apresentaram melhor desempenho. A região espectral do red edge apresentou os comprimentos de onda que melhor discriminaram folhas infectadas para ambas as doenças. Os resultados das combinações dos índices DVI com GNDVI, MCARI ou TCARI

mostraram maior sensibilidade na detecção de folhas infectadas e níveis de severidade para as duas doenças.

ABSTRACT

PRADO, Eduardo Vicente do, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2015. **Use of spectral characteristics for early detection of anthracnose and fusarium wilt in common beans.** Adviser: Francisco de Assis de Carvalho Pinto. Co-advisers: Trazilbo José de Paula Júnior and Daniel Marçal de Queiroz.

This paper aims to test the hypothesis that it is possible to detect early fungal diseases in bean plants using leaf reflectance. We made daily analysis of the spectral behavior of the leaves infected with *Colletotrichum lindemuthianum* or fungi *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, causing anthracnose and fusarium wilt, respectively, construction of a classifier based on artificial neural networks for the detection of infected leaves, test existing models (Vegetation Index) and selecting the most representative wavelengths for the detection of infected leaves and severity level using principal component analysis. Two experiments were implanted in a greenhouse. The two experiments (one of anthracnose and a wilt fusarium) were installed in a greenhouse, located on the premises of the Agricultural Research Corporation of Minas Gerais - EPAMIG, Regional Unit Epamig Zona da Mata (UREZM) and on the premises of the Federal University of Viçosa (UFV), in Viçosa, Minas Gerais. The bean cultivars used in both experiments were Rudá (carioca trade group), RBS Supremo (black trade group) and Vermelhinho (red trade group). In these experiments, th three concentrations of conidia/mL were to anthracnose [zero (control), 1.2×10^4 (low), 1.2×10^5 (medium) and 1.2×10^6 (high) conidia/mL]; and for Fusarium wilt [zero (control), 1.0×10^4 (low), 1.0×10^5 (medium) and 1.0×10^6 (high) conidia / mL]. The experimental design was completely randomized (DIC), with four treatments and six repetitions for each disease. Each experiment was repeated twice. Hyperspectral reflectance measurements were obtained by spectroradiometer with a resolution of 1 nm. Useful range of used reading was between 400 and 900 nm. For reflectance measurements of leaf used a contact probe, which features an integrated halogen lamp of 100 W, which was connected 90 minutes before each data collection for stabilization. The calibration of the spectroradiometer using the white reference plate with Spectralon, was taken at the beginning of each data collection and later at regular intervals of 15 minutes. The measuring time for each reading was set to 544 ms, and each collection reflectance in each leaf was the average of 10 readings performed by the spectroradiometer. The severities of

anthracnose and fusarium wilt were evaluated, daily, for visual interpretation by researcher experienced in this activity. From the reflectance data were taken five spectral bands: blue (440 - 510 nm), green (520 - 590 nm), red (630 - 685 nm), red edge (690 - 730 nm) and near infrared (760 - 850 nm). Principal component analysis was applied to the data of these five bands for a reduction in the size of the original data, with the first principal component of each spectral band were generated the score values, which served as input vectors of artificial neural network. The classification accuracy was taken by Kappa index. The discrimination of infected and healthy leaves obtained Kappa index 0.36 to 0.53 and overall accuracy of 81.3% to 85.4%, a day after the inoculation of the fungus *C. lindemuthianum* and three days before the first symptoms of disease become visible. Reflectance measurements and vegetation indices from hyper and multispectral reflectance leaf were used in both experiments. Vegetation indices used were NDVI, DVI, GNDVI, MCARI, RDVI and TCARI. The most efficient classifier used the DVI multispectral index as input variable and two neurons in the hidden layer. This classifier obtained Kappa coefficient of 0.32 and overall accuracy of 79.3%. The classifier detected anthracnose three days before the first characteristic symptoms become visible, for the three cultivars. The results indicated that the use of hyperspectral data showed no significant improvement in ranking when compared with multispectral data. The classifier does not detect the leave infected with the fungus *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* early. The classifier was efficient in discrimination after the first symptoms become visible. The classifier obtained Kappa coefficient value of 0.21 in the classification one day after the appearance of the first symptoms characteristic of the disease. The results of the two experiments indicated that the changes in spectral responses, associated with each disease, are dependent on the wavelength. The variable selection method based on principal component analysis and vegetation indices based on hyperspectral measurements showed better performance. The spectral region of red edge presented wavelengths that best discriminated infected leaves of both diseases. The results of the combinations of the indices DVI with DVI, MARI or TCARI showed greater sensitivity in detecting infected leaves and severity levels for the two diseases.

INTRODUÇÃO

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é um ingrediente básico na alimentação da população brasileira por ser uma fonte de proteína vegetal e importante fator na dieta diária, sendo o consumo *per capita* em torno de 17 kg hab⁻¹ ano⁻¹ (GARCIA et al., 2007). Cultivado praticamente em todo o Brasil, em diferentes épocas e com diversos sistemas de plantio e manejo, a cultura do feijão está exposta a uma série de fatores capazes de ocasionar perdas na produção e a ocorrência de doenças é um desses fatores. Dentre elas, encontram-se as doenças fúngicas foliares e radiculares, quase sempre levam à baixa produtividade da cultura, citando entre as mais importantes a antracnose e a murcha-de-fusário. A cada safra, a produtividade é reduzida, mesmo com o uso intensivo de defensivos agrícolas. (PEREIRA et al., 2011).

De acordo com Santini et al. (2005), a antracnose é considerada uma das principais doenças fúngicas do feijoeiro-comum em todo o mundo, podendo causar perdas de até 100%, quando as plantas são afetadas nos primeiros estádios de desenvolvimento. A antracnose é causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et. Magn.), e uma das dificuldades do controle é a existência de grande número de raças do patógeno (BERALDO et al., 2009). Segundo Paula Júnior et al. (2006), a antracnose ocorre com frequência em regiões com umidade alta e temperaturas amenas entre 15 a 22 °C. A antracnose manifesta-se em todas as partes aéreas do feijoeiro. Nas folhas, os sintomas mais característicos surgem na face inferior, como escurecimento ao longo das nervuras.

Outra doença que contribui para a redução da produtividade do feijoeiro é a murcha-de-fusário, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. As dificuldades na adoção de medidas eficientes de controle têm feito dessa doença uma das mais prejudiciais à cultura do feijoeiro nas áreas irrigadas (PAULA JÚNIOR et al., 2006). Esta moléstia pode afetar desde algumas plantas até 80% da lavoura (EMBRAPA, 2008). A murcha-de-fusário é detectada, inicialmente, em reboleiras, mas, depois de alguns anos, dissemina-se por toda a área plantada (PAULA JÚNIOR et al., 2006; EMBRAPA, 2008). A detecção dessa doença em estágios iniciais de infecção é de grande importância para impedir o seu avanço. A medida mais eficiente para controlar essa doença é através da utilização de

cultivares resistentes e utilização de sementes tratadas com fungicidas (PAULA JÚNIOR et al., 2006; EMBRAPA, 2008; PEREIRA et al., 2011).

Devido ao alto custo e ao impacto ambiental dos fungicidas, sua aplicação somente nas áreas infestadas com a doença, utilizando técnicas de agricultura de precisão, é de fundamental interesse (BRAVO et al., 2003; MAHLEIN et al., 2010; RUMPF et al., 2010; MAHLEIN et al., 2012a). Portanto, uma metodologia que utiliza dados radiométricos pode ser uma alternativa no sentido de se estabelecer métodos rápidos e de baixo custo que viabilizem a identificação de áreas afetadas por doenças. Esses métodos permitiriam a aplicação de fungicidas a taxas variadas nos locais e períodos adequados. Dentre as grandezas radiométricas, a reflectância se destaca, pela possibilidade de detecção de uma doença utilizando técnicas de sensoriamento remoto que se baseiam na medição da energia eletromagnética refletida pela cultura. A detecção de doenças por meio de medidas das respostas espectrais do dossel ou das folhas de uma cultura e o mapeamento das ocorrências destas moléstias pode auxiliar de técnicas de controle localizado (HILLNHÜTTER e MAHLEIN, 2008; HILLNHÜTTER et al., 2012). Pragas e doenças influenciam a reflectância do dossel da cultura. Vários estudos têm sido conduzidos com sucesso na detecção de estresses causados por nematoides e fungos por meio da reflectância espectral dos dosséis das plantas utilizando sensores multiespectrais ou hiperespectrais (NGUYEN et al. 2006; MAHLEIN et al., 2012a; HILLNHÜTTER et al., 2012). Os sensores utilizados para aquisição de dados em nível terrestre apresentam vantagens como: a obtenção instantânea da informação, a não necessidade de processamento de imagem, permite repetidas observações, aumento na velocidade de aquisição de dados e redução do esforço de trabalho (SILVA et al., 2009). Sensores que medem as respostas espectrais das plantas têm sido ferramentas úteis para detectar mudanças no vigor das plantas (RUMPF et al., 2010; BAURIEGEL et al., 2011; MAHLEIN et al., 2012a).

Diversas pesquisas utilizando sensoriamento remoto em nível terrestre têm sido feitas em algumas culturas para a identificar doenças em estágio inicial de infecção. Rumpf et al. (2010) utilizaram a relação entre doenças e propriedades de reflectância para detectar e classificar, em estádios iniciais de infecção, três doenças fúngicas no cultivo da beterraba. Mahlein et al. (2012b) utilizaram a relação entre diferentes doenças, propriedades de reflectância e índices de vegetação em cultivos de beterraba, com detalhamento do avanço das doenças observadas em nível de

estrutura celular da folha. No entanto, pesquisas recentes não foram feitas visando à detecção e quantificação de doenças em estádios iniciais de infecção em feijoeiro utilizando sensores remotos. Medidas das respostas espectrais são usadas para análises não destrutivas do status fisiológico da vegetação (BLACKBURN, 2007; MAHLEIN et al., 2010; MAHLEIN et al., 2012b). Moshou et al. (2004) utilizaram uma rede neural artificial (RNA) auto organizáveis (do inglês *Self Organized Maps* - SOM) para detectar, em folhas de trigo, a ferrugem amarela, alcançando mais de 99% de acurácia na classificação utilizando respostas espectrais. Huang (2004) desenvolveu uma RNA, utilizando algoritmo de retropropagação, para detectar e classificar três doenças em plantas de orquídeas, a acurácia foi de 97%, utilizando dados de reflectância. Liu et al. (2010) analisaram a capacidade de uma RNA em combinação com análise por componentes principais (ACP) em detectar e discriminar níveis de infecção causado pelos fungos *Phyllosticta glumarum* (queima das glumelas) e *Ustilaginoidea virens* (ferrugem verde do arroz), em panículas de arroz, com níveis de precisão de 86% a 100%, utilizando respostas espectrais.

Logo, os avanços em estudos envolvendo medições espectrométricas permitem análises de modificações em pequenas escalas nas assinaturas espectrais, que são ideais para detectar os estádios pré-sintomáticos de infecção das doenças (MAHLEIN et al, 2012b). Dessa forma, estudos que permitam a detecção e quantificação de doenças em estádios iniciais de infecção em feijoeiro e que possibilitem a aquisição de informações precisas sobre seus efeitos específicos nas características espectrais da planta surgem como uma área promissora para o desenvolvimento de pesquisas. O uso de sistemas de detecção automática de doenças no feijoeiro poderá favorecer o desenvolvimento de plataformas para máquinas agrícolas ou, até mesmo ser utilizadas plataformas existentes de sensoriamento remoto para detecção dessas doenças em estágio inicial, visando o controle localizado e a implementação de estratégias de manejo integrado, minimizando danos ao meio ambiente causados pelos fungicidas, reduzindo custos e possibilitando o aumento da produtividade e lucratividade.

O presente trabalho testou a hipótese de que é possível detectar precocemente folhas de feijoeiro-comum infectadas com *C. lindemuthianum* ou *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, respectivamente causadores da antracnose e da murcha-de-fusário, em feijoeiro, utilizando características espectrais foliares. Para o desenvolvimento do trabalho foram medidas diariamente as reflectâncias de folhas

de feijoeiro-comum infectadas com *C. lindemuthianum* ou *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, utilizando espectrorradiômetro com sonda de contato acoplado. Foram construídos classificadores baseados em redes neurais artificiais para detecção de folhas infectadas. Foi utilizado análise por componentes principais para redução dimensional dos dados. Foram testados índices de vegetação obtidos de dados hiperespectrais e multiespectrais como variáveis de entrada da rede neural artificial. Foram selecionados faixas e comprimentos de onda mais representativos para a detecção de ambas as doenças. Uma vez comprovada esta hipótese, cria-se a expectativa de construção de sensores e de plataformas de visão artificial para uso em equipamento de mão ou em máquinas agrícolas, promovendo assim, o controle localizado em lavouras de feijão com fungicidas ou com outros tratamentos culturais.

Esta tese foi estruturada em quatro capítulos, compreendendo as doenças antracnose e murcha-de-fusário em feijoeiro-comum. A detecção precoce da antracnose foi estudada no Capítulo 1 utilizando reflectância hiperespectral foliar e classificador por redes neurais artificiais. No Capítulo 2 estudou-se a detecção precoce da antracnose utilizando reflectâncias hiper e multiespectral foliares, índices de vegetação obtidos de reflectâncias hiper e multiespectrais foliares e classificadores por redes neurais artificiais. No Capítulo 3 estudou-se a detecção precoce da murcha-de-fusário utilizando reflectâncias hiper e multiespectral foliares, índices de vegetação obtidos de reflectâncias hiper e multiespectrais foliares e classificadores por redes neurais artificiais. No Capítulo 4 estudou-se o comportamento espectral de folhas infectadas com antracnose e murcha-de-fusário utilizando reflectância hiper e multiespectral.

BIBLIOGRAFIA

BAURIEGEL, E., GIEBEL, A., GEYER, M., SCHMIDT, C., HERPPICH, W. B. Early detection of Fusarium infection in wheat using hyper-spectral imaging. **Computers and Electronics in Agriculture**. v.75, p.304-312, 2011.

BERALDO, A. L. A., COLOMBO, C. A., CHIORATO, A. F., FUMIKOITO, M., CARBONELL, S. A. M. Aplicação de marcadores scars para seleção de linhagens resistentes à antracnose em feijoeiro. **Bragantia**. v.68, n.1, p.53-61, 2009.

BLACKBURN, G. A. Hyperspectral remote sensing of plant pigment. **Journal of Experimental Botany**. v.58, p.844-867, 2007.

BRAVO, C., MOSHOU, D., WEST, J., MCCARTNEY, A., RAMON, H. Early disease detection in wheat fields using spectral reflectance. **Biosystems Engineering**. v.84, n.2, p.137-145, 2003.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Plantas de cobertura para controle da murcha de fusarium em feijoeiro comum no sistema de plantio direto. **Circular Técnica 83**. Santo Antônio de Goiás, 4p, 2008.

GARCIA, A., SOUZA, P. E., POZZA, E. A., SANTOS, F. S. Influência das variáveis ambientais no progresso da antracnose do feijoeiro e eficiência de tiofanato metílico + clorotalonil no controle da doença. **Ciênc. Agrotec.** Lavras, v. 31, n.6, p.1709-1715, 2007.

HILLNHÜTTER, C., MAHLEIN, A. K. Early detection and localization of sugar beet diseases: New approaches. **Gesunde Pflanzen**. v.60, p.143-149, 2008.

HILLNHÜTTER, C., MAHLEIN, A. K., SIKORA, R. A., OERKE, E. C. Use of imaging spectroscopy to discriminate symptoms caused by *Heterodera schachtii* and *Rhizoctonia solani* on sugar beet. **Precision Agric.** v.13, p.17-32, 2012.

HUANG, K. Y. Application of artificial neural network for detecting *Phalaenopsis* seedling diseases using color and texture features. **Computers and Electronics in Agriculture**. v.57, p.3-11, 2004.

LIU, Z. Y.; WU, H. F.; HUANG, J. F. Application of neural networks to discriminate fungal infection level in rice panicles using hyperspectral reflectance and principal components analysis. **Computers and Electronics in Agriculture**. v.72, p.99-106, 2010.

MAHLEIN, A. K., OERKE, E. C., STEINER, U., DEHNE, H. W. Recent advances in sensing plant diseases for precision crop protection. **Eur J Plant Pathology**. v.133, p.197-209, 2012a.

MAHLEIN, A. K., STEINER, U., DEHNE, H. W., OERKE, E. C. Spectral signatures of sugar beet leaves for the detection and differentiation of diseases. **Precision Agric.** v.11, p.413-431, 2010.

MAHLEIN, A. K., STEINER, U., HILLNHÜTTER, C., DEHNE, H. W., OERKE, E. C. Hyperspectral imaging for small-scale analysis of symptoms caused by different sugar beet diseases. **Plant Methods.** v.8, n.3, p.1-13, 2012b.

MOSHOU, D.; BRAVO, C.; WEST, J.; WAHLEN, S.; McCARTNEY, A.; RAMON, H. Automatic detection of yellow rust in wheat using reflectance measurements and neural networks. **Computers and Electronics in Agriculture.** v.44, p.173-188, 2004.

NGUYEN, H. T., KIM, J. H., NGUYEN, A. T., NGUYEN, L. T., SHIN, J. C., LEE, B. W. Using canopy reflectance and partial least squares regression to calculate within-field statistical variation in crop growth and nitrogen status of rice. **Precision Agric.** v.7, p.249-264, 2006.

PAULA JÚNIOR, T. J.; LOBO JÚNIOR, M.; SARTORATO, A.; VIEIRA, R. F.; CARNEIRO, J. E. S.; ZAMBOLIM, L. **Manejo integrado de doenças do feijoeiro em áreas irrigadas.** Guia Técnico. EPAMIG, Viçosa.48p, 2006.

PEREIRA, M. J. Z.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Reação de linhagens de feijoeiro ao fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em condições controladas. **Ciênc. Agrotec.,** Lavras, v.35, n.5, p.940-947, 2011.

RUMPF, T., MAHLEIN, A. K., STEINER, U., OERKE, E. C., DEHNE, H. W., PLÜMER, L. Early detection and classification of plant diseases with support vector machines based on hyperspectral reflectance. **Computers and Electronics in Agriculture.** v.74, p.91-99, 2010.

SANTINI, A., FUMIKOITO, M., CASTRO, J. L., AKIRAITO, M., GOTO, J. C. Ação fungicida do acaricida azocyclotin sobre a antracnose do feijoeiro comum. **Bragantia.** Campinas, v.64, n.2, p.241-248, 2005.

SILVA, A. J., CANTERI, M. G., SANTIAGO, D. C., HIKISHIMA, M., SILVA, A. L. A reflectância na estimativa do efeito de fungicidas no controle da ferrugem asiática da soja. **Summa Phytopathologica,** v.35, n.1, p.53-56, 2009.

CAPÍTULO 1

Uso de informações espectrais foliares do feijoeiro-comum na detecção precoce da antracnose

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um classificador utilizando redes neurais artificiais, análise por componentes principais e dados de reflectância para a detecção da antracnose, antes que os primeiros sintomas da doença se tornassem visíveis, em feijoeiro. Dados de reflectância foram coletados diariamente de folhas de feijoeiro sadias e infectadas com o fungo *Colletrichum lindemuthianum*. Dos dados de reflectância foram selecionadas cinco bandas: azul, verde, vermelha, red edge e infravermelho próximo. A análise por componentes principais foi aplicada aos dados dessas cinco bandas para uma redução da dimensão dos dados originais, que serviram como vetores de entrada da rede neural artificial. A discriminação das folhas obteve exatidão global de 81,3% a 85,4%, e índice Kappa variou de 36% a 53%, para um dia após a inoculação do fungo até três dias antes dos primeiros sintomas da doença tornarem-se visíveis.

Palavras-chaves: Sensoriamento remoto, reflectância, *Colletrichum lindemuthianum*, antracnose, redes neurais, feijão.

ABSTRACT

The objective of this work was to develop a classifier using artificial neural networks, principal components analysis and reflectance data for the detection of anthracnose, before the first symptoms of the disease become visible, in bean plants. Reflectance data were collected daily from healthy and infected leaves by fungus *Colletrichum lindemuthianum*. From the reflectance data, five bands were selected: blue, green, red, red edge and near infrared. Principal component analysis was applied to the data of these five bands for dimensional reduction of the original data, which served as input vectors of the artificial neural networks. The discrimination of the leaves obtained overall accuracy from 81.3% to 85.4%, and Kappa coefficient changed from 36% to 53% for one day after fungus inoculation to three days before the first symptoms of the disease become visible.

Key-words: Remote sensing, reflectance, *Colletrichum lindemuthianum*, neural network, common bean.

1. INTRODUÇÃO

A antracnose, causada pelo fungo *Colletrichum lindemuthianum* é uma das doenças mais destrutivas da parte aérea do feijoeiro, responsável por significativos danos à cultura no Brasil. A doença afeta genótipos suscetíveis cultivados em locais com temperatura que variam de moderadas a frias e elevada umidade relativa (LIMA et al., 2010). Pode causar perdas de até 100% quando as condições climáticas são favoráveis e as plantas são infectadas em seus primeiros estádios de desenvolvimento (LIMA et al., 2010; SHARMA et al., 2012).

Uma das principais medidas de controle da doença é a aplicação de fungicidas (LIMA et al., 2010). Assim, a detecção da antracnose nas fases iniciais de infecção do fungo nos tecidos da planta é primordial para seu controle, além disso, possibilita redução da dose de fungicidas de ação curativa aplicados, com a consequente redução dos impactos ambientais e dos custos. A detecção precoce da antracnose, antes que seus primeiros sintomas se tornem visíveis, pode também contribuir para a adoção de estratégias que impeçam o avanço da doença no campo. Além disso, pode viabilizar a aplicação de fungicidas a taxas variadas em locais e períodos adequados.

Os primeiros sintomas da antracnose são, geralmente, escurecimentos das nervuras na face inferior das folhas evoluindo para cancrs e necroses nas áreas adjacentes às nervuras, em razão, principalmente, da degradação da clorofila pelo patógeno. Essa degradação da clorofila e de outras organelas nas folhas do feijoeiro causam mudanças nas suas propriedades espectrais. Vários estudos têm sido conduzidos com sucesso na detecção de estresses em plantas causados por fungos por meio da reflectância espectral dos dosséis das plantas utilizando sensores multi ou hiperespectrais (MAHLEIN et al., 2012a; HILLNHÜTTER et al., 2012).

A detecção de doenças e o mapeamento de sua ocorrência por meio de medidas espectrais do dossel ou das folhas de uma cultura podem auxiliar na geração de zonas de manejo para a realização de técnicas localizadas de controle (HILLNHÜTTER e MAHLEIN, 2008; HILLNHÜTTER et al., 2012). Informações espectrais são usadas para análises não destrutivas do status fisiológico da vegetação

(BLACKBURN, 2007; MAHLEIN et al., 2010; MAHLEIN et al., 2012b). Mudanças na resposta espectral resultam de modificações nas características biofísicas e bioquímicas do tecido vegetal (MAHLEIN et al., 2012a).

Medidas espectrais apresentam centenas de valores de reflectâncias em diferentes comprimentos de onda, técnicas de análise com base em estatística multivariada permite reduzir o número de comprimentos necessários para detectar um determinado estresse a que as plantas estão submetidas, sem perda significativa de informação e sem comprometer a caracterização espectral do alvo (SONG et al., 2011; MACHADO et al., 2015). Há várias técnicas da estatística multivariada para redução de variáveis. No entanto, a estimativa do número de amostras em função do número de variáveis é uma tarefa difícil (SIDDIQUI, 2013). Há autores que sugerem que o número de amostras seja de, no mínimo, 20 vezes o número de variáveis (HAIR et al., 2010; SIDDIQUI, 2013).

Vários métodos estatísticos têm sido usados com dados de sensoriamento remoto para detecção de estresses em plantas. Entre eles, destaca-se a análise por componentes principais (ACP) (LIU et al., 2010a; LIU et al., 2010b). Bauriegel et al. (2011) utilizaram ACP para redução da quantidade de variáveis originais e determinar quatro intervalos de comprimentos de onda do espectro eletromagnético: 500 – 533 nm, 560 – 675 nm, 682 – 733 nm e 927 – 931 nm, o que permitiu discriminar plantas de trigo sadias das infectadas por *Fusarium* spp., antes que os primeiros sintomas se tornassem visíveis, com exatidão de 91% na detecção de plantas infectadas.

Estudos que permitam a detecção e quantificação de doenças em estádios iniciais de infecção em feijoeiro e que possibilitem a aquisição de informações precisas sobre seus efeitos específicos nas características espectrais da planta aparecem como uma área promissora para o desenvolvimento de pesquisas.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um classificador utilizando Redes Neurais Artificiais (RNA) para detecção precoce da antracnose em três cultivares de feijoeiro-comum.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, nos meses de outubro a dezembro de 2013, com temperatura de 24 ± 1 °C e umidade relativa do ar

de $80 \pm 5\%$, na cidade de Viçosa, latitude $20^{\circ} 45' 14''$ Sul e longitude $42^{\circ} 52' 55''$ Oeste, no estado de Minas Gerais. Para a coleta das respostas espectrais das folhas do feijoeiro, foram conduzidos experimentos utilizando três cultivares de feijão representantes de três grupos comerciais: carioca (Rudá), preto (RBS Supremo) e vermelho (Vermelhinho), dada a importância econômica de cada grupo e a diferença quanto a suscetibilidade à antracnose. Em cada vaso, duas plantas foram cultivadas, em 0,415 L de substrato (Tropstrato HT[®], Vida Verde, Mogi Mirim, SP, Brasil).

Foi realizado um experimento para cada cultivar. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC), com quatro concentrações de conídios/mL [zero (controle), $1,2 \times 10^4$ (baixa), $1,2 \times 10^5$ (média) e $1,2 \times 10^6$ (alta) conídios/mL], com seis repetições. O experimento foi repetido nos meses de janeiro a março de 2014.

2.1. Inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*

O inóculo de *C. lindemuthianum*, de raça 65, obtido no Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO/UFV), foi multiplicado em tubos de ensaio contendo vagens esterilizadas e parcialmente imersas em meio ágar-ágar. Os tubos foram mantidos por aproximadamente dez dias a 24 ± 1 °C, para a produção dos conídios. Em casa de vegetação foram semeadas 30 sementes de cada cultivar de feijoeiro em bandejas de isopor (68 x 35 cm) com 128 células. Seis dias após o plantio foi feito o transplante dos feijoeiros para os vasos plásticos. A inoculação foi realizada três dias após o transplante das mudas para os vasos, atomizando-se a suspensão de conídios em ambas as superfícies das folhas primárias, com o auxílio de um atomizador manual.

A avaliação dos sintomas foi realizada diariamente após a inoculação, com base na escala descrita por Pastor-Corrales (1992), em que: 1 = ausência de sintomas; 2 = até 1% das nervuras com manchas necróticas, perceptíveis somente na face abaxial da folha; 3 = maior frequência dos sintomas foliares descritos no grau anterior, até 3% das nervuras afetadas; 4 = até 1% das nervuras com manchas necróticas, perceptíveis em ambas as faces das folhas; 5 = maior frequência dos sintomas foliares descritos no grau anterior, até 3% das nervuras afetadas; 6 = manchas necróticas nas nervuras, perceptíveis em ambas as faces das folhas, presença de algumas lesões no caule, ramos e pecíolos; 7 = manchas necróticas na

maioria das nervuras e em grande parte do tecido do mesófilo adjacente que se rompe; presença de abundantes lesões no caule, ramos e pecíolos; 8 = manchas necróticas na quase totalidade das nervuras, ocasionando ruptura, desfolhamento e redução do crescimento das plantas; lesões abundantes no caule, ramos e pecíolos; e 9 = maioria das plantas mortas.

2.2. Medição das respostas espectrais das folhas do feijoeiro

Em cada vaso, após a inoculação, foram escolhidas quatro folhas completamente desenvolvidas para a realização das medidas diárias de reflectância espectral até a queda total das folhas, sempre entre 10:00 e 14:00 h. Durante a condução dos experimentos foram realizadas 2.342 medidas de reflectância: 555 de plantas sadias e 1.787 de plantas infectadas.

A reflectância espectral foliar foi medida com o espectrorradiômetro ASD FieldSpec Pro FR (Analytic Spectral Devices, Boulder, EUA), com a sonda “plant probe” para medidas de contato com a folha. Essa sonda possui uma lâmpada de halogênio integrada de 100 W, que foi ligada 90 minutos antes de cada coleta de dados para sua estabilização. O espectrorradiômetro possui faixa espectral entre 350-1100 nm e a faixa útil de leitura foi entre os valores 400 e 900 nm, descartando os dados espectrais ruidosos nos extremos. A calibração do espectrorradiômetro, utilizando a referência do branco, com placa de Spectralon (Labsphere, North Sutton, EUA), foi feita no início de cada coleta de dados e depois a intervalos de 15 minutos. O tempo de medida de cada leitura foi ajustado para 544 ms. Cada coleta de reflectância, em cada folha, foi a média de 10 leituras efetuadas pelo espectrorradiômetro.

2.3. Desenvolvimento do classificador

Os dados originais continham 751 variáveis (751 comprimentos de onda) e 2.342 repetições, ou seja, um número elevado de variáveis em relação ao número de repetições. Há autores que recomendam que o número de repetições seja, no mínimo, 20 vezes o de variável mensurada (HAIR et al., 2010; SIDDIQUI, 2013).

Para redução do número de variáveis, o conjunto de dados originais foi dividido em cinco bandas espectrais, de acordo com as bandas espectrais dos satélites do sistema RapidEye (Tabela 1).

Tabela 1. Bandas espectrais com os respectivos intervalos de comprimentos de onda e número de comprimentos de ondas determinados experimentalmente

Bandas Espectrais	Intervalo de comprimento de ondas (nm)	Número de comprimentos de onda
Azul	440 – 510	70
Verde	520 – 590	70
Vermelho	630 – 685	55
Red edge	690 – 730	40
Infravermelho próximo	760 – 850	90

A utilização destas cinco bandas espectrais foi devido à relação direta que cada banda tem com partes constituintes das folhas. No espectro visível (380-760 nm), a mudança na resposta espectral da folha é devido à variação no conteúdo de organelas, como carotenoides e clorofila. No infravermelho próximo (760–1.200 nm), as variações nas respostas espectrais são devido a variações na estrutura física da folha (BAURIEGEL et al., 2011).

Como em uma mesma banda espectral é esperada uma forte correlação entre as variáveis, a aplicação da ACP em cada banda reduz a dimensionalidade dos dados. A ACP gera novas variáveis, não correlacionadas, chamadas componentes principais. Espera-se que a maior parte da variância dos dados originais seja retida em poucos componentes principais. Com esses componentes principais calcularam-se os escores de cada amostra de conjunto de dados de cada banda. Esses valores de escores foram as características utilizadas como vetores de entrada da rede neural artificial (RNA).

A partir dos vetores de características das folhas sadias e infectadas, foi realizado o teste de médias T^2 de Hotelling, para verificar se houve diferença significativa entre as classes de interesse, ao nível de 0,05. Foi feita a análise de variância multivariada (Manova) para verificar se houve diferença significativa entre os tratamentos, utilizando o critério de Wilks (JOHNSON e WICHERN, 2007).

Antes de efetuar a análise por componentes principais, todos os dados foram centrados na média. Assim, cada variável passa a ter média zero, ou seja, as coordenadas são movidas para o centro dos dados, permitindo que diferenças nas

intensidades relativas das variáveis sejam mais fáceis de perceber (SOUZA e POPPI, 2012).

2.3.1. Treinamento e arquitetura da RNA

Neste trabalho foi treinada uma RNA do tipo *Multi Layer Perceptron* (MLP) para classificação de folhas de feijoeiro utilizando dados de reflectância. A RNA foi treinada utilizando o pacote de ferramentas de RNA do programa computacional Matlab (MathWorks, Natick, EUA). Foram desenvolvidas RNAs com arquiteturas do tipo $5 - n_1 - n_2 - 2$: com cinco características no vetor de entrada (cinco bandas), duas camadas intermediárias com diferentes números de neurônios (n_1 e n_2) e dois neurônios na camada de saída (duas classes: sadia e infectada). Os números de neurônios testados, tanto na primeira quanto na segunda camada intermediária, foram de: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 e 20. Dessa forma, foram treinadas 100 RNAs com diferentes neurônios nas camadas intermediárias. A função de ativação da primeira e segunda camada escondida foi a tangente hiperbólica e na camada de saída foi a sigmóide. Foi utilizado o algoritmo de retropropagação do erro, com a variação proposta por Levenberg-Marquardt (HAGAN e MENHAJ, 1994).

Os dados de 2.342 amostras foram divididos em: 1.390 para treinamento da rede, 478 para validação e 474 para teste. Todos os conjuntos de dados foram escolhidos de forma que estariam presentes medidas de reflectância de folhas sadias e infectadas. O método “*parada mais cedo*”, descrito por Haykin (2000), foi utilizado para interromper o treinamento da RNA. Este método utiliza o conjunto de validação para interromper a atualização dos parâmetros livres da RNA durante o treinamento e, assim, evitar a sobre ajuste aos dados (“*overfitting*”). Durante o treinamento, o erro quadrático médio (EQM) é calculado com os vetores de treinamento e com vetores de validação. O treinamento é interrompido quando o EQM de validação começa aumentar (HAYKIN, 2000). O número de iterações utilizadas para confirmar a tendência de aumento do EQM é dependente do problema (PRECHELT, 1998), sendo que no presente trabalho foram utilizadas dez iterações.

A avaliação do classificador foi feita com a amostra de teste. A partir desse conjunto de teste foi possível construir a matriz de confusão da classificação (CONGALTON, 1991; SOUSA et al., 2010). A partir da matriz de confusão foi

calculado o índice Kappa. Sabendo que, no início do treinamento utilizando o pacote de ferramentas de RNA do Matlab (MathWorks, Natick, EUA), alguns parâmetros da RNA são gerados aleatoriamente e esses valores podem influenciar o resultado final do treinamento, cada arquitetura foi treinada dez vezes. Entre essas dez RNAs treinadas, escolheu-se a que apresentou o maior índice Kappa com a amostra de teste. Para avaliar a diferença entre dois índices Kappa, foi utilizado o teste Z, de acordo com Congalton e Green (1998), com um nível de significância de 5%.

2.4. Detecção precoce da antracnose

Para a detecção da antracnose, antes que seus primeiros sintomas se tornassem visíveis, foi utilizada a RNA que apresentou, estatisticamente, o maior índice Kappa.

Foi utilizado um conjunto de dados com 24 amostras de plantas sadias e 20 amostras de plantas infectadas para cada concentração de conídios/mL, totalizando 84 amostras. Diariamente, esse conjunto de dados com 84 amostras foi separado para a detecção precoce da doença. As amostras desse conjunto de dados não fizeram parte do conjunto de treinamento, validação ou teste da RNA.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Desenvolvimento da doença

As plantas de feijoeiro não inoculadas com o patógeno (controle) permaneceram sadias durante todo o período de coleta de dados. As plantas inoculadas permaneceram sem apresentar nenhum sintoma da antracnose durante o período de latência da doença. Em média, quatro dias após a inoculação (DAI), observou-se os primeiros sintomas da doença.

3.2. Teste entre os vetores de médias das classes

A diferença entre as médias de classes de folhas infectadas ou sadias foi significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste T^2 de Hotelling (Tabela 2). Isto mostra que o desenvolvimento de um classificador para discriminar entre as

duas classes pode ser viável. Os testes da Manova foram significativos para os tratamentos ($\Lambda = 0,0002$, $F = 4,24$ e $p < 0,0001$).

Tabela 2. Valor de F calculado (F_c) para o teste T^2 de Hotelling, para comparar as médias de folhas infectadas ou sadias

	T^2 de Hotelling	F_c
Valor	5,51	1,10

F_c = valor calculado da estatística F correspondente a estatística T^2 de Hotelling.

3.3. Análise por componentes principais

A redução da dimensionalidade dos dados é um ponto crucial quando se trabalha com grande volume de dados, o uso da análise por componentes principais permite reter grande parte da variância de grandes volumes de dados em outras variáveis denominadas componentes principais, que se espera ser em um número bem menor do que as variáveis originais. Na Tabela 3, é mostrado o quanto cada CP1, de cada banda, reteve da variância total dos dados. Para cada banda espectral o CP1 reteve no mínimo 88,9% da variância. Por isso, foi utilizado o CP1 de cada banda, para gerar os valores dos escores utilizados como vetor de entrada da RNA, sem perda significativa de informação.

Tabela 3. Valores, em porcentagem, da variância dos dados retida pelo primeiro componente principal de cada banda espectral

	Banda azul	Banda verde	Banda vermelha	Red edge	Infravermelho próximo
CP1	88,9	99,3	96,2	94,1	98,9

Dessa maneira, houve uma redução de 751 variáveis originais para cinco novas variáveis independentes, retendo mais de 88% da variância total dos dados originais. Essas novas variáveis foram utilizadas como vetores de entrada da rede neural artificial.

3.4. Classificador por redes neurais artificiais

Para todas as 100 RNAs treinadas, os coeficientes Kappa foram diferentes de zero, indicando que a classificação de todas as RNAs foi, significativamente, melhor

que uma classificação ao acaso. Não houve diferença significativa entre os valores dos coeficientes Kappa para cada combinação de neurônios nas duas camadas intermediárias (Tabela 4). Esse fato mostrou que o aumento na complexidade da RNA com a adição de neurônios nas camadas escondidas, não melhorou substancialmente o desempenho da classificação.

Tabela 4. Coeficiente Kappa, em porcentagem, das RNAs com arquiteturas $5 - n_1 - n_2 - 2$ ¹

n ₁	n ₂									
	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
2	36,6	37,4	37,0	39,1	41,4	43,3	38,4	38,3	38,0	37,0
4	43,1	38,6	39,6	37,8	39,6	40,2	39,8	39,2	38,7	39,9
6	42,1	40,4	40,5	39,6	39,3	39,7	35,7	38,4	38,9	38,8
8	41,1	41,2	41,6	41,0	41,5	39,8	38,8	35,7	36,1	39,3
10	39,6	40,0	37,9	40,1	37,5	39,5	41,5	39,1	40,5	39,6
12	40,5	39,2	42,3	40,6	41,4	42,9	40,0	41,1	40,2	40,7
14	42,2	40,8	42,8	39,2	37,9	40,6	38,7	41,6	39,9	39,6
16	41,6	41,6	40,8	39,8	44,1	39,7	41,0	37,5	40,1	39,6
18	41,9	42,1	40,5	38,7	40,2	39,2	39,1	40,5	39,8	40,2
20	40,5	40,9	41,7	38,6	41,1	40,7	43,3	38,8	37,5	40,6

¹ = número de neurônios nas camadas de entrada, escondidas (n₁ e n₂) e de saída, respectivamente.

Uma vez que redes neurais artificiais menores generalizam melhor, a RNA com 2 neurônios na primeira e segunda camadas escondidas, por ser mais simples, foi utilizada para a classificação de folhas saudáveis e infectadas com *C. lindemuthianum* (Tabela 5). Essa RNA foi eficiente na classificação das folhas infectadas, obtendo uma acurácia de 94,2%. No entanto, houve confusão na classificação de folhas saudáveis, obtendo uma acurácia de 38,6%. Isto pode estar associado ao fato que no período inicial da coleta dos dados, as respostas espectrais das folhas infectadas e saudáveis eram semelhantes, devido ao período de latência da doença. O índice Kappa foi de 0,37 para a arquitetura $5 - 2 - 2 - 2$, o que indica um desempenho razoável na classificação. Esse resultado indica que a classificação das folhas do feijoeiro foi 37% melhor do que uma classificação aleatória.

Tabela 5. Matriz de confusão com o coeficiente Kappa, acurácia do produtor e exatidão global, obtidos com a amostra de teste da RNA com arquitetura $5 - 2 - 2 - 2$

	Folhas doentes	Folhas saudáveis	Kappa	Exatidão global
Folhas doentes	339	72	0,37	80,4%
Folhas saudáveis	21	42		
Acurácia do produtor	94,2%	38,6%		

3.5. Detecção precoce da antracnose

Para a classificação entre folhas saudáveis e doentes, antes que os sintomas específicos da antracnose se tornassem visíveis, foram usados dados de reflectância coletados a partir do primeiro dia após a inoculação do patógeno. Esses dados não foram utilizados no treinamento da RNA.

Para Rudá (Tabela 6), a RNA obteve um Kappa de 0,53 no primeiro DAI, três dias antes que os sintomas da doença se tornassem visíveis (Tabela 7). Os primeiros sintomas da antracnose se tornaram visíveis no quarto DAI e foram aumentando até a morte total da planta no oitavo DAI. A exatidão global da classificação das folhas se manteve acima de 80% (Tabela 6). A colonização de *C. lindemuthianum* nos tecidos das plantas causam lesões cloróticas e necroses na superfície foliar, que provocam mudanças nas respostas espectrais das folhas. Os resultados do classificador, considerados bons, estão associados a esta deterioração das organelas presentes nas folhas, causada pelo patógeno. A classificação das folhas saudáveis sempre se manteve acima dos 25% de acurácia, alcançando 100% no oitavo DAI (Tabela 6). As lesões foliares causadas pela atividade patogênica causam mudanças na reflectância das folhas infectadas, tornando mais expressivas as diferenças nos valores das respostas espectrais em relação às folhas saudáveis.

Tabela 6. Resultados, em porcentagem, da classificação de folhas (doentes ou saudáveis) em função do dia após a inoculação (DAI), para RNA com arquitetura 5 – 2 – 2 – 2

Classes	DAI							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Folhas doentes	98,6	97,2	95,8	98,6	94,4	100,0	98,6	98,6
Folhas saudáveis	45,8	41,7	37,5	25,0	37,5	33,3	79,2	100,0
Exatidão global	85,4	83,3	81,3	80,2	80,2	83,3	93,8	99,0
Kappa	53,3	46,7	40,0	30,9	37,7	42,9	82,4	97,3

Destaca-se a evolução no valor do coeficiente Kappa a partir do quarto DAI. Isso indica que com o aparecimento dos sintomas característicos da antracnose, como as necroses foliares, a classificação melhora. O classificador conseguiu discriminar folhas com sintomas de antracnose de folhas saudáveis em estágios iniciais da doença. Obteve resultados semelhantes ao de outros autores utilizando RNA

(MOSHOU et al., 2004; LIU et al., 2010). Resultados foram comparáveis ao de autores utilizando outros classificadores, como Rumpf et al. (2010), que utilizaram máquina de vetor de suporte para discriminar doenças foliares em beterrabas em estádios precoces de infecção. Os primeiros sintomas característicos da doença surgiram aos 3 DAI. A antracnose foi mais severa em plantas da cultivar RBS Supremo. Aos 7 DAI a maioria das plantas dessa cultivar estava morta (Tabela 7).

Tabela 7. Severidade média da antracnose nas três cultivares de feijoeiro em relação ao número de dias após a inoculação (DAI) do patógeno

Cultivares	DAI									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Rudá	1,0	1,0	1,0	1,3	2,3	3,9	8,1	8,4	-	-
RBS Supremo	1,0	1,0	1,1	2,7	4,3	7,8	8,6	-	-	-
Vermelhinho	1,0	1,0	1,1	1,8	2,8	4,0	6,4	7,1	8,4	8,7

Severidade média da doença, com base no uso de escala de notas de 1 a 9, de acordo com metodologia proposta por Pastor-Corrales (1992).

O classificador conseguiu detectar a antracnose 1 DAI, obteve um coeficiente Kappa de 0,42 (Tabela 8), dois dias antes que os primeiros sintomas característicos da doença se tornassem visíveis. É possível notar uma evolução nos valores do coeficiente Kappa com o surgimento dos primeiros sintomas da doença, alcançando 0,65 aos 5 DAI. Essa melhora nos resultados se deve à atividade patogênica, que foi mais intensa na cultivar RBS Supremo, em comparação com as outras duas cultivares. As primeiras lesões foliares surgiram aos 3 DAI e evoluíram rapidamente, causando a queda total das folhas e quebra dos caules aos 7 DAI. O ataque do patógeno às organelas fotossintetizantes, como os cloroplastos, causam mudanças nas respostas espectrais das folhas, principalmente na região do vermelho, facilitando a discriminação entre folhas saudáveis e infectadas.

A exatidão global, que é a razão entre as folhas classificadas corretamente e o número total de folhas, ficou sempre acima de 83% (Tabela 8), indicando bons resultados na discriminação das folhas infectadas e saudáveis.

Tabela 8. Resultados, em porcentagem, da classificação de folhas doentes e saudáveis em função do dia após a inoculação (DAI), para RNA com arquitetura 5 – 2 – 2 – 2

Classes	DAI						
	1	2	3	4	5	6	7
Folhas doentes	93,1	98,6	97,2	95,8	97,2	87,5	88,7
Folhas saudáveis	44,4	38,9	44,4	55,6	61,1	87,5	77,8
Exatidão global	83,3	86,7	86,7	87,8	90,0	87,5	86,3
Kappa	41,7	47,4	50,0	57,4	65,1	64,1	62,8

No Vermelhinho (Tabela 9), os primeiros sintomas característicos da antracnose foram visíveis aos 3 DAI (Tabela 7). Essa cultivar foi a menos suscetível à antracnose entre as três cultivares estudadas neste trabalho. As lesões cloróticas e necroses foram menos agressivas quando comparadas com as sofridas pelas outras duas cultivares. No entanto, o classificador se mostrou eficaz na discriminação de folhas infectadas e sadias desde 1 DAI.

Essa menor suscetibilidade à antracnose pode impedir um avanço mais expressivo das lesões e necroses foliares, implicando em uma menor variação das respostas espectrais das folhas e confundiu a classificação. No 1 DAI o classificador teve um valor de Kappa de 0,36 e exatidão global de 81,3%, indicando uma boa discriminação entre folhas infectadas e sadias. Foi possível perceber uma tendência de variação nos valores do coeficiente Kappa (Tabela 9). Os maiores valores de Kappa foram obtidos depois que os sintomas característicos da doença se tornaram visíveis. Esse fato demonstra que a classificação é mais expressiva quando a superfície foliar apresenta lesões cloróticas e necroses. Essas lesões alteram a reflectância na região do visível do espectro eletromagnético.

Tabela 9. Resultados, em porcentagem, da classificação de folhas (doentes ou sadias) em função do dia após a inoculação (DAI), para RNA com arquitetura 5 – 2 – 2 – 2

Classes	DAI									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Folhas doentes	98,6	94,4	97,2	94,4	98,6	95,8	98,6	93,1	94,4	98,6
Folhas sadias	29,2	37,5	41,7	45,8	29,2	45,8	62,5	62,5	70,8	60,9
Exatidão global	81,3	80,2	83,3	82,3	82,3	83,3	89,6	85,4	88,5	89,4
Kappa	35,7	37,7	46,7	46,0	35,7	48,4	68,8	58,8	68,1	67,4

Nas três cultivares estudadas, o classificador detectou a doença um DAI com valores de Kappa acima de 0,35, não importando o nível de concentração do inoculo. Esse fato indica grande potencial do classificador na detecção precoce da antracnose. A detecção de doenças em estádios iniciais de infecção é importante para o monitoramento de culturas. O sensoriamento remoto apresenta potencial para o monitoramento de culturas agrícolas porque utiliza técnicas não invasivas e de resultados rápidos.

Baseado nos resultados deste trabalho, o classificador desenvolvido apresentou grande potencial como ferramenta de auxílio em tomada de decisão no monitoramento de culturas de feijoeiro. Os resultados mostraram que é viável a

detecção precoce da antracnose para as cultivares Rudá, BRS Supremo e Vermelhinho, em concentrações de conídios/mL baixa, média e alta, utilizando dados espectrais. Novos estudos devem ser realizados para a validação dos resultados obtidos em condições de campo.

4. CONCLUSÕES

A análise por componentes principais aplicada nas bandas azul, verde, vermelho, red edge e infravermelho próximo, do espectro eletromagnético se mostrou viável na captura da variância de dados de reflectância.

Este trabalho demonstrou a viabilidade de detecção precoce da antracnose em plantas de feijoeiro, antes que os primeiros sintomas característicos da doença se tornassem visíveis.

Os resultados mostraram que redes neurais artificiais (RNA) utilizando dados de reflectância de folhas de feijoeiro foram aplicadas com sucesso na discriminação de folhas sadias e infectadas com *Colletrichum lindemuthianum*. A técnica aplicada aqui pode ser adaptada para aplicação em campo. Baseado nos resultados obtidos, sensores específicos podem ser desenvolvidos para aplicações práticas no futuro.

5. AGRADECIMENTO

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (Fapemig) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelos recursos financeiros disponibilizados para a realização do experimento pela bolsa concedida ao primeiro autor.

6. BIBLIOGRAFIA

BAURIEGEL, E.; GIEBEL, A.; GEYER, M.; SCHMIDT, U.; HERPPICH, W. B. Early detection of *Fusarium* infection in wheat using hyper-spectral imaging. **Computers and Electronic in Agriculture**, v.75, p.304-312, 2011.

BLACKBURN, G. A. Hyperspectral remote sensing of plant pigment. **Journal of Experimental Botany**. v.58, p.844-867, 2007.

CONGALTON, R.G. A review of assessing the accuracy of classifications of remotely sensed data. **Remote sensing of environment**, n. 37 p. 35-46, 1991.

CONGALTON, R. G.; GREEN, K. **Assessing the accuracy of remotely sensed data: principles and practices**. New York: Lewis Publishers, 137p, 1998.

HAGAN, M. T.; MENHAJ, M. B. Training feedforward networks with the marquardt algorithm. **IEEE Transactions on Neural Networks**, v.5, n.6, p.989-993, 1994.

HAIR, J. F.; BLACK, W. C.; BABIN, B. J.; ANDERSON, R. E. **Multivariate data analysis**. 7ed. Pearson Prentice Hall, New Jersey, 758p, 2010.

HAYKIN, S. **Redes Neurais: princípios e prática**. 2ed. Editora Bookman, 900p, 2000.

HILLNHÜTTER, C., MAHLEIN, A. K. Early detection and localization of sugar beet diseases: New approaches. **Gesunde Pflanzen**. v.60, p.143-149, 2008.

HILLNHÜTTER, C., MAHLEIN, A. K., SIKORA, R. A., OERKE, E. C. Use of imaging spectroscopy to discriminate symptoms caused by *Heterodera schachtii* and *Rhizoctonia solani* on sugar beet. **Precision Agric**. v.13, p.17-32, 2012.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. **Applied multivariate statistical analysis**. 6 ed. Upper Saddle River: Pearson Prentice Hall, 2007. 773p.

LIMA, P. R. A.; VIEIRA, B. S.; CRATO, F. F.; LOPES, E. A.; JÚNIOR, J. P. Eficiência de fungicidas no controle da antracnose e da mancha angular do feijoeiro comum. **Cerrado Agrociências**. Patos de Minas: UNIPAM. v.1, p. 54-59, 2010.

LIU, Z. Y.; WU, H. F.; HUANG, J. F. Application of neural networks to discriminate fungal infection levels in rice panicles using hyperspectral reflectance and principal components analysis. **Computers and Electronics in Agriculture**, v.72, p.99-106, 2010a.

LIU, Z. Y.; SHI, J. J.; ZHANG, L. W.; HUANG, J. F. Discrimination of rice panicles by hyperspectral reflectance data based on principal components analysis and support vector classification. **Journal of Zhejiang University: Science**, v.11, n.1, p. 820–827. 2010b.

MACHADO, M. L.; PINTO, F. A. C.; QUEIROZ, D. M.; PAULA JUNIOR, T. J.; VIEIRA, R. F. Estimativa de severidade do mofo-branco em lavouras de feijão utilizando-se sensores hiper e multiespectral. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.19, n.5, p.426-432, 2015.

MAHLEIN, A. K., OERKE, E. C., STEINER, U., DEHNE, H. W. Recent advances in sensing plant diseases for precision crop protection. **Eur J Plant Pathology**. v.133, p.197-209, 2012a.

MAHLEIN, A. K., STEINER, U., DEHNE, H. W., OERKE, E. C. Spectral signatures of sugar beet leaves for the detection and differentiation of diseases. **Precision Agric.** v.11, p.413-431, 2010.

MAHLEIN, A. K., STEINER, U., HILLNHÜTTER, C., DEHNE, H. W., OERKE, E. C. Hyperspectral imaging for small-scale analysis of symptoms caused by different sugar beet diseases. **Plant Methods.** v.8, n.3, p.1-13, 2012b.

MOSHOU, D.; BRAVO, C.; WEST, J.; WAHLEN, S.; MCCARTNEY, A.; RAMON, H. Automatic detection of 'yellow rust' in wheat using reflectance measurements and neural networks. **Computers and Electronics in Agriculture,** v.44, p.173-188, 2004.

PASTOR-CORRALES, M.A. Recomendaciones y acuerdos del primer taller de antracnosis en América Latina. In: PASTOR-CORRALES, M.A. (Ed.). **La antracnosis del frijol común, *Phaseolus vulgaris*, en América Latina,** Cali: CIAT, p. 240-250. 1992.

PRECHELT, L. Automatic early stopping using cross validation: quantifying the criteria. **Neural Networks,** v.11, p.761-767, 1998.

RUMPF, T., MAHLEIN, A. K., STEINER, U., OERKE, E. C., DEHNE, H. W., PLÜMER, L. Early detection and classification of plant diseases with support vector machines based on hyperspectral reflectance. **Computers and Electronics in Agriculture.** v.74, p.91-99, 2010.

SIDDIQUI, K.; Heuristics for sample size determination in multivariate statistical techniques. **World Applied Sciences Journal,** v.27, n.2, p.285-287, 2013.

SHARMA, P. N.; BANYAL, K.; RANA, J. C.; NAG, R.; SHARMA, S. K.; PATHANIA, A. Screening of common bean germplasm against *Colletotrichum lindemuthianum* causing bean antracnose. **Indian Phytopath.** v.65, n.1, p.99-101, 2012.

SONG, S.; GONG, W.; ZO, B.; HUANG, X. Wavelength selection and spectral discrimination for paddy rice, with laboratory measurements of hyperspectral leaf reflectance. **ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing,** v.66, p.672-682, 2011.

SOUSA, B. F. S.; TEIXEIRA, A. S.; SILVA, F. A. T. F.; ANDRADE, E. M.; BRAGA, A. P. S. Avaliação de classificadores baseados em aprendizado de máquina para classificação de uso e cobertura de terra no bioma Caatinga. **Revista Brasileira de Cartografia,** Campina Grande, v.62, n.2, p. 385 – 399, 2010. Edição Especial.

SOUZA, A. M.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte 1. **Química Nova,** v.35, n.01, p. 223-229, 2012.

CAPÍTULO 2

Detecção precoce da antracnose em feijoeiro-comum utilizando índices de vegetação e informações espectrais foliares

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um classificador por rede neural artificial para discriminar entre folhas infectadas e sadias com o fungo *C. lindemuthianum*, em estágio precoce de infecção, utilizando dados de reflectância foliar. O espectro eletromagnético foi dividido em cinco bandas espectrais. Em cada banda foi feita uma análise por componentes principais e com o primeiro componente principal foram gerados os escores de cada banda espectral. Foram testadas redes neurais artificiais com diferentes variáveis de entrada: índices de vegetação hiperespectrais e multiespectrais e os valores de escores de cada banda espectral. Foram utilizados três cultivares de feijoeiro comum e três níveis de severidade da doença. Os índices de vegetação utilizados foram o índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI), índice por diferença de vegetação (DVI), índice de vegetação da diferença normalizada pelo verde (GNDVI), índice de absorção pela clorofila modificado (MCARI), índice de vegetação pela diferença relativa (RDVI) e índice de absorção pela clorofila transformado (TCARI). O classificador mais eficiente utilizou o índice DVI multiespectral como variável de entrada e dois neurônios na camada escondida. Esse classificador obteve coeficiente Kappa de 32% e exatidão global de 79%. O classificador detectou a antracnose três dias antes que os primeiros sintomas característicos se tornassem visíveis nas três cultivares.

Palavras-chaves: Sensoriamento remoto, reflectância, antracnose, feijoeiro, doença.

ABSTRACT

The objective of this study was to develop an artificial neural network classifier to discriminate between infected and healthy leaves with the fungus *C. lindemuthianum* at an early stage of infection, using leaf reflectance data. The electromagnetic spectrum was divided into five spectral bands. In each band was made a principal component analysis and with the first principal component were generated the scores of each spectral band. Artificial neural networks have been

tested with various input variables: hyperspectral and multispectral vegetation indexes and values of scores of each spectral band. Three cultivars of common bean and three levels of severity were used. The vegetation indices used were normalized difference vegetation index (NDVI), difference vegetation index (DVI), green normalized difference vegetation index (GNDVI), modified chlorophyll absorption in reflectance index (MCARI), relative difference vegetation index (RDVI) and transformed chlorophyll absorption reflectance index (TCARI). The most efficient classifier used the DVI multispectral index as input variable and two neurons in the hidden layer. This classifier obtained Kappa coefficient of 32% and overall accuracy of 79%. The classifier detected anthracnose three days before the first characteristic symptoms become visible in the three bean cultivars.

Key-words: Remote sensing, reflectance, anthracnose, common beans, disease.

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, o feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) é cultivado durante todo o ano e vários fatores atuam limitando ou reduzindo sua produção. A ocorrência de doenças é uma das principais causas de redução de produtividade (LIMA et al., 2010). Dentre as principais doenças do feijoeiro, destaca-se a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (SHARMA et al., 2012).

O controle da antracnose é feito com uso de cultivares resistentes. Porém, essas cultivares podem apresentar características agrônômicas inferiores as suscetíveis, principalmente quanto ao potencial produtivo. Assim, uma das principais medidas de controle da antracnose é a aplicação de fungicidas (LIMA et al., 2010). É recomendável que a aplicação do fungicida seja feita quando surgem os primeiros sintomas da doença. A antracnose é uma moléstia que aparece em pequenas áreas da cultura do feijoeiro e com o tempo vai se alastrando por toda a plantação. Assim, faz se necessário o desenvolvimento de técnicas capazes de identificar os estádios iniciais de infecção da doença. Determinado os locais onde ocorrem os primeiros focos de infecção é possível fazer uma aplicação à taxa variável do fungicida, o que pode promover maior economia e menor dano ao meio ambiente.

Dentre as tecnologias utilizadas na agricultura de precisão, o sensoriamento remoto tem se mostrado muito promissor na identificação de doenças em estádios

iniciais de infecção. Rumpf et al. (2010) utilizaram dados de reflectância para detectar e classificar, em estádios iniciais de infecção, três doenças fúngicas da beterraba. Mahlein et al. (2012) utilizaram respostas espectrais e índices de vegetação em cultivos de beterraba, com detalhamento do avanço das doenças observadas em nível de estrutura celular da folha.

Medidas hiperespectrais apresentam centenas de medidas de reflectância em diferentes comprimentos de onda, a utilização de técnicas de estatística multivariada possibilita reduzir o número de comprimento de onda, sem perda significativa de informação e sem comprometer a caracterização espectral do alvo (SONG et al., 2011; MACHADO et al., 2015). Há várias técnicas da estatística multivariada para redução dimensional. No entanto, a estimativa do número de amostras em função do número de variáveis é tarefa difícil (SIDDIQUI, 2013). Há autores que sugerem que o número de amostras varie de 2 a 20 vezes o número de variáveis (HAIR et al., 2010; SIDDIQUI, 2013).

Uma técnica multivariada muito utilizada na redução da dimensionalidade dos dados e seleção de variáveis é a análise por componentes principais (ACP). Bauriegel et al. (2011) utilizaram ACP para redução da quantidade de variáveis originais e determinar quatro intervalos de comprimentos de onda do espectro eletromagnético: 500 – 533 nm, 560 – 675 nm, 682 – 733 nm e 927 – 931 nm, que permitiu discriminar plantas de trigo infectadas com fusário com uma acurácia de 91%, antes que os primeiros sintomas se tornassem visíveis.

Os índices de vegetação (IV) são utilizados para estimar parâmetros da vegetação. Os IVs são operações algébricas entre os valores de reflectância envolvendo duas ou mais faixas espectrais. Seu objetivo é extrair e ampliar as informações acerca da vegetação. Rumpf et al. (2010) utilizaram oito IVs para auxiliar na detecção precoce de três doenças fúngicas em plantas de beterraba. Yao et al. (2012) utilizaram IVs para determinar precocemente estresse em plantas de soja causado pelo uso de glifosato.

Este trabalho teve por objetivo: (1) selecionar os IVs mais representativos da variância total dos dados, que serão utilizados como variáveis de entrada do classificador; (2) desenvolver e comparar classificadores por redes neurais artificiais para discriminar folhas infectadas com antracnose.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, nos meses de outubro a dezembro de 2013, com temperatura de 24 ± 1 °C e umidade relativa do ar de $80 \pm 5\%$, na cidade de Viçosa, latitude $20^{\circ} 45' 14''$ Sul e longitude $42^{\circ} 52' 55''$ Oeste, no estado de Minas Gerais. Para a coleta das respostas espectrais das folhas do feijoeiro foram conduzidos experimentos utilizando três cultivares de feijão representantes de três grupos comerciais: carioca (cv. Rudá), preto (cv. Supremo) e vermelho (cv. Vermelhinho), dada a importância econômica de cada grupo e a suscetibilidade à antracnose. Em cada vaso, duas plantas foram cultivadas, em 0,415 L de substrato (Tropstrato HT[®], Vida Verde, Mogi Mirim, SP, Brasil).

Foi realizado um experimento para cada cultivar. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC), com quatro concentrações de conídios/mL [zero (controle), $1,2 \times 10^4$ (baixa), $1,2 \times 10^5$ (média) e $1,2 \times 10^6$ (alta) conídios/mL], com seis repetições. O experimento foi repetido nos meses de janeiro a março de 2014.

2.1. Inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*

O inóculo de *C. lindemuthianum*, de raça 65, obtido no Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO/UFV), foi multiplicado em tubos de ensaio contendo vagens esterilizadas e parcialmente imersas em meio ágar-ágar. Os tubos foram mantidos por aproximadamente dez dias a 24 ± 1 °C, para a produção dos conídios. Em casa de vegetação foram semeadas 30 sementes de cada cultivar de feijoeiro em bandejas de isopor (68 x 35 cm) com 128 células. Quatro dias após o plantio a maioria das sementes germinava. Seis dias após o plantio foi feito o transplante das plantas de feijoeiro para os vasos plásticos. A inoculação foi realizada três dias após o transplante das mudas para os vasos plásticos, atomizando a suspensão de conídios em ambas as superfícies das folhas primárias, com o auxílio de um atomizador manual.

A avaliação das plantas foi realizada diariamente após a inoculação, com base na escala de 1 a 9 descrita por Pastor-Corrales (1992), em que: 1 = ausência de sintomas; 2 = até 1% das nervuras apresentando manchas necróticas, perceptíveis somente na face abaxial da folha; 3 = maior frequência dos sintomas foliares

descritos no grau anterior, até 3% das nervuras afetadas; 4 = até 1% das nervuras apresentando manchas necróticas, perceptíveis em ambas as faces das folhas; 5 = maior frequência dos sintomas foliares descritos no grau anterior, até 3% das nervuras afetadas; 6 = manchas necróticas nas nervuras, perceptíveis em ambas as faces das folhas, presença de algumas lesões no caule, ramos e pecíolos; 7 = manchas necróticas na maioria das nervuras e em grande parte do tecido do mesófilo adjacente que se rompe; presença de abundantes lesões no caule, ramos e pecíolos; 8 = manchas necróticas na quase totalidade das nervuras, ocasionando ruptura, desfolhamento e redução do crescimento das plantas; lesões abundantes no caule, ramos e pecíolos; e 9 = maioria das plantas mortas.

2.2. Medição das respostas espectrais das folhas do feijoeiro

Em cada vaso, quatro folhas completamente desenvolvidas foram escolhidas para as medidas de reflectância espectral, feitas diariamente após a inoculação até a queda total das folhas, no mesmo período do dia, entre 10:00 e 14:00 h. Durante o experimento, foram realizadas 2.342 medidas de reflectância, sendo que 555 foram de plantas sadias e 1.787 de plantas infectadas.

A reflectância espectral foliar foi medida com o espectrorradiômetro ASD FieldSpec Pro FR (Analytic Spectral Devices, Boulder, EUA), com a sonda “plant probe” para medidas de contato com a folha. Essa sonda possui uma lâmpada de halogênio integrada de 100 W, que foi ligada 90 minutos antes de cada coleta de dados para sua estabilização. O espectrorradiômetro possui faixa espectral entre 350 - 1100 nm e a faixa útil de leitura foi entre os valores 400 e 900 nm, descartando os dados espectrais ruidosos nos extremos. A calibração do espectrorradiômetro utilizando a referência do branco, com placa de Spectralon (Labsphere, North Sutton, EUA), foi feita no início de cada coleta de dados e depois a intervalos regulares de 15 minutos. O tempo de medida de cada leitura foi ajustado para 544 ms, sendo que cada coleta de reflectância, em cada folha, foi a média de 10 leituras efetuadas pelo espectrorradiômetro.

2.3. Desenvolvimento do classificador

Os dados originais tinham grande número de variáveis (751 comprimentos de onda) em relação ao número de repetições (2.342 repetições). Há literaturas que recomendam, no mínimo, 20 repetições por variável mensurada (HAIR et al.,2010; SIDDIQUI, 2013). Para redução do número de variáveis, o conjunto de dados originais foi dividido em cinco bandas espectrais, de acordo com as bandas espectrais dos satélites do sistema RapidEye (Tabela 1).

Tabela 1. Bandas espectrais com seus respectivos intervalos de comprimentos de onda e número de variáveis

Bandas Espectrais	Intervalo de comprimento de ondas (nm)	Número de variáveis
Azul	440 – 510	70
Verde	520 – 590	70
Vermelho	630 – 685	55
Red edge	690 – 730	40
Infravermelho próximo	760 – 850	90

A utilização destas cinco bandas espectrais foi devido à relação direta que cada banda tem com partes constituintes das folhas do feijoeiro. No espectro visível (380-760 nm), a mudança na resposta espectral da folha é devido à variação no conteúdo de organelas, como carotenoides e clorofila. E no infravermelho próximo (760–1.200 nm), as variações nas respostas espectrais são devido a variações na estrutura física da folha, como o conteúdo de água (BAURIEGEL et al., 2011).

Como em uma mesma banda espectral há forte correlação entre as variáveis, isto possibilita a aplicação da ACP em cada banda para redução da dimensionalidade dos dados. A ACP gera novas variáveis, não correlacionadas, chamadas componentes principais. Espera-se que a maior parte da variância dos dados originais seja retida em poucos componentes principais. Com esses componentes principais calculou-se os escores para cada amostra de conjunto de dados de cada banda. Esses valores de escores foram as características utilizadas como vetores de entrada da rede neural artificial (RNA). Antes de efetuar a análise por componentes principais, todos os dados foram centrados na média. Assim, cada variável passa a ter média zero, ou seja, as coordenadas são movidas para o centro dos dados,

permitindo que diferenças nas intensidades relativas das variáveis sejam mais fáceis de perceber (SOUZA e POPPI, 2012).

Com os dados de reflectância das folhas sadias e infectadas, foi realizada a Manova e o teste de médias T^2 de Hotelling, para verificar se a separação entre as classes de interesse foi significativa, ao nível de 5% de significância. Foi feita a análise de variância multivariada (Manova) para verificar se houve diferença significativa entre os tratamentos, utilizando o critério de Wilks (JOHNSON e WICHERN, 2007).

2.3.1. Índices de vegetação

Foram calculados seis índices de vegetação comuns à espectrometria hiperespectral e multiespectral (Tabela 2), dados por: Normalized Difference Vegetation Index – NDVI (Rouse et al., 1974); Green Normalized Difference Vegetation Index – GNDVI (Yang et al., 2007); Difference Vegetation Index – DVI (Tucker, 1979); Modified Chlorophyll Absorption Reflectance Index – MCARI (Daughtry et al., 2000); Transformed Chlorophyll Absorption Reflectance Index – TCARI (Haboudane et al., 2002); Relative Difference Vegetation Index – RDVI (Roujean e Breon, 1995).

Tabela 2. Índices de vegetais utilizados em dados hiperespectrais e multiespectrais

Índices	Hiperespectral	Multiespectral
NDVI	$(R_{800} - R_{670}) / (R_{800} + R_{670})$	$(NIR - R) / (NIR + R)$
DVI	$R_{800} - R_{680}$	$NIR - R$
GNDVI	$(R_{800} - R_{550}) / (R_{800} + R_{550})$	$(IR - G) / (IR + G)$
MCARI	$[(R_{700} - R_{670}) - 0,2.(R_{700} - R_{550})].R_{700} / R_{670}$	$[(RE - R) - 0,2.(RE - G)].RE/R$
RDVI	$\sqrt{NDVI \cdot DVI}$	$\sqrt{NDVI \cdot DVI}$
TCARI	$3.[(R_{700} - R_{670}) - 0,2.(R_{700} - R_{550}).(R_{700} / R_{670})]$	$3.[(RE - R) - 0,2.(RE - G).(RE/R)]$

R_x = Valor da reflectância no comprimento de onda x. R = reflectância no vermelho; G = reflectância no verde; RE = reflectância no red-edge; NIR = reflectância no infravermelho próximo.

As bandas espectrais do azul (B), do verde (G), do vermelho (R), do red-edge (RE) e do infravermelho próximo (NIR) para o cálculo dos índices multiespectrais foram obtidas determinando-se a reflectância média dentro de cada faixa de comprimento de onda.

2.3.2. Arquitetura das RNAs

Neste trabalho foram treinadas RNAs do tipo *Multi Layer Perceptron* (MLP) para classificação de folhas de feijoeiro utilizando dados de reflectância. As RNAs foram treinadas utilizando o pacote de ferramentas de RNA do programa computacional Matlab (MathWorks, Natick, EUA). Diferentes arquiteturas de RNAs foram testadas. Os valores de escores das bandas espectrais foram testados, individualmente e combinados, como vetores de características utilizados como entrada da RNA.

Os seis IVs hiperespectrais e multiespectrais foram testados, individualmente e combinados, como variáveis de entrada do classificador. Todas as arquiteturas de RNAs foram testadas com uma e duas camadas intermediárias e dois neurônios na camada de saída (duas classes: sadia e infectada). Para as RNAs com duas camadas intermediárias, os números de neurônios testados, tanto na primeira quanto na segunda camada foram de: 2, 4, 6, 8 e 10. Para as RNAs com somente uma camada intermediária, o número de neurônios testados variou de 1 a 25. A função de ativação da primeira e segunda camada escondida foi a tangente hiperbólica e na camada de saída foi a sigmóide. Foi utilizado o algoritmo de retropropagação do erro, com a variação proposta por Levenberg-Marquardt (Hagan & Menhaj, 1994).

Foram testados três tipos de vetores de características utilizados como entrada na RNA:

- 1) Os valores de escores das bandas espectrais testados individualmente e combinados;
- 2) Os seis IVs hiperespectrais testados individualmente e combinados;
- 3) Os seis IVs multiespectrais testados individualmente e combinados.

A melhor arquitetura de RNA foi a que apresentou maior valor do coeficiente Kappa. Para avaliar a diferença entre dois índices Kappa, foi utilizado o teste Z, de acordo com Congalton e Green (1998), ao nível de significância de 5%.

2.3.3. Treinamento, validação e teste das RNAs

O conjunto de dados de 2.342 amostras foi dividido em: 1.390 para treinamento da rede, 478 para validação e 474 para teste. Todos os conjuntos de dados foram escolhidos de forma que estariam presentes medidas de reflectância de

folhas sadias e infectadas. O método “*parada mais cedo*”, descrito por Haykin (2000), foi utilizado para interromper o treinamento da RNA. Este método utiliza o conjunto de validação para interromper a atualização dos parâmetros livres da RNA durante o treinamento e, assim, evitar a sobre ajuste aos dados (“*overfitting*”). Durante o treinamento, o erro quadrático médio (EQM) é calculado com os vetores de treinamento e com vetores de validação. O treinamento é interrompido quando o EQM de validação começa a aumentar (HAYKIN, 2000). O número de iterações utilizadas para confirmar a tendência de aumento do EQM é dependente do problema (PRECHELT, 1998), sendo que no presente trabalho foram utilizadas dez iterações.

No início do treinamento os parâmetros da RNA são gerados aleatoriamente e esses valores podem influenciar o resultado final do treinamento. Dessa maneira, cada arquitetura foi treinada dez vezes. Entre essas dez RNAs treinadas, escolheu-se a que apresentou o maior índice Kappa com a amostra de teste. Para avaliar a diferença entre dois índices Kappa, foi utilizado o teste Z, de acordo com Congalton e Green (1998), com um nível de significância de 5%. A partir desse conjunto de teste foi possível construir a matriz de confusão da classificação e determinar o índice Kappa (CONGALTON, 1991; SOUSA et al., 2010) para avaliar o desempenho da classificação da RNA.

2.4. Detecção precoce da antracnose

Para a detecção da antracnose, antes que seus primeiros sintomas se tornassem visíveis, foi utilizada a RNA que apresentou, estatisticamente, o maior índice Kappa. Foi utilizado um conjunto de dados com 24 amostras de plantas sadias e 20 amostras de plantas infectadas para cada nível de infestação, totalizando 84 amostras. As amostras desse conjunto de dados não fizeram parte do conjunto de treinamento, validação ou teste da RNA.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Desenvolvimento da doença

As plantas de feijoeiro não inoculadas com o patógeno (controle) permaneceram sadia durante todo o período de coleta de dados. As plantas

inoculadas permaneceram sem apresentar nenhum sintoma característico da antracnose durante o período de latência da doença.

3.2. Teste entre os vetores de médias das classes

A diferença entre as médias de classes de folhas infectadas ou sadias foi significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste T^2 de Hotelling (Tabela 3). Isto mostra que o desenvolvimento de um classificador para discriminar entre as duas classes pode ser viável. Os testes da Manova foram significativos para os tratamentos ($\Lambda = 0,0002$, $F = 4,24$ e $p < 0,0001$).

Tabela 3. Valor de F calculado (F_c) para o teste T^2 de Hotelling, para comparar as médias de folhas infectadas ou sadias

	T^2 de Hotelling	F_c
Valor	5,51	1,10

F_c = valor calculado da estatística F correspondente a estatística T^2 de Hotelling.

3.3. Análise por componentes principais

O CP1 de cada banda reteve no mínimo 88,9% da variância total dos dados (Tabela 4). Com a ACP houve uma redução de 751 variáveis originais para cinco novas variáveis independentes – cinco componentes principais, retendo mais de 88% da variância total dos dados originais. Com esses componentes principais foram gerados os escores de cada banda. Esses valores de escores foram utilizados como vetores de entrada da RNA.

Tabela 4. Valores, em porcentagem, da variância dos dados retida pelo primeiro componente principal (CP1) de cada banda espectral

	Banda azul	Banda verde	Banda vermelha	Red edge	Infravermelho próximo
CP1	88,9	99,3	96,2	94,1	98,9

3.4. Classificação visual da antracnose

Os resultados das avaliações visuais diárias foram baseadas na escala proposta por Pastor-Corrales (1992) (Tabela 5). Para a cv. Rudá, os primeiros sintomas da antracnose se tornaram visíveis a partir do quarto DAI e no nono DAI

todas as plantas estavam mortas. Na cv. Supremo, os sintomas característicos da antracnose se tornaram visíveis a partir do terceiro DAI, atingindo a nota de 1,1 e no sétimo DAI a média das notas foi de 8,6, indicando a suscetibilidade desta cultivar em relação a doença. No oitavo DAI todas as plantas de feijoeiro estavam mortas. Na cv. Vermelinho, os primeiros sintomas da doença se tornaram visíveis no terceiro DAI, sendo que no décimo DAI a média das notas foi de 8,7 e no décimo primeiro DAI todas as plantas estavam mortas. Dentre as três cultivares estudadas, todas foram suscetíveis à antracnose, no entanto, na cv. Vermelinho a evolução da infecção foi mais lenta que nas cultivares Rudá e Supremo.

Tabela 5. Severidade média da antracnose nas três cultivares de feijoeiro em relação ao número de dias após a inoculação (DAI) dos patógenos

Cultivares	DAI										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Rudá	1,0	1,0	1,0	1,3	2,3	3,9	8,1	8,4	-	-	-
RBS Supremo	1,0	1,0	1,1	2,7	4,3	7,8	8,6	-	-	-	-
Vermelinho	1,0	1,0	1,1	1,8	2,8	4,0	6,4	7,1	8,4	8,7	-

Severidade média da doença, com base no uso de escala de notas de 1 a 9, de acordo com metodologia proposta por Pastor-Corrales (1992).

3.5. Classificador por redes neurais artificiais

Foram treinadas dois tipos de RNAs: com uma e duas camadas intermediárias. Para cada tipo de RNA, a cada combinação dos cinco vetores de entrada, foram treinadas 25 arquiteturas diferentes. Houve 31 combinações dos cinco vetores de entrada, sem repetição de vetores de entrada na mesma combinação. Dessa maneira, para cada tipo de RNA foram treinadas 775 arquiteturas diferentes. A melhor RNA foi a que apresentou, estatisticamente, o maior valor do coeficiente Kappa pelo teste Z. Não houve diferença significativa entre os valores de Kappa para as 100 melhores RNAs. Houve 31 combinações, sem repetição, das cinco variáveis de entrada. Entre as 100 RNAs, com duas camadas escondidas, que apresentaram os maiores valores do coeficiente Kappa, com valores variando de 34,2% a 44,4%, as maiores frequências ocorreram para os escores das bandas azul, vermelho e infravermelho próximo (Tabela 6).

Tabela 6. Frequências com que os escores de cada banda espectral contribuiu para cada combinação das variáveis de entrada da RNA com duas camadas intermediárias

Bandas espectrais	Frequência
Azul	21
Verde	11
Vermelho	32
Red edge	10
Infravermelho próximo	26

Para as 100 melhores RNAs com uma camada intermediária. As maiores frequências ocorreram para os escores das bandas azul, vermelho e infravermelho próximo. Entre as 100 RNAs que apresentaram os maiores valores do coeficiente Kappa, variando de 33,7% a 41,4%, os resultados na classificação foram melhores que ao acaso pelo teste Z a 5% de significância. As maiores frequências ocorreram para os escores das bandas azul, vermelho e infravermelho próximo (Tabela 7).

Tabela 7. Frequências com que os escores de cada banda espectral contribuiu para cada combinação das variáveis de entrada da RNA com uma camada intermediária

Bandas espectrais	Frequência
Azul	26
Verde	8
Vermelho	30
Red edge	12
Infravermelho próximo	24

Os escores das bandas espectrais com as maiores frequências foram azul, vermelho e infravermelho próximo (Tabelas 6 e 7). As bandas azul e vermelho fazem parte da região do visível do espectro eletromagnético. A relevância dessas bandas pode ser justificada pelo fato de que os patógenos causam deterioração das organelas fotossintetizantes, como os cloroplastos, reduzindo o teor de pigmentos envolvidos no processo de fotossíntese. As lesões cloróticas e necroses, na superfície foliar, afetam a reflectância na região espectral do visível. Uma diminuição na concentração de clorofila na folha causa aumento no valor da reflectância na região espectral do vermelho (YANG, 2010). Na banda espectral do infravermelho próximo existe pequena absorção da radiação eletromagnética e considerável espalhamento interno devido à interação da energia incidente com a estrutura interna da folha. As folhas infectadas apresentaram aumento nos valores de reflectância, devido a redução quantidade de biomassa, em função do ataque do

patógeno. Em geral, quanto mais lacunosa for a estrutura interna foliar, maior será a reflectância (PONZONI e SHIMABUKURO, 2010).

Também foram treinadas RNAs que utilizaram seis IV, obtidos de dados hiperespectrais e multiespectrais simulados, como variáveis de entrada (Tabela 2). Foram treinadas dois tipos de RNAs: com uma e duas camadas intermediárias. Para cada tipo de RNA, a cada combinação dos seis vetores de entrada, foram treinadas 25 arquiteturas diferentes. Houve 63 combinações dos seis vetores de entrada, sem repetição de vetores de entrada na mesma combinação. Dessa maneira, para cada tipo de RNA foram treinadas 1.575 arquiteturas diferentes. A melhor RNA foi a que apresentou, estatisticamente, o maior valor do coeficiente Kappa pelo teste Z. Também, não houve diferença significativa entre os valores de Kappa para as 100 melhores RNAs. As maiores frequências ocorreram para o IV DVI, indicando que o DVI foi o índice mais sensível para detectar as mudanças na reflectância das folhas infectadas (Tabela 8).

Tabela 8. Frequências com que cada IV hiperespectral contribuiu para cada combinação das variáveis de entrada da RNA com duas camadas intermediárias

Índices de vegetação hiperespectrais	Frequências
NDVI	24
GNDVI	9
MCARI	9
TCARI	7
DVI	33
RDVI	18

NDVI = índice de vegetação por diferença normalizada; GNDVI = índice de vegetação por diferença do verde normalizada; MCARI = índice de absorção da clorofila modificada; TCARI = índice de absorção da clorofila transformada; DVI = índice de diferença da vegetação; RDVI = índice de vegetação da diferença relativa.

Houve 63 combinações, sem repetição, dos seis IV obtidos de dados hiperespectrais para classificadores com uma camada escondida. Entre as 100 RNAs com os maiores valores do coeficiente Kappa, para RNAs com uma camada intermediária, as maiores frequências ocorreram para o IV DVI (Tabela 9).

Tabela 9. Frequências com que cada IV hiperespectral contribuiu para cada combinação das variáveis de entrada da RNA com uma camada intermediária

Índices de vegetação hiperespectrais	Frequências
NDVI	20
GNDVI	7
MCARI	9
TCARI	10
DVI	37
RDVI	17

NDVI = índice de vegetação por diferença normalizada; GNDVI = índice de vegetação por diferença do verde normalizada; MCARI = índice de absorção da clorofila modificada; TCARI = índice de absorção da clorofila transformada; DVI = índice de diferença da vegetação; RDVI = índice de vegetação da diferença relativa.

Nas 63 combinações, sem repetição, dos seis IV obtidos de dados multiespectrais. Entre as 100 melhores RNAs, com duas camadas intermediárias, as maiores frequências ocorreram para o DVI (Tabela 10). O índice de vegetação DVI foi o mais representativo para a classificação da antracnose, pois esteve presente em todas as combinações das variáveis de entrada, tanto para IV hiperespectrais, quanto para IV multiespectrais (Tabelas 8, 9, 10 e 11).

Tabela 10. Frequências com que cada IV multiespectral contribuiu para cada combinação das variáveis de entrada da RNA com duas camadas intermediárias

Índices de vegetação multiespectrais	Frequências
NDVI	21
GNDVI	8
MCARI	8
TCARI	9
DVI	38
RDVI	16

NDVI = índice de vegetação por diferença normalizada; GNDVI = índice de vegetação por diferença do verde normalizada; MCARI = índice de absorção da clorofila modificada; TCARI = índice de absorção da clorofila transformada; DVI = índice de diferença da vegetação; RDVI = índice de vegetação da diferença relativa.

O DVI é a diferença entre as reflectâncias das bandas do infravermelho próximo e vermelho. A banda do vermelho (630-685 nm) faz parte do espectro visível, está diretamente relacionada à variação na resposta espectral da folha devido a variação no conteúdo de organelas, como os cloroplastos. A clorofila se localiza no interior dos cloroplastos, a relevância dessa banda pode ser justificada, também, pelo fato que os patógenos causam redução no teor clorofila na planta devido à necrose ou lesões cloróticas (FRANKE e MENZ, 2007; BAURIEGEL et al., 2011). A banda do infravermelho próximo (760 a 850 nm) é uma faixa espectral que indica estresse em plantas. Variação na resposta espectral dessa banda é devido a variações

na estrutura física da planta como a diminuição da biomassa e conteúdo de água (BAURIEGEL et al., 2011). Os cloroplastos utilizam água para realizar a fotossíntese e os patógenos da antracnose causam redução no teor dessas organelas, havendo redução no conteúdo de água nas folhas, ocasionando mudança na resposta espectral da folha infectada.

O DVI foi o índice de vegetação com maior frequência tanto para dados hiperespectrais quanto para dados multiespectrais, mostrando-se mais sensível na discriminação da antracnose.

Tabela 11. Frequências com que cada IV multiespectral contribuiu para cada combinação das variáveis de entrada da RNA com uma camada intermediária

Índices de vegetação multiespectrais	Frequências
NDVI	16
GNDVI	9
MCARI	12
TCARI	10
DVI	41
RDVI	12

NDVI = índice de vegetação por diferença normalizada; GNDVI = índice de vegetação por diferença do verde normalizada; MCARI = índice de absorção da clorofila modificada; TCARI = índice de absorção da clorofila transformada; DVI = índice de diferença da vegetação; RDVI = índice de vegetação da diferença relativa.

Não houve diferença significativa entre os valores dos coeficientes Kappa para RNAs utilizando como vetores de entrada os valores de escores das bandas espectrais (valores de Kappa variando de 33,7% a 41,4%), IV hiperespectrais (valores de Kappa variando de 30,1% a 42,9%), e IV multiespectrais (valores de Kappa variando de 31,9% a 44,2%). Os dados multiespectrais possuem poucas bandas espectrais, caracterizando um sistema mais simples comparado a dados hiperespectrais. Uma vez que RNAs menores generalizam melhor, a rede neural utilizando dados multiespectrais com 1 variável de entrada (o DVI), uma camada escondida com 2 neurônios, por ser mais simples, foi utilizada para a discriminação de folhas saudáveis e infectadas com antracnose. A melhor RNA, para dados multiespectrais, apresentou arquitetura 1 – 2 – 2, utilizou como vetor de entrada o índice de vegetação DVI e obteve coeficiente Kappa de 32%. Melhor análise dessa RNA pode ser feita por meio da sua matriz de confusão (Tabela 12).

Tabela 12. Matriz de confusão com coeficiente Kappa, acurácia do produtor e exatidão global, obtidos com a amostra de teste da RNA, para dados multiespectrais

	Folhas doentes	Folhas saudias	Kappa (%)	Exatidão global (%)
Folhas doentes	340	78	32	79%
Folhas saudias	20	36		
Acurácia do produtor (%)	94	32		

Para verificar se a RNA selecionada apresentou melhor classificação que ao acaso foi aplicado o teste Z (Tabela 13). O valor de Z calculado (Z_c) para essa RNA foi maior que o valor de Z tabelado a 5% de significância ($Z_t = 1,96$), indicando que a classificação da RNA foi melhor que uma classificação randômica.

Tabela 13. Valores do coeficiente Kappa, do Z calculado (Z_c) e da variância para a arquitetura de RNA treinada com dados e multiespectrais como vetores de entrada

Tipos de Dados	Multiespectrais
Arquitetura da RNA	1 – 2 – 2
Kappa (%)	32
Variância	0,0033
Z_c	5,48

3.6. Detecção precoce da antracnose

Dados espectrais foliares se mostraram úteis na detecção de doenças em plantas de feijoeiro. Com base nos resultados obtidos neste trabalho, demonstrou-se que foi possível a discriminação precoce da antracnose em feijoeiro-comum. A doença foi detectada um dia após a inoculação do patógeno com Exatidão Global de 67%, 77% e 64%, nas cultivares Rudá, RBS Supremo e Vermelhinho, respectivamente, três dias antes que os primeiros sintomas característicos da doença se tornassem visíveis, não importando o nível de concentração de conídios mL^{-1} (Tabela 9). Resultados semelhantes a encontrados por outros pesquisadores utilizando doenças fúngicas em plantas de beterraba (BRAVO et al., 2003; CAMARGO e SMITH, 2009; RUMPF et al., 2010). Os resultados mostraram que não houve vantagem ao utilizar os valores de escores das cinco bandas espectrais propostas e nem os IV de dados hiperespectrais, como variáveis de entrada do classificador. Os valores dos coeficientes Kappa para os classificadores foram estatisticamente iguais. A variável de entrada para o melhor classificador foi o IV DVI obtido de dados multiespectrais.

Tabela 9. Resultados, em porcentagem, da classificação de folhas doentes e sadias em função do dia após a inoculação (DAI), para RNA com arquitetura 1 – 2 – 2, utilizando o índice de vegetação DVI multiespectral como variável de entrada

Cultivar	Classes	DAI									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Rudá	F. D.	72	77	82	88	100	92	97	90	-	-
	F. S.	54	46	54	50	29	59	59	79	-	-
	Kappa	24	22	36	41	37	54	62	68	-	-
	EG	67	68	74	77	80	83	87	79	-	-
RBS Supremo	F. D.	90	93	97	92	98	88	85	-	-	-
	F. S.	46	38	28	58	78	75	83	-	-	-
	Kappa	39	36	31	53	75	63	64	-	-	-
	EG	77	77	81	82	91	85	84	-	-	-
Vermelhinho	F. D.	73	78	85	92	93	98	100	97	95	90
	F. S.	42	38	41	46	46	54	58	67	79	88
	Kappa	15	16	28	42	44	60	67	68	76	75
	EG	64	67	73	79	80	86	88	88	90	89

DVI = índice de diferença da vegetação; F.D. = folhas doentes; F.S. = folhas sadias; EG = exatidão global.

4. CONCLUSÕES

O índice por diferença de vegetação (DVI) se mostrou mais eficiente na captura da variância total dos dados de reflectância de folhas infectadas com antracnose.

Os resultados deste trabalho indicaram que índices de vegetação obtidos de dados hiperespectrais não proporcionaram melhora significativa na classificação das folhas, quando comparado com IV de dados multiespectrais.

O classificador por RNA proposto neste trabalho é eficaz na detecção da antracnose em folhas de feijoeiro em estádios iniciais de infecção. Em todos os três níveis de concentrações de conídios mL⁻¹, o classificador obteve bons resultados na discriminação de folhas infectadas no primeiro dia após a inoculação do patógeno, três dias antes que os primeiros sintomas da antracnose se tornassem visíveis.

5. AGRADECIMENTO

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (Fapemig) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelos recursos financeiros disponibilizados para a realização do experimento pela bolsa concedida ao primeiro autor.

6. BIBLIOGRAFIA

BAURIEGEL, E., GIEBEL, A., GEYER, M., SCHMIDT, C., HERPPICH, W. B. Early detection of Fusarium infection in wheat using hyper-spectral imaging. **Computers and Electronics in Agriculture**. v.75, p.304-312, 2011.

BRAVO, C.; MOSHOU, D.; WEST, J.; McCARTNEY, A.; RAMON, H. Early disease detection in wheat fields using spectral reflectance. **Biosystems Engineering**, v.84, n.2, p.137-145, 2003.

CAMARGO, A.; SMITH, J. 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.

CONGALTON, R.G. A review of assessing the accuracy of classifications of remotely sensed data. **Remote sensing of environment**, n. 37 p. 35-46, 1991.

CONGALTON, R. G.; GREEN, K. **Assessing the accuracy of remotely sensed data: principles and practices**. New York: Lewis Publishers, 137p, 1998.

FRANKE, J.; MENZ, G. Multi-temporal wheat disease detection by multi-spectral remote sensing. *Precision Agriculture*, v.8, p.161-172, 2007.

DAUGHTRY, C. S.; WALTHALL, C. L.; KIM, M. S.; COLSTOUN, E. B. Estimating corn leaf chlorophyll concentration from leaf and canopy reflectance. **Remote Sensing of Environment**, v.74, p.229-239, 2000.

HAGAN, M. T.; MENHAJ, M. B. Training feedforward networks with the marquardt algorithm. **IEEE Transactions on Neural Networks**, v.5, n.6, p.989-993, 1994.

HABOUDANE, D.; MILLER, J. R.; TREMBLAY, N.; ZARCO-TEJADA, P. J.; DEXTRAZE, L. Integrated narrow-band vegetation indices for prediction of crop chlorophyll content for application to precision agriculture. **Remote Sensing Environment**, v.81, p.416-426, 2002.

HAIR, J. F.; BLACK, W. C.; BABIN, B. J.; ANDERSON, R. E. **Multivariate data analysis**. 7ed. Pearson Prentice Hall, New Jersey, 758p, 2010.

HAYKIN, S. **Redes Neurais: princípios e prática**. 2ed. Editora Bookman, 900p, 2000.

LIMA, P. R. A.; VIEIRA, B. S.; CRATO, F. F.; LOPES, E. A.; JÚNIOR, J. P. Eficiência de fungicidas no controle da antracnose e da mancha angular do feijoeiro comum. **Cerrado Agrociências**. Patos de Minas: UNIPAM, v.1, p.54-59, 2010.

MACHADO, M. L.; PINTO, F. A. C.; QUEIROZ, D. M.; PAULA JUNIOR, T. J.; VIEIRA, R. F. Estimativa de severidade do mofo-branco em lavouras de feijão utilizando-se sensores hiper e multiespectral. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.19, n.5, p.426-432, 2015.

MAHLEIN, A. K., STEINER, U., HILLNHÜTTER, C., DEHNE, H. W., OERKE, E. C. Hyperspectral imaging for small-scale analysis of symptoms caused by different sugar beet diseases. **Plant Methods**. v.8, n.3, p.1-13, 2012.

PASTOR-CORRALES, M. A. Recomendaciones y acuerdos del primer taller de antracnosis en América Latina. In: PASTOR-CORRALES, M.A. (Ed.). **La antracnosis del frijol común, *Phaseolus vulgaris*, en América Latina**, Cali: CIAT, p. 240-250. 1992.

PONZONI, F. J.; SHIMABUKURO, Y. E. **Sensoriamento remoto no estudo da vegetação**. São José dos Campos, SP: A. Silva Vieira Editora, 127p, 2010.

PRECHELT, L. Automatic early stopping using cross validation: quantifying the criteria. **Neural Networks** , v.11, p.761-767, 1998.

ROUJEAN, J.; BREON, F. Estimating PAR absorbed by vegetation from bidirectional reflectance measurements. **Remote Sensing of Environment**, v.51, p.375-384, 1995.

ROUSE, J. W. J.; HAAS, H. R.; SCHELL, A. J.; DEERING, W. D. Monitoring vegetation systems in the great plains with ERTS. **In: NASA Special Publication 1**, p.309-317, 1974.

RUMPF, T., MAHLEIN, A. K., STEINER, U., OERKE, E. C., DEHNE, H. W., PLÜMER, L. Early detection and classification of plant diseases with support vector machines based on hyperspectral reflectance. **Computers and Electronics in Agriculture**. v.74, p.91-99, 2010.

SIDDIQUI, K.; Heuristics for sample size determination in multivariate statistical techniques. **World Applied Sciences Journal**, v.27, n.2, p.285-287, 2013.

SHARMA, P. N.; BANYAL, K.; RANA, J. C.; NAG, R.; SHARMA, S. K.; PATHANIA, A. Screening of common bean germplasm against *Colletotrichum lindemuthianum* causing bean anthracnose. **Indian Phytopathology**, v.65, n.1, p.99-101, 2012.

SONG, S.; GONG, W.; ZO, B.; HUANG, X. Wavelength selection and spectral discrimination for paddy rice, with laboratory measurements of hyperspectral leaf reflectance. **ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**, v.66, p.672-682, 2011.

SOUSA, B. F. S.; TEIXEIRA, A. S.; SILVA, F. A. T. F.; ANDRADE, E. M.; BRAGA, A. P. S. Avaliação de classificadores baseados em aprendizagem de máquina para a classificação de uso e cobertura da terra no bioma Caatinga. **Revista Brasileira de Cartografia**, v. 2, n.62, p.385-399, 2010.

SOUZA, A. M.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho

médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte 1. **Química Nova**, v.35, n.01, p. 223-229, 2012.

TUCKER, C. J. Red and photographic infrared linear combinations for monitoring vegetation. **Remote Sensing Environment**, v.8, p.127–150, 1979.

YANG, C. M.; CHENG, C. H.; CHEN, R. K. Changes in spectral characteristics of rice canopy infested with brown planthopper and leaffolder. **Crop Science**, v.47, p.329-335, 2007.

YANG, C. M. Assessment of the severity of bacterial leaf blight in rice using canopy hyperspectral reflectance. **Precision Agriculture**, v.11, p.61-81, 2010.

YAO, H.; HUANG, Y.; HRUSCA, Z.; THOMSON, S. J.; REDDY, K. N. Using vegetation index and modified derivative for early detection of soybean plant injury from glyphosate. **Computers and Electronics in Agriculture**, v.89, p.145-157, 2012.

CAPÍTULO 3

Uso de informações espectrais foliares na detecção precoce da murcha-de-fusário em feijoeiro-comum

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo desenvolver um classificador por rede neural artificial para discriminar folhas infectadas com o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, em estágio precoce de infecção, utilizando dados de reflectância foliar. Foram propostas cinco bandas espectrais, que foram utilizadas como variáveis de entrada da rede neural e selecionada aquelas que melhor discriminaram a murcha-de-fusário. Também foram testados seis índices de vegetação de dados hiperespectrais e multiespectrais, como vetores de características da rede neural. Foram utilizados três cultivares de feijoeiro-comum e três concentrações de inoculo da doença. O espectro eletromagnético foi dividido em cinco bandas espectrais. Em cada banda foi feita a análise por componentes principais e com o primeiro componente principal foram gerados os escores de cada banda espectral, que foram utilizados como variáveis de entrada para a rede neural. Os índices de vegetação utilizados foram o índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI), índice por diferença de vegetação (DVI), índice de vegetação da diferença normalizada pelo verde (GNDVI), índice de absorção pela clorofila modificado (MCARI), índice de vegetação pela diferença relativa (RDVI) e índice de absorção pela clorofila transformado (TCARI). O classificador mais eficiente utilizou o índice DVI, obtido de dados multiespectrais, como variável de entrada e com duas camadas escondidas. Os resultados indicaram que o uso de dados hiperespectrais não apresentou melhora significativa na classificação, quando comparado com dados multiespectrais. O classificador não detectou a murcha-de-fusário precocemente. O classificador se mostrou eficiente na discriminação de folhas infectadas e sadias, depois que os primeiros sintomas se tornaram visíveis. O classificador obteve coeficiente Kappa de 0,21 na classificação um dia após o surgimento dos primeiros sintomas característicos da doença.

Palavras-chaves: Componentes principais, discriminar, seleção, variáveis, radicular.

ABSTRACT

The objective of this study was to develop an artificial neural network classifier to discriminate infected leave with the fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, at an early stage of infection, using leaf reflectance data. Five spectral bands have been proposed, which were used as the neural network input variables and selected those that best discriminated fusarium wilt. Six vegetation indexes from hyperspectral and multispectral data were tested as vectors of characteristics of the neural network. Three cultivars of common bean and three concentration of inoculum were used. The electromagnetic spectrum was divided into five spectral bands. In each band was made a principal component analysis and with the first principal component were generated the scores of each spectral band, which were used as input variables for the neural network. The vegetation indices used were normalized difference vegetation index (NDVI), difference vegetation index (DVI), green normalized difference vegetation index (GNDVI), modified chlorophyll absorption in reflectance index (MCARI), relative difference vegetation index (RDVI) and transformed chlorophyll absorption reflectance index (TCARI).. The most efficient classifier used the DVI index obtained from multispectral data, as input variable and with two hidden layers. The result indicated that the use of hyperspectral data did not result in any significant improvement in classification, compared with the multispectral data. The classifier did not detect fusarium wilt prematurely. The classifier was efficient in discriminating infected and healthy leaves after the first symptoms become visible. The classifier got Kappa coefficient of 0.21 in the classification a day after the appearance of the first symptoms characteristic of the disease.

Key-words: Principal components, discriminate, selection, variables, root.

1. INTRODUÇÃO

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é atacado por várias doenças, entre elas o amarelecimento ou murcha-de-fusário, causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, e que ocorre praticamente em todo o Brasil. A murcha-de-fusário é uma doença radicular (podridão radicular) e entre seus principais efeitos incluem a redução do estande e do vigor das plantas. A redução na produtividade podem alcançar 80% (PEREIRA et al., 2011), com aumento de incidência em áreas

onde o cultivo é intenso (TOLEDO-SOUZA et al., 2009). O monitoramento da lavoura é importante para evitar que a doença se alastre por toda a plantação.

Técnicas de sensoriamento remoto podem ser utilizadas para monitorar mudanças nas respostas espectrais da vegetação, identificando estresses em culturas. Dessa maneira, se torna uma ferramenta importante para a estimativa de parâmetros biofísicos da planta. Vários estudos têm mostrado o uso da reflectância de folhas na região espectral do visível (400 - 700 nm) e do infravermelho próximo (700 - 1.000 nm), para detectar mudanças no vigor das plantas com ênfase em doenças fúngicas (MAHLEIN et al., 2010; RUMPF et al., 2010). A interação do patógeno com a planta pode causar modificações nos pigmentos, conteúdo de água e funcionalidade dos tecidos vegetais. Esses fatores causam modificações nas características espectrais das plantas (MAHLEIN et al., 2012).

Os índices de vegetação (IV) são utilizados para estimar parâmetros da vegetação. Os IVs são operações algébricas entre os valores de reflectância envolvendo duas ou mais faixas espectrais. Seu objetivo é extrair e ampliar as informações acerca da vegetação. Rumpf et al. (2010) utilizaram oito IV para auxiliar na detecção precoce de três doenças fúngicas em plantas de beterraba. Yao et al. (2012) utilizaram IVs para determinar precocemente estresse em plantas de soja causado pelo uso de glifosato.

O uso de dados hiperespectrais envolve grande número de variáveis e um dos problemas relacionados à alta dimensionalidade dos dados é a imposição de exigências sobre o tamanho da amostra (número de observações). Entre as alternativas existentes para reduzir a dimensionalidade dos dados, há a análise por componentes principais (ACP) como uma das mais populares.

Este trabalho teve por objetivo: (1) selecionar os IVs, de dados hiperespectrais e multiespectrais, mais representativos da variância total dos dados, que serão utilizados como variáveis de entrada do classificador; (2) desenvolver e comparar classificadores por redes neurais artificiais para discriminar folhas infectadas com murcha-de-fusário em três concentrações de inoculo da doença.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, nos meses de outubro a dezembro de 2013, com temperatura de 24 ± 1 °C e umidade relativa do ar

de $80 \pm 5\%$, na cidade de Viçosa, latitude $20^{\circ} 45' 14''$ Sul e longitude $42^{\circ} 52' 55''$ Oeste, no estado de Minas Gerais. Para a coleta das respostas espectrais das folhas do feijoeiro foram conduzidos experimentos utilizando três cultivares de feijão representantes de três grupos comerciais: carioca (Rudá), preto (RBS Supremo) e vermelho (Vermelhinho), dada a importância econômica de cada grupo e a suscetibilidade à murcha-de-fusário. Em cada vaso, foram cultivadas duas plantas da mesma cultivar de feijoeiro, em 0,415 L de substrato (Tropstrato HT[®], Vida Verde, Mogi Mirim, SP, Brasil).

Foi realizado um experimento para cada cultivar. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC), com quatro concentrações de conídios/mL [zero (controle), $1,0 \times 10^4$ (baixa), $1,0 \times 10^5$ (média) e $1,0 \times 10^6$ (alta) conídios/mL], com seis repetições. O experimento foi repetido nos meses de janeiro a março de 2014.

2.1. Inoculação com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*

O inoculo de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, de raça FOP-UFV-01, obtido no Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO/UFV). Para a produção do inoculo, pequenos segmentos (0,4 cm de diâmetro) de uma colônia de FOP-UFV-01 foram repicados em placas de Petri contendo meia batata-dextrose-água (BDA). Posteriormente estas foram mantidas em câmaras do tipo BOD, sob iluminação contínua, com temperatura de 24 ± 1 °C durante 10 dias. A suspensão de conídios foi preparada minutos antes de cada inoculação. Em casa de vegetação foram semeadas 30 sementes de cada cultivar de feijoeiro em bandejas de isopor (68 x 35 cm) com 128 células. Quatro dias após o plantio a maioria das sementes germinou. Seis dias após o plantio foi feito o transplante das plantas de feijoeiro para os vasos plásticos. Para a inoculação com patógenos de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, as plantas foram retiradas das bandejas de isopor e as raízes lavadas com água corrente de acordo com a metodologia apresentada por Dongo e Müller (1969). Após a lavagem das raízes das plantas, um terço do comprimento das raízes foi cortado com o auxílio de uma tesoura, em seguida foram imersas numa suspensão na concentração de 1×10^4 (baixa) conídios/mL (macro e microconídios) por 5 min. Este procedimento foi repetido nas concentrações de 1×10^5 (média) e 1×10^6 (alta)

conídios/mL, para estudo das três concentrações de conídios/mL. Depois as plantas foram transplantadas para vasos com 2,5 L de substrato.

A avaliação das plantas foi realizada diariamente após a inoculação, com base na escala descrita por Pastor-Corrales e Abawi (1987), em que: 1 = nenhum sintoma foliar ou vascular; 3 = de 1 a 10% de folhas sintomáticas, suave murchamento de plantas e descoloração vascular do hipocótilo; 5 = de 11 a 25% de folhas sintomáticas, moderada murcha nas plantas, descoloração vascular extensa até o primeiro nó; 7 = 26 a 50% de folhas sintomáticas, severa murcha de plantas e descoloração vascular por toda a haste e pecíolo e 9 = planta morta.

2.2. Medição das respostas espectrais das folhas do feijoeiro

Em cada vaso, foram escolhidas quatro folhas completamente desenvolvidas para as medidas de reflectância espectral, feitas diariamente após a inoculação, no mesmo período do dia, entre 10:00 e 14:00 h, durante 21 dias após a inoculação do patógeno (DAI). Durante os dois experimentos foram realizadas, para as quatro concentrações de inoculo, 4.874 medidas de reflectância, sendo que 1.106 foram em plantas sadias e 3.768 em plantas infectadas.

A reflectância espectral foliar foi medida com o espectrorradiômetro ASD FieldSpec Pro FR (Analytic Spectral Devices, Boulder, EUA), com a sonda “plant probe” para medidas de contato com a folha. Essa sonda possui uma lâmpada de halogênio integrada de 100 W, que foi ligada 90 minutos antes de cada coleta de dados para sua estabilização. O espectrorradiômetro possui faixa espectral entre 350-1.100 nm e a faixa útil de leitura foi entre os valores 400 e 900 nm, descartando os dados espectrais ruidosos nos extremos. A calibração do espectrorradiômetro utilizando a referência do branco, com placa de Spectralon (Labsphere, North Sutton, EUA), foi feita no início de cada coleta de dados e depois a intervalos regulares de 15 minutos. O tempo de medida de cada leitura foi ajustado para 544 ms, sendo que cada coleta de reflectância, em cada folha, foi a média de 10 leituras efetuadas pelo espectrorradiômetro.

2.3. Desenvolvimento do classificador

Os dados originais tinham grande número de variáveis (751 comprimentos de onda) em relação ao número de repetições (4.874 repetições). Há literaturas que recomendam, no mínimo, 20 repetições por variável mensurada (HAIR et al.,2010; SIDDIQUI, 2013). Para redução do número de variáveis, o conjunto de dados originais foi dividido em cinco bandas espectrais, de acordo com as bandas espectrais dos satélites do sistema RapidEye (Tabela 1).

Tabela 1. Bandas espectrais com seus respectivos intervalos de comprimentos de onda e número de comprimentos de ondas determinados experimentalmente

Bandas Espectrais	Intervalo de comprimento de ondas (nm)	Número de comprimentos de ondas
Azul	440 – 510	70
Verde	520 – 590	70
Vermelho	630 – 685	55
Red edge	690 – 730	40
Infravermelho próximo	760 – 850	90

A divisão de cada amostra nessas cinco bandas espectrais, também, foi devido à relação direta que cada banda espectral tem com partes constituintes das folhas do feijoeiro. No espectro visível (380-760 nm), a mudança na resposta espectral da folha é devido à variação no conteúdo de organelas, como carotenoides e clorofila. No infravermelho próximo (760–1.200 nm), as variações nas respostas espectrais são devido a variações na estrutura física da folha (BAURIEGEL et al., 2011).

Como em uma mesma banda espectral é esperada uma forte correlação entre as variáveis, a aplicação da ACP em cada banda reduz a dimensionalidade dos dados. A ACP gera novas variáveis, não correlacionadas, chamadas componentes principais. Espera-se que a maior parte da variância dos dados originais seja retida em poucos componentes principais. Com esses componentes principais calcularam-se os escores de cada amostra de conjunto de dados de cada banda. Esses valores de escores foram as características utilizadas como vetores de entrada da rede neural artificial (RNA).

A partir dos vetores de características das folhas sadias e infectadas, foi realizado o teste de médias T^2 de Hotelling, para verificar se houve diferença significativa entre as classes de interesse, ao nível de 0,05.

Antes de efetuar a análise por componentes principais, todos os dados foram centrados na média. Assim, cada variável passa a ter média zero, ou seja, as coordenadas são movidas para o centro dos dados, permitindo que diferenças nas intensidades relativas das variáveis sejam mais fáceis de perceber (SOUZA e POPPI, 2012).

2.3.1. Índices de vegetação

Foram calculados seis índices de vegetação comuns à espectrometria hiperespectral e multiespectral (Tabela 2): Normalized Difference Vegetation Index – NDVI (Rouse et al., 1974); Green Normalized Difference Vegetation Index – GNDVI (Yang et al., 2007); Difference Vegetation Index – DVI (Tucker, 1979); Modified Chlorophyll Absorption Reflectance Index – MCARI (Daughtry et al., 2000); Transformed Chlorophyll Absorption Reflectance Index – TCARI (Haboudane et al., 2002); Relative Difference Vegetation Index – RDVI (Roujean e Breon, 1995).

Tabela 2. Índices de vegetais utilizados com dados hiperespectrais e multiespectrais

Índices	Hiperespectral	Multiespectral
NDVI	$(R_{800} - R_{670}) / (R_{800} + R_{670})$	$(NIR - R) / (NIR + R)$
DVI	$R_{800} - R_{680}$	$NIR - R$
GNDVI	$(R_{800} - R_{550}) / (R_{800} + R_{550})$	$(IR - G) / (IR + G)$
MCARI	$[(R_{700} - R_{670}) - 0,2.(R_{700} - R_{550})].R_{700} / R_{670}$	$[(RE - R) - 0,2.(RE - G)].RE/R$
RDVI	$\sqrt{NDVI \cdot DVI}$	$\sqrt{NDVI \cdot DVI}$
TCARI	$3.[(R_{700} - R_{670}) - 0,2.(R_{700} - R_{550}).(R_{700} / R_{670})]$	$3.[(RE - R) - 0,2.(RE - G).(RE/R)]$

R_x = Valor da reflectância no comprimento de onda x. R = reflectância no vermelho; G = reflectância no verde; RE = reflectância no red-edge; NIR = reflectância no infravermelho próximo.

As bandas espectrais do azul (B), do verde (G), do vermelho (R), do red-edge (RE) e do infravermelho próximo (NIR), de dados multiespectrais, foram simulados calculando a média das leituras das reflectâncias nas bandas dos satélites do sistema RapidEye (Tabela 1).

2.3.2. Treinamento e arquitetura das redes neurais

Neste trabalho foram treinadas redes neurais artificiais (RNA) do tipo *Multi Layer Perceptron* para classificação de folhas de feijoeiro utilizando dados de reflectância. A RNA foi treinada utilizando o pacote de ferramentas de RNA do programa computacional Matlab (MathWorks, Natick, EUA). Diferentes arquiteturas de redes neurais foram testadas. Os escores calculados com o CP1 das cinco bandas espectrais propostas foram testadas, individualmente e combinadas, como vetores de características utilizadas como entrada da RNA. Os seis IV hiperespectrais e multiespectrais, utilizados neste trabalho, também foram testados, individualmente e combinados, como variáveis de entrada do classificador.

Foram desenvolvidas RNAs com arquiteturas utilizando duas camadas intermediárias com diferentes números de neurônios (n_1 e n_2) e dois neurônios na camada de saída (duas classes: sadia e infectada). Os números de neurônios testados, tanto na primeira quanto na segunda camada intermediária, foram de: 2, 4, 6, 8 e 10. Dessa forma, foram treinadas 25 RNAs para cada conjunto de variável de entrada, com diferentes neurônios nas camadas intermediárias. A função de ativação da primeira e segunda camada escondida foi a tangente hiperbólica e na camada de saída foi a sigmóide. Foi utilizado o algoritmo de retropropagação do erro, com a variação proposta por Levenberg-Marquardt (HAGAN e MENHAJ, 1994).

O conjunto de dados teve 4.874 amostras, sendo que 2.924 foram utilizadas para treinamento, 975 para validação e 975 para teste. Todos os conjuntos de dados foram escolhidos de forma que estariam presentes medidas de reflectância de folhas sadias e infectadas. O método “*parada mais cedo*”, descrito por Haykin (2000), foi utilizado para interromper o treinamento da RNA. Este método utiliza o conjunto de validação para interromper a atualização dos parâmetros livres da RNA durante o treinamento e, assim, evitar o sobreajuste aos dados (“*overfitting*”). Durante o treinamento, o erro quadrático médio (EQM) é calculado para a amostra de treinamento e para a amostra de validação. O treinamento é interrompido quando o EQM da validação supera o de treinamento.

No início do treinamento os parâmetros da RNA são gerados aleatoriamente e esses valores podem influenciar o resultado final do treinamento. Dessa maneira, cada arquitetura foi treinada dez vezes. Entre essas dez RNAs treinadas, escolheu-se a que apresentou o maior índice Kappa com a amostra de teste. Para avaliar a

diferença entre dois índices Kappa, foi utilizado o teste Z, de acordo com Congalton e Green (1998), com um nível de significância de 5%. A partir desse conjunto de teste foi possível construir a matriz de confusão da classificação e determinar o índice Kappa (CONGALTON, 1991; SOUSA et al., 2010) para avaliar o desempenho da classificação da RNA.

2.4. Detecção precoce do fusário

Para a detecção da murcha-de-fusário, antes que seus primeiros sintomas se tornassem visíveis, foi utilizada a RNA que apresentou, estatisticamente, o maior índice Kappa. Foi utilizado um conjunto de dados com 14 amostras de plantas saudas, 24 amostras de plantas infectadas para cada nível de infestação, totalizando 38 amostras, para cada concentração de inoculo da doença. Diariamente, esse conjunto de dados foi separado para a detecção precoce da doença. As amostras desse conjunto de dados não fizeram parte do conjunto de treinamento, validação ou teste da RNA.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Desenvolvimento da doença

As plantas de feijoeiro não inoculadas com o patógeno, que serviram de controle para o experimento, permaneceram saudas durante todo o período de coleta de dados. As plantas inoculadas permaneceram sem apresentar nenhum sintoma da murcha-de-fusário durante o período de latência da doença. Após o período de latência os sintomas típicos da doença apareceram. Na cv. Rudá os primeiros sintomas surgiram aos 10 dias após a inoculação do patógeno (DAI), na Vermelho os primeiros sintomas surgiram aos 12 DAI e na RBS Supremo os primeiros sintomas surgiram aos 4 DAI (Tabela 3). Os sintomas mais visíveis da murcha-de-fusário foram observados na parte aérea da planta, onde poucas folhas murcharam, amarelaram e caíram a partir da base da planta. O sintoma mais perceptível foi o menor desenvolvimento das plantas infectadas, em relação às plantas controle.

Tabela 3. Severidade média da murcha-de-fusário, para as três concentrações de conídios/mL, em relação ao número de dias após a inoculação (DAI) dos patógenos da cv. Rudá

Cultivar	Concentração	DAI																				
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Rudá	Baixa	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,1	1,2	1,4	2,0	2,1	2,2	2,6	2,7	3,1
	Média	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,1	1,1	1,2	1,6	2,2	2,4	2,7	3,2	3,5	3,7
	Alta	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,1	1,2	1,2	1,6	1,9	2,7	3,1	3,3	3,6	3,9	4,1
Vermelhinho	Baixa	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,1	1,2	1,3	1,9	2,0	2,6	2,7	3,1	
	Média	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,1	1,4	1,8	1,9	2,3	2,6	3,2	3,5	4,1	
	Alta	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,1	1,4	1,7	1,9	2,2	2,8	3,1	3,7	4,2	4,8	
RBS Supremo	Baixa	1	1	1	1	1	1	1,1	1,6	2,1	2,8	2,9	3,2	3,3	3,7	4,0	4,2	4,9	5,2	5,5	5,8	6,2
	Média	1	1	1	1	1	1	1,2	1,6	2,4	3,0	3,1	3,4	3,9	4,2	4,4	5,7	5,7	6,2	6,2	6,4	6,6
	Alta	1	1	1	1,2	1,6	4,3	7,1	8,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Severidade média da murcha-de-fusário com base no uso de escala de notas de 1 a 9, de acordo com a metodologia proposta por Pastor-Corrales (1992).

Nas cultivares Rudá e Vermelinho o sintoma mais comum foi o crescimento das plantas. As plantas infectadas tiveram o crescimento prejudicado pela infestação do patógeno. Essas plantas apresentaram tamanho inferior ao das plantas controle. Esse fato está relacionado à colonização das raízes das plantas pelo patógeno. A infecção, causada pelo patógeno nos vasos condutores de seiva, prejudica o transporte de nutrientes e água para outras partes da planta dificultando seu desenvolvimento. A cv. RBS Supremo apresentou os sintomas mais agressivos da doença na concentração alta do inoculo. Os primeiros sintomas característicos surgiram no quarto DAI e no nono DAI as plantas estavam completamente mortas (Tabela 3). Os sintomas se expressaram na redução do crescimento das plantas, clorose e queda das folhas, murcha e morte das plantas. Para as concentrações baixa e média, os sintomas observados foram pouca perda de turgescência e redução no crescimento das plantas.

3.2. Teste entre os vetores de médias das classes

A diferença entre as médias de classes de folhas infectadas ou sadias foi significativa ao nível de 5% de probabilidade pelo teste T^2 de Hotelling (Tabela 4). Isto mostra que o desenvolvimento de um classificador para discriminar entre as duas classes pode ser viável.

Tabela 4. Valores de F calculado (F_c) para o teste T^2 de Hotelling, para comparar dois vetores de médias das reflectâncias

	T^2 de Hotelling	F_c
Valor	7,72	5,02

F_c = valor calculado da estatística F correspondente a estatística T^2 de Hotelling.

3.3. Análise por componentes principais

Com a ACP houve uma redução de 751 variáveis originais para cinco novas variáveis independentes, uma para cada banda espectral, retendo mais de 91,4% da variância total dos dados originais no primeiro componente principal (Tabela 5). Com esses componentes principais foram gerados os escores de cada banda. Esses valores de escores foram utilizados como vetores de entrada da RNA.

Tabela 5. Valores, em porcentagem, da variância dos dados retida pelo primeiro componente principal (CP1) de cada banda espectral

	Banda azul	Banda verde	Banda vermelha	Red edge	Infravermelho próximo
CP1	94,6	99,2	96,5	91,4	99,7

3.4. Classificador por redes neurais artificiais

Os classificadores, que utilizaram como vetores de características os escores gerados pelo CP1 das cinco bandas espectrais propostas neste trabalho, tiveram coeficientes Kappa estatisticamente iguais a zero. Todos os classificadores apresentaram desempenho igual a uma classificação aos acaso. Os escores das bandas espectrais isolados ou em combinação não discriminaram, precocemente, plantas sadias das infectadas com patógenos da murcha-de-fusário. Os classificadores que utilizaram IVs como variável de entrada, os que apresentaram os melhores resultados na discriminação de folhas infectadas utilizaram como vetor de características o DVI (Tabela 6). A coluna com os valores de Z calculado (Z_c) são maiores que o valor de Z tabelado (1,96), indicando que a classificação de ambas as RNAs é significativamente melhor que uma classificação ao acaso. Não houve diferença significativa entre os valores dos coeficientes Kappa para a RNA utilizando o DVI obtido de dados hiperespectrais e multiespectrais (Tabela 6).

Tabela 6. Valores do coeficiente Kappa, variância e número de neurônios nas duas camadas intermediárias para as RNAs de melhores desempenhos para dados hiperespectrais e multiespectrais

Tipos de dados	n1	n2	Coeficiente Kappa	Variância	Zc
Hiperespectrais	2	2	0,29	0,0081	3,24*
Multiespectrais	2	2	0,25	0,0092	2,58*

* = significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Z. n_1 e n_2 = número de neurônios na primeira e segunda camadas escondidas, respectivamente.

Os classificadores que utilizaram o NDVI, GNDVI, MCARI, TCARI e RDVI, isolados ou uma combinação deles, como variáveis de entrada, tiveram coeficientes Kappa estatisticamente iguais a zero indicando desempenho igual a uma classificação ao acaso. Foi possível verificar que a utilização de dados hiperespectrais não implicou em melhora significativa na classificação quando comparada com dados multiespectrais, os valores dos coeficientes Kappa foram estatisticamente iguais, no entanto, ambos coeficientes foram melhor que uma

classificação ao acaso (Tabela 6). O índice DVI se mostrou mais sensível, como variável de entrada, na discriminação de folhas infectadas. Isso pode ser justificado pelo fato que o DVI determinado pela diferença entre as bandas NIR e vermelho. Após a colonização das raízes do feijoeiro, o patógeno move-se inter e intracelularmente até invadir os vasos do xilema até que todo o sistema vascular esteja colonizado (EMBRAPA, 2006). Isso afeta diretamente o transporte de nutrientes e água até as organelas fotossintetizantes localizadas nas folhas, causando mudança na resposta espectral da mesma (MAHLEIN et al., 2012). A banda do vermelho faz parte do espectro visível, sendo sensível à variações no conteúdo de organelas como os cloroplastos, que foram prejudicados pela diminuição na taxa de nutrientes que chegaram às folhas. A banda do NIR é sensível a variações na estrutura física da planta, como o conteúdo de água (PONZONI e SHIMABUKURO, 2010). Este conteúdo também ficou prejudicado pela colonização do patógeno nos vasos condutores das raízes e caule do feijoeiro. No entanto, vale salientar que o objeto de estudo da classificação foi uma doença radicular que interferiu pouco na parte aérea da planta, ocasionando pequenas variações nas respostas espectrais das folhas. Na cv. RBS Supremo, com concentração de inoculo média, a classe que apresentou a maior confusão foi a de folhas saudias, onde 40,7% (Tabela 7) das folhas que deveriam ser classificadas para essa classe foram classificadas como infectadas. Essa confusão pode ser atribuída ao fato de que o patógeno pouco afetou as folhas do feijoeiro, que permaneceram com aspecto de saudias durante todo o período de coleta dos dados.

Tabela 7. Matriz de confusão da classificação pela RNA com arquitetura 1 – 2 – 2 – 2, com o índice de vegetação DVI multiespectral como variável de entrada da RBS Supremo na concentração média de inoculo

Classes	Folhas infectadas	Folhas saudias	Exatidão global
Folhas infectadas	170	33	67%
Folhas saudias	74	48	
Acurácia do produtor	69,7%	59,3%	
Kappa	0,25		

DVI = índice por diferença de vegetação.

A maior influência da infecção foi no tamanho das plantas. Devido à infecção no sistema de transporte de nutrientes, as plantas infectadas ficaram com estaturas menores que as plantas controle. Indicando maior influência da murcha-defusário na estrutura física da planta, o que não foi detectado nas medições foliares.

Talvez uma medição da resposta espectral do dossel acusaria maior variação em função da doença.

3.5. Detecção precoce da murcha-de-fusário

Os melhores classificadores utilizaram o índice DVI como variável de entrada, para as três cultivares, e apresentaram valores do coeficiente Kappa significativos ao nível de 5% pelo teste Z (Tabela 8). Com os valores de Z calculados (Z_c) maiores que o valor de Z tabelado ($Z_t = 1,96$), os classificadores foram melhores que classificação ao acaso.

Tabela 8. Valores do coeficiente Kappa, variância e número de neurônios nas duas camadas intermediárias para as RNAs de melhores desempenhos na classificação

Cultivar	n1	n2	Coeficiente Kappa	Variância	Zc
Rudá	10	4	0,29	0,0081	3,24*
Vermelhinho	8	8	0,24	0,0075	2,77*
RBS Supremo	2	2	0,25	0,0092	2,58*

* = significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Z; $Z_c = Z$ calculado; n_1 e n_2 = número de neurônios na primeira e segunda camadas intermediárias, respectivamente.

Os melhores resultados obtidos pelo classificador na detecção da murcha-de-fusário foram para a RBS Supremo, para a concentração média de conídios/mL. O melhor classificador foi o que teve a arquitetura 1 – 2 – 2 – 2, com o índice DVI multiespectral como variável de entrada. Esse classificador não conseguiu discriminar a murcha-de-fusário precocemente. Somente aos 8 DAI, um dia após os primeiros sintomas característicos se tornarem visíveis, a RNA apresentou classificação melhor que o acaso, com um coeficiente Kappa igual a 0,21 (Tabela 9). Os melhores resultados na classificação ocorreram aos 15 DAI, com Kappa de 0,49. Isso pode estar relacionado ao fato de que a murcha-de-fusário é uma doença radicular e que as alterações na folha ocorrem de forma secundária, devido à falta de nutrientes e água, ocasionada pela infecção do patógeno nos vasos transportadores da planta (HENRIQUE, 2012; DIAS et al., 2013). Houve aumento no valor do coeficiente Kappa com o passar dos dias após a inoculação do patógeno. Indicando que houve variação na resposta espectral das folhas infectadas quando comparada com as sadias. Todavia, essa variação não foi suficiente para obter resultados semelhantes aos de discriminação de doenças foliares como obtidos por Rumpf et al. (2010), Bauriegel et al. (2011) e Mahlein et al. (2012).

Tabela 9. Valores, em porcentagem, da acurácia do produtor, exatidão global e coeficiente Kappa em função dos dias após a inoculação (DAI), para a classificação da cv. RBS Supremo e concentração média de inoculo

Classes	DAI																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Infectada	33,3	37,5	33,3	41,7	41,7	45,8	54,2	58,3	62,5	83,3	79,2	72,0	65,2	69,6	73,9	60,9	65,2	63,6	77,3	68,2	59,1
Sadia	42,9	50,0	57,1	50,0	57,1	42,9	42,9	64,3	69,2	64,3	50,0	53,9	61,5	69,2	76,9	69,2	69,2	61,5	53,9	61,5	78,6
Exatidão Global	36,8	42,1	42,1	44,7	47,4	44,7	50,0	60,5	65,8	76,3	68,4	65,8	63,9	71,1	75,7	64,7	66,7	61,8	69,7	64,7	65,7
Kappa	-0,21	-0,11	-0,15	-0,08	-0,01	-0,11	-0,03	0,21	0,32	0,48	0,30	0,28	0,25	0,40	0,49	0,31	0,33	0,21	0,32	0,26	0,36

Do primeiro ao sétimo DAI, os valores do coeficiente Kappa indicaram uma classificação pior que uma classificação ao acaso (Tabela 9). Isso pode estar relacionado ao fato de que o patógeno penetra na planta pela raiz, colonizando os vasos radiculares primeiramente. Depois que os vasos radiculares estiverem colonizados, são colonizados os vasos do xilema e haverá deficiência de seiva para as partes aéreas da planta (DIAS et al., 2013). Após isto, haverá alterações na estrutura física e química das folhas. Com essas alterações, ocorrerão mudanças na reflectância foliar (MAHLEIN et al., 2012). Como o patógeno infectou a planta jovem, o único sintoma detectado foi redução no desenvolvimento da mesma. Pouca perda de turgescência foi detectada durante o experimento, afetando pouco a reflectância das folhas infectadas (HENRIQUE, 2012).

Com base nos resultados obtidos foi possível verificar a possibilidade da discriminação entre folhas infectadas com patógeno da murcha-de-fusário e folhas saudáveis, após os primeiros sintomas se tornarem visíveis. Para os estádios precoces da doença, a RNA não foi eficiente na classificação quando comparada com resultados obtidos por outros trabalhos (RUMPF et al., 2010; BAURIEGEL et al., 2011; MAHLEIN et al., 2012) que utilizaram respostas espectrais foliares de plantas de beterraba infectadas por doenças fúngicas.

4. CONCLUSÕES

O melhor classificador foi o que utilizou como variável de entrada o índice por diferença de vegetação (DVI), obtido de dados multiespectrais.

Não houve melhora significativa na classificação ao se utilizar o índice de vegetação (IV) obtido de dados hiperespectrais, quando comparados com IVs obtidos de dados multiespectrais.

O melhor classificador, com arquitetura 1 – 2 – 2 – 2, que utilizou o DVI multiespectral, conseguiu discriminar folhas infectadas, com coeficiente Kappa de 0,21, após os primeiros sintomas da doença se tornassem visíveis, para a RBS Supremo na concentração média de concentração de conídios/mL.

O classificador não mostrou eficiência na discriminação precoce da murcha-de-fusário.

Trabalhos futuros propondo novos métodos junto às técnicas de sensoriamento remoto poderão ser realizados com o intuito de aumentar a acurácia na detecção precoce de doenças radiculares em plantas de feijoeiro.

5. AGRADECIMENTO

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (Fapemig) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelos recursos financeiros disponibilizados para a realização do experimento pela bolsa concedida ao primeiro autor.

6. BIBLIOGRAFIA

BAURIEGEL, E., GIEBEL, A., GEYER, M., SCHMIDT, C., HERPPICH, W. B. Early detection of Fusarium infection in wheat using hyper-spectral imaging. **Computers and Electronics in Agriculture**. v.75, p.304-312, 2011.

CONGALTON, R.G. A review of assessing the accuracy of classifications of remotely sensed data. **Remote sensing of environment**, n. 37 p. 35-46, 1991.

CONGALTON, R. G.; GREEN, K. **Assessing the accuracy of remotely sensed data: principles and practices**. New York: Lewis Publishers, 137p, 1998.

DAUGHTRY, C. S.; WALTHALL, C. L.; KIM, M. S.; COLSTOUN, E. B. Estimating corn leaf chlorophyll concentration from leaf and canopy reflectance. **Remote Sensing of Environment**, v.74, p.229-239, 2000.

DIAS, P. P.; BERBARA, R. L. L.; FERNANDES, M. C. A. Controle de *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* por biopreparados de isolados de *Trichordema* spp. **Summa Phytopathol.**, Botucatu – SP, v. 39, n.4, p.258-262, 2013.

DONGO, S. L.; MÜLLER, L. E. Estudios sobre la patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* en el frijol. II. Pruebas varietales. **Turrialba**. v.19, p.82-90, 1969.

HABOUDANE, D.; MILLER, J. R.; TREMBLAY, N.; ZARCO-TEJADA, P. J.; DEXTRAZE, L. Integrated narrow-band vegetation indices for prediction of crop chlorophyll content for application to precision agriculture. **Remote Sensing Environment**, v.81, p.416-426, 2002.

HAGAN, M. T.; MENHAJ, M. B. Training feedforward networks with the marquardt algorithm. **IEEE Transactions on Neural Networks**, v.5, n.6, p.989-993, 1994.

HAIR, J. F.; BLACK, W. C.; BABIN, B. J.; ANDERSON, R. E. **Multivariate data analysis**. 7ed. Pearson Prentice Hall, New Jersey, 758p, 2010.

HAYKIN, S. **Redes Neurais: princípios e prática**. 2ed. Editora Bookman, 900p, 2000.

HENRIQUE, F. H. **Melhoramento do feijoeiro para resistência ao *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*: Identificação de raças e introgressão de resistência**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Instituto Agronômico de Campinas, Campinas – SP, 55p, 2012.

MAHLEIN, A. K.; STEINER, U.; DEHNE, H. W.; OERKE, E. C. Spectral signatures of sugar beet leaves for the detection and differentiation of diseases. **Precision Agriculture**, v.11, p.413-431, 2010.

MAHLEIN, A. K., STEINER, U., HILLNHÜTTER, C., DEHNE, H. W., OERKE, E. C. Hyperspectral imaging for small-scale analysis of symptoms caused by different sugar beet diseases. **Plant Methods**. v.8, n.3, p.1-13, 2012.

PASTOR-CORRALES, M. A.; ABAWI, G. S. Reactions of selected bean germplasm to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Plant Disease**, v.71, n.11, p.990-993, 1987.

PEREIRA, M. J. Z.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Reação de linhagens de feijoeiro ao fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em condições controladas. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras – MG, v.35, n.5, p.940-947, 2011.

PONZONI, F. J.; SHIMABUKURO, Y. E. Sensoriamento remoto no estudo da vegetação. A. Silva Vieira Ed., São José dos Campos – SP, 127p, 2010

ROUJEAN, J.; BREON, F. Estimating PAR absorbed by vegetation from bidirectional reflectance measurements. **Remote Sensing of Environment**, v.51, p.375-384, 1995.

ROUSE, J. W. J.; HAAS, H. R.; SCHELL, A. J.; DEERING, W. D. Monitoring vegetation systems in the great plains with ERTS. **In: NASA Special Publication1**, p.309-317, 1974.

RUMPF, T., MAHLEIN, A. K., STEINER, U., OERKE, E. C., DEHNE, H. W., PLÜMER, L. Early detection and classification of plant diseases with support vector machines based on hyperspectral reflectance. **Computers and Electronics in Agriculture**. v.74, p.91-99, 2010.

SIDDIQUI, K.; Heuristics for sample size determination in multivariate statistical techniques. **World Applied Sciences Journal**, v.27, n.2, p.285-287, 2013.

SOUZA, A. M.; POPPI, R. J. Experimento didático de quimiometria para análise exploratória de óleos vegetais comestíveis por espectroscopia no infravermelho

médio e análise de componentes principais: um tutorial, parte 1. **Química Nova**, v.35, n.01, p. 223-229, 2012.

SOUSA, B. F. S.; TEIXEIRA, A. S.; SILVA, F. A. T. F.; ANDRADE, E. M.; BRAGA, A. P. S. Avaliação de classificadores baseados em aprendizagem de máquina para a classificação de uso e cobertura da terra no bioma Caatinga. **Revista Brasileira de Cartografia**, v. 2, n.62, p.385-399, 2010.

TOLEDO-SOUZA, E. D.; LOBO JÚNIOR, M.; SILVEIRA, P. M.; CAFÉ FILHO, A. C. Interações entre *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* e *Rhizoctonia solani* na severidade da podridão radicular do feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia – GO, v.39, n.1, p.13-17, 2009.

TUCKER, C. J. Red and photographic infrared linear combinations for monitoring vegetation. **Remote Sensing Environment**, v.8, p.127–150, 1979.

YANG, C. M.; CHENG, C. H.; CHEN, R. K. Changes in spectral characteristics of rice canopy infested with brown planthopper and leafhopper. **Crop Science**, v.47, p.329-335, 2007.

YAO, H.; HUANG, Y.; HRUSKA, Z.; THOMSON, S. J.; REDDY, K. N. Using vegetation index and modified derivative for early detection of soybean plant injury from glyphosate. **Computers and Electronics in Agriculture**, v.89, p.145-157, 2012.

CAPÍTULO 4

Comportamento espectral foliar do feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) infectado por antracnose ou murcha-de-fusário

RESUMO

Neste estudo objetivou-se identificar comprimentos de onda e faixas espectrais de reflectâncias de folhas de feijoeiro-comum, utilizando análise por componentes principais para discriminar entre folhas saudáveis e infectadas com os fungos *Colletotrichum lindemuthianum* ou *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Foram utilizados seis índices de vegetação para discriminar as folhas infectadas. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação. Medidas de reflectância espectral foram tomadas diariamente. Foi calculada a diferença espectral dos valores médios de reflectância para cada cultivar de feijoeiro e nível de concentração de conídio/mL, para enfatizar regiões de interesse nas faixas espectrais do visível e do infravermelho próximo. A região espectral do red edge apresentou os comprimentos de onda que melhor discriminaram folhas infectadas para ambas as doenças. Os resultados das combinações do índice por diferença de vegetação (DVI) com o índice de vegetação da diferença normalizada pelo verde (GNDVI), índice de absorção pela clorofila modificado (MCARI) ou índice de absorção pela clorofila transformado (TCARI) mostraram maior sensibilidade na detecção de folhas infectadas e níveis de concentração de conídios/mL para as duas doenças.

Palavras-chaves: Componentes principais, índice de vegetação, reflectância, doença, agricultura de precisão.

ABSTRACT

Our objective was identify wavelengths and spectral bands of reflectance of common bean leaves, using principal component analysis to discriminate between healthy leaves and infected with the fungus *Colletotrichum lindemuthianum* or *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. We used six vegetation indices to discriminate infected leaves. The experiments were conducted in a greenhouse. Spectral reflectance measurements were taken daily. We calculate the spectral difference of the average values of reflectance for each common bean cultivar and level of

concentration of conidium/mL, to emphasize regions of interest in the visible and Near Infrared spectral regions. The spectral region of Red Edge presented wavelengths that best discriminated infected leaves of both diseases. The results of the combinations of the difference vegetation index (DVI) with green normalized difference vegetation index (GNDVI), modified chlorophyll absorption in reflectance index (MCARI) or transformed chlorophyll absorption reflectance index (TCARI) showed greater sensitivity in detecting infected leaves and concentration conidium/mL levels for the two diseases.

Key-words: Principal components, vegetation indices, reflectance, disease, precision agriculture.

1. INTRODUÇÃO

O feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é atacado por várias doenças, entre elas a murcha-de-fusário causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, e a antracnose causada pelo fungo *Colletrichum lindemuthianum*, que ocorrem praticamente em todo o Brasil (TOLEDO-SOUZA et al., 2009).

A murcha-de-fusário e a antracnose podem causar redução na produtividade de 80% e 100 %, respectivamente, quando as condições climáticas são favoráveis e as plantas são infectadas em seus primeiros estádios de desenvolvimento (PEREIRA et al., 2011; SHARMA et al., 2012). O controle químico dessas doenças pode ser possível. O ideal é uma aplicação de fungicidas a taxas variadas com as doenças em estágio precoce de infecção. Essas medidas podem reduzir o custo de aplicação e o impacto ambiental.

A interação patógeno-planta pode causar modificações nas organelas e pigmentos das folhas (PRABHAKAR et al., 2013), como necrose e lesões foliares (antracnose) e enrugamento, murcha e amarelecimento das folhas (murcha-de-fusário). A reflectância das folhas de vegetais é o resultado de múltiplas interações entre a radiação incidente e características biofísicas e bioquímicas das plantas. Vários estudos utilizaram a reflectância de folhas na faixa do visível (400 – 700 nm) e do infravermelho próximo (700 – 1000 nm) (DELALIEUX et al., 2007; MAHLEIN et al., 2010; RUMPF et al., 2010), para detectar mudanças na vitalidade das plantas com ênfase em doenças fúngicas. A deterioração das organelas e pigmentos das folhas causadas pelos patógenos gera estresse nas plantas e mudanças

em suas respostas espectrais. Assim, a severidade de uma doença pode ser avaliada através da aplicação de ferramentas de sensoriamento remoto, como reflectância de dados hiperespectrais e multiespectrais.

Reflectâncias hiperespectrais podem ser utilizadas para detectar alterações fisiológicas nas folhas. Esses dados apresentam centenas de valores de reflectâncias em diferentes comprimentos de onda. Dessa maneira, há a possibilidade de ocorrer dados com valores redundantes e há a possibilidade de redução do número de comprimentos de onda sem perda significativa de informação e sem comprometer a caracterização espectral do alvo (SONG et al., 2011). Uma técnica multivariada muito utilizada na redução da dimensionalidade dos dados e seleção de variáveis é a análise por componentes principais (ACP). Bauriegel et al. (2011) utilizaram ACP para redução da quantidade de variáveis originais e determinar intervalos de comprimentos de onda do espectro eletromagnético, que permitiu discriminar, antes que os primeiros sintomas se tornassem visíveis, entre plantas de trigo saudáveis e infectadas com fusário.

Jolliffe (2002) discute quatro métodos (B1, B2, B3 e B4) de seleção de variáveis utilizando ACP. O método B4 que consiste em selecionar as variáveis de maior carga (*loading*) do primeiro componente principal (CP1). Este método baseia-se na premissa de que os componentes principais de maior importância explicam a maior parte da variação total dos dados e que são formados por combinações lineares de variáveis relacionadas entre si. Ao selecionar uma variável do CP1 que esteja fortemente associada a ele, está se tomando um representante das variáveis deste componente principal. O restante das variáveis são descartadas.

Índices de vegetação (IV) são modelos desenvolvidos a partir de comprimentos de onda e constituem a base para diversas aplicações em sensoriamento remoto agrícola, por estarem correlacionados com o vigor da vegetação (MAHLEIN et al., 2010). Índices de vegetação são baseados em dados provenientes de diferentes faixas espectrais e propiciam a redução da dimensionalidade dos dados originais.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar espectralmente folhas de três cultivares de feijoeiro, infectadas com os fungos *Colletrichum lindemuthianum* ou *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, em três concentrações de conídios/mL. Determinar faixas espectrais e comprimentos de onda mais apropriados para discriminação de folhas infectadas. Determinar os índices de vegetação

hiperespectrais ou multiespectrais, com potencial para discriminação das folhas infectadas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, nos meses de outubro a dezembro de 2013, com temperatura de 24 ± 1 °C e umidade relativa do ar de $80 \pm 5\%$, na cidade de Viçosa, latitude $20^{\circ} 45' 14''$ Sul e longitude $42^{\circ} 52' 55''$ Oeste, no estado de Minas Gerais. Para a coleta das respostas espectrais das folhas do feijoeiro foram conduzidos experimentos utilizando três cultivares de feijão representantes de três grupos comerciais: carioca (Rudá), preto (RBS Supremo) e vermelho (Vermelhinho), dada a importância econômica de cada grupo e a suscetibilidade à murcha-de-fusário. Em cada vaso, foram cultivadas duas plantas da mesma cultivar de feijoeiro, em 0,415 L de substrato (Tropstrato HT[®], Vida Verde, Mogi Mirim, SP, Brasil).

Para a antracnose foi realizado um experimento para cada cultivar de feijoeiro. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado (DIC), com quatro níveis de concentrações de conídios/mL [zero (controle), $1,2 \times 10^4$ (baixa), $1,2 \times 10^5$ (média) e $1,2 \times 10^6$ (alta) conídios/mL], com seis repetições. O experimento foi repetido nos meses de janeiro a março de 2014. Para a murcha-de-fusário foi executado o mesmo tipo de experimento, no entanto, os tratamentos foram quatro níveis de concentrações de conídios/mL [zero (controle), $1,0 \times 10^4$ (baixa), $1,0 \times 10^5$ (média) e $1,0 \times 10^6$ (alta) conídios/mL].

2.1. Inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*

O inóculo de *C. lindemuthianum*, de raça 65, obtido no Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO/UFV), foi multiplicado em tubos de ensaio contendo vagens esterilizadas e parcialmente imersas em meio ágar-ágar. Os tubos foram mantidos por aproximadamente dez dias a 24 ± 1 °C, para a produção dos conídios. Em casa de vegetação foram semeadas 30 sementes de cada cultivar de feijoeiro em bandejas de isopor (68 x 35 cm) com 128 células. Seis dias após o plantio foi feito o transplântio das plantas de feijoeiro para os vasos plásticos. A inoculação foi realizada três dias após o transplântio das mudas para os vasos

plásticos, atomizando-se cada suspensão de conídios/mL em ambas as superfícies das folhas primárias, com o auxílio de um atomizador manual.

2.2. Inoculação com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*

O inoculo de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, de raça FOP-UFV-01, obtido no Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO/UFV). Para a produção do inoculo, pequenos segmentos (0,4 cm de diâmetro) de uma colônia de FOP-UFV-01 foram repicados em placas de Petri contendo meia batata-dextrose-ágar (BDA). Posteriormente estas foram mantidas em câmaras do tipo BOD, sob iluminação contínua, com temperatura de 24 ± 1 °C durante 10 dias. A suspensão de conídios foi preparada minutos antes de cada inoculação. Em casa de vegetação foram semeadas 30 sementes de cada cultivar de feijoeiro em bandejas de isopor (68 x 35 cm) com 128 células. Seis dias após o plantio foi feito o transplântio das plantas de feijoeiro para os vasos plásticos. Para a inoculação do *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, as plantas foram retiradas das bandejas de isopor e as raízes lavadas com água corrente de acordo com a metodologia apresentada por Dongo e Müller (1969). Após a lavagem das raízes das plantas, um terço do comprimento das raízes foi cortado com o auxílio de uma tesoura, em seguida foram imersas numa suspensão na concentração de 1×10^4 conídios/mL (macro e microconídios) por 5 min. Este procedimento foi repetido nas concentrações de 1×10^5 e 1×10^6 conídios/mL. Depois as plantas foram transplantadas em vasos contendo 2,5 L de substrato e levados para a casa de vegetação.

2.3. Medição das respostas espectrais das folhas do feijoeiro

Em cada vaso, quatro folhas completamente desenvolvidas foram escolhidas para realização das medidas de reflectância espectral, diariamente após a inoculação até a queda total das folhas para a antracnose e até os 21 dias após a inoculação do patógeno (DAI) para a murcha-de-fusário, no mesmo período do dia, entre 10:00 e 14:00 h. A reflectância espectral foliar foi medida com o espectrorradiômetro ASD FieldSpec Pro FR (Analytic Spectral Devices, Boulder, EUA), com a sonda “plant probe” para medidas de contato com a folha. Essa sonda possui uma lâmpada de halogênio integrada de 100 W, que foi ligada 90 minutos antes de cada coleta de

dados para sua estabilização. O espectrorradiômetro possui faixa espectral entre 350-1100 nm e a faixa útil de leitura foi entre os valores 400 e 900 nm, descartando os dados espectrais ruidosos nos extremos. A calibração do espectrorradiômetro utilizando a referência do branco, com placa de Spectralon (Labsphere, North Sutton, EUA), foi feita no início de cada coleta de dados e depois a intervalos regulares de 15 minutos. O tempo de medida de cada leitura foi ajustado para 544 ms, sendo que cada coleta de reflectância, em cada folha, foi a média de 10 leituras efetuadas pelo espectrorradiômetro.

2.4. Seleção de intervalos de comprimentos de ondas baseada em análise de componentes principais

A ACP é uma técnica multivariada que transforma o conjunto de dados originais, tal que os dados transformados são projetados em um espaço que maximiza a variância a variância da amostra (JOLLIFFE, 2002). Jolliffe (2002) apresentou os métodos B1, B2, B3 e B4 para seleção de variáveis utilizando ACP. Neste trabalho, utilizou-se o método B4 para seleção de intervalos de comprimentos de ondas relevantes para discriminar entre folhas de feijoeiro sadias e folhas infectadas com *C. lindemuthianum* ou *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

O método B4 requer somente uma ACP aplicada a matriz $k \times n$ de dados originais. Este método retém as p variáveis do primeiro componente principal, que retém a maior parte da variância dos dados, com os maiores valores de carga (*loading*). As $k - p$ variáveis restantes são rejeitadas. O critério para se determinar o valor de p é baseado no fator de carga λ_0 . A soma das cargas das p variáveis retidas, precisa ser igual ou maior que λ_0 . Neste trabalho utilizou-se um fator de carga igual a 0,80.

2.5. Índices de vegetação

Foram calculados seis índices de vegetação comuns à espectrometria hiperespectral e multiespectral (Tabela 1), dados por: Normalized Difference Vegetation Index – NDVI (Rouse et al., 1974); Green Normalized Difference Vegetation Index – GNDVI (Yang et al., 2000); Difference Vegetation Index – DVI (Tucker, 1979); Modified Chlorophyll Absorption Reflectance Index – MCARI

(Daughtry et al., 2000); Transformed Chlorophyll Absorption Reflectance Index – TCARI (Haboudane et al., 2002); Relative Difference Vegetation Index – RDVI (Roujean e Breon, 1995).

Tabela 1. Índices de vegetais utilizados em dados hiperespectrais e multiespectrais

Índices	Hiperespectral	Multiespectral
NDVI	$(R_{800} - R_{670}) / (R_{800} + R_{670})$	$(NIR - R) / (NIR + R)$
DVI	$R_{800} - R_{680}$	$NIR - R$
GNDVI	$(R_{800} - R_{550}) / (R_{800} + R_{550})$	$(IR - G) / (IR + G)$
MCARI	$[(R_{700} - R_{670}) - 0,2.(R_{700} - R_{550})].R_{700} / R_{670}$	$[(RE - R) - 0,2.(RE - G)].RE/R$
RDVI	$\sqrt{NDVI \cdot DVI}$	$\sqrt{NDVI \cdot DVI}$
TCARI	$3.[(R_{700} - R_{670}) - 0,2.(R_{700} - R_{550}).(R_{700} / R_{670})]$	$3.[(RE - R) - 0,2.(RE - G).(RE/R)]$

R_x = Valor da reflectância no comprimento de onda x. R = reflectância no vermelho; G = reflectância no verde; RE = reflectância no red-edge; NIR = reflectância no infravermelho próximo.

Análises de correlação de Spearman foram realizadas entre os IV para ambas as doenças. Os IV com forte correlação foram desconsiderados por apresentarem redundância de informação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Desenvolvimento das doenças

As plantas de feijoeiro não inoculadas com os fungos (controle) permaneceram sadias durante todo o período de coleta de dados. As plantas inoculadas permaneceram sem apresentar nenhum sintoma da antracnose ou da murcha-de-fusário durante o período de latência da doença. Após o período de latência os sintomas típicos das doenças foram visualizados, em média quatro dias após a inoculação do patógeno (DAI) para a antracnose e 10 DAI para a murcha-de-fusário. Entre as três cultivares de feijoeiro, a cultivar RBS Supremo foi a que apresentou os sintomas mais severos da antracnose. Nos espectros de reflectância de folhas sadias e infectadas com *C. lindemuthianum* em três níveis de concentração do inoculo e no quinto DAI, as mudanças nos valores da reflectância ao longo do espectro caracterizam a ocorrência das diferentes concentrações de conídios/mL (Figura 1A e 1B). A curva espectral para o nível de concentração alta do inoculo apresentou maior reflectância na faixa do visível (400-750 nm) e menor no NIR (760-850 nm) (Figura 1A), em relação às folhas sadias. A maior reflectância na

faixa do visível, especificamente na região do verde, pode estar associada à presença dos primeiros sintomas da doença. A planta necessita produzir mais fotossíntese para sintetizar peptídeos, proteínas e metabólitos, para se proteger do ataque do patógeno (RIZZARDI et al., 2003). Esse aumento na taxa de fotossíntese está associado a maior reflectância na região do verde que faz parte do espectro visível. A menor reflectância das folhas infectadas, em relação às folhas saudias no NIR, está associada à necrose foliar. Para a concentração média de inoculo observou-se comportamento similar ao da concentração alta, que caracteriza os estádios iniciais da antracnose. No nível de concentração baixa, foi possível notar maior reflectância na faixa do verde e do vermelho (630 a 685 nm) (Figura 1A), podendo estar associada a maior degradação, pelo fungo, das organelas que contém os pigmentos envolvidos no processo da fotossíntese.

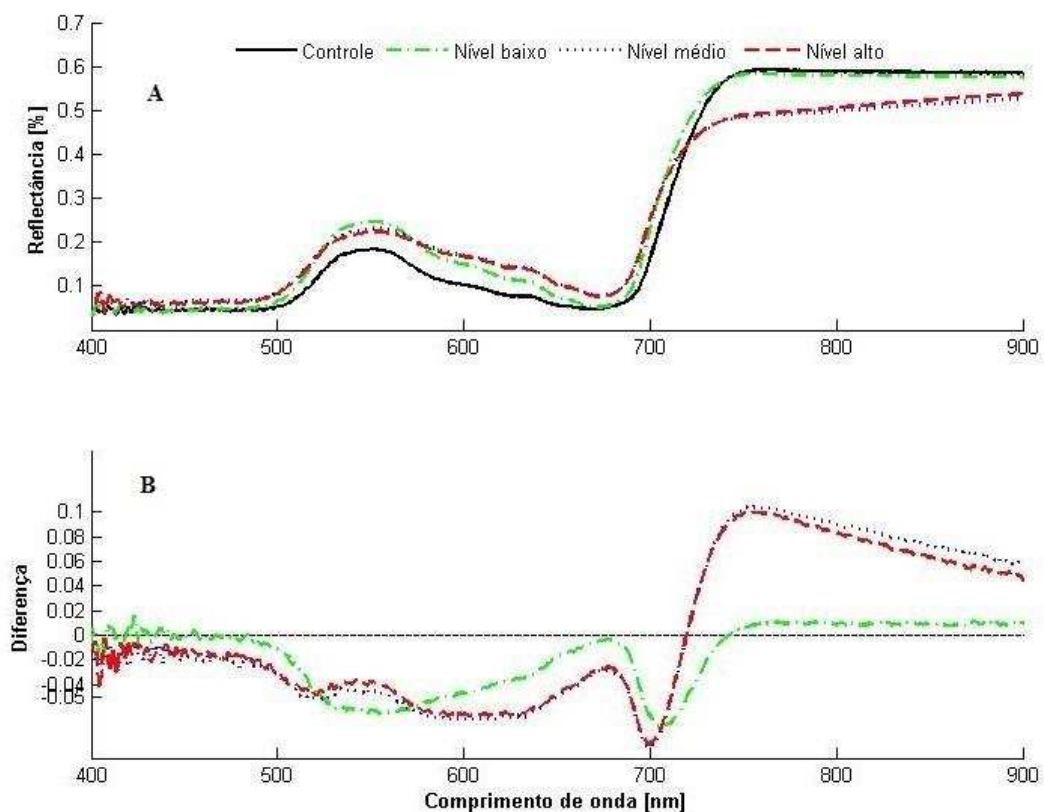


Figura 1. (A) Curvas espectrais para diferentes concentrações de conídios/mL da antracnose para RBS Supremo no quinto dia após a inoculação do patógeno. (B) Diferença espectral entre folhas saudias e infectadas.

Diferenças espectrais entre folhas saudias e infectadas (Figura 1B) foram percebidas ao longo do espectro como na faixa do verde, no entanto, foram melhores caracterizadas no NIR. Isso indica que houve deterioração de organelas constituintes

da estrutura foliar, aparecimento de necrose foliar ocasionando diminuição da reflectância das folhas infectadas. Uma diferença expressiva também foi percebida na faixa do red edge (690 a 730 nm), região característica de estresse na vegetação. Na RBS Supremo infectada com patógeno da murcha-de-fusário, a curva espectral, para as concentrações média de conídios/mL, apresentou maiores valores de reflectância na faixa do verde aos 15 DAI (Figura 2A). A concentração alta apresentou menores valores de reflectância na região do verde e no NIR. Essa redução nos valores de reflectância na região do verde está associada ao início da infecção, que por ser uma doença radicular, interfere no sistema de transporte de seiva da planta. A redução nos valores de reflectância na região do NIR está associada a uma diminuição da taxa de nutrientes e água que chegam as estruturas físicas internas das folhas (DIAS et al.; 2013)..

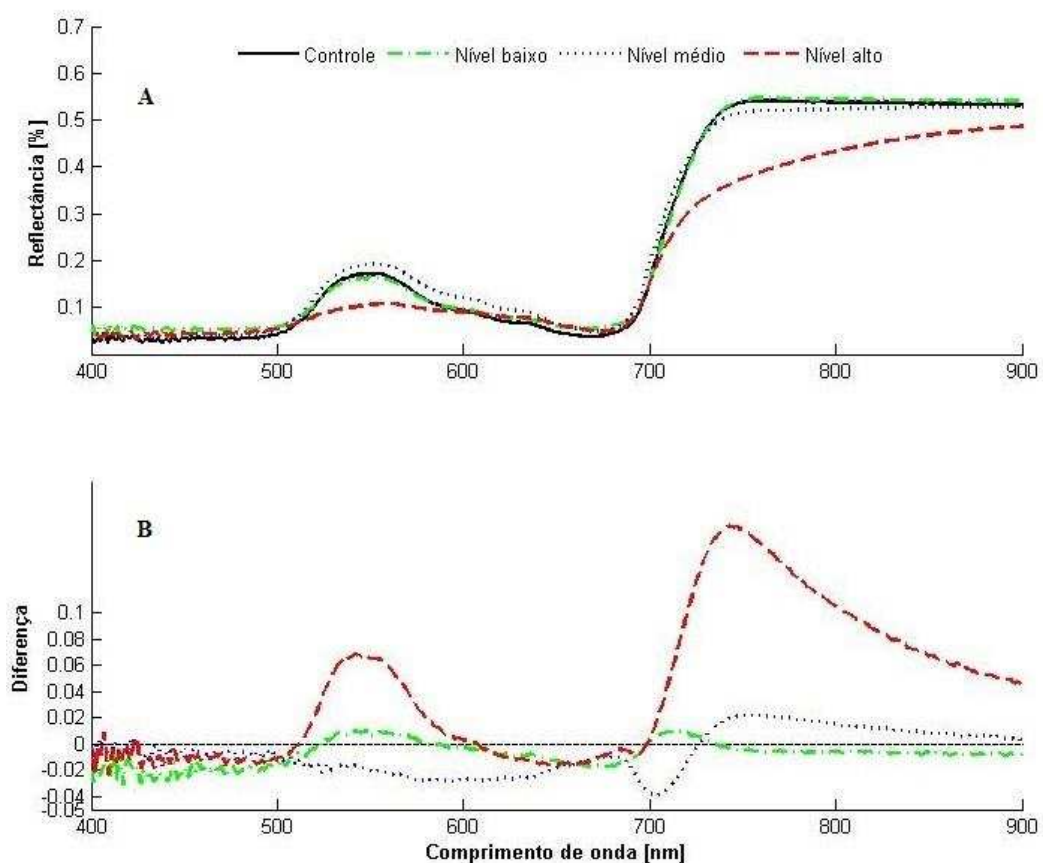


Figura 2. (A) Curvas espectrais para diferentes concentrações de conídios/mL da murcha-de-fusário para RBS Supremo ao décimo quinto dia após a inoculação do patógeno. (B) Diferença espectral entre folhas saudias e infectadas.

Diferenças espectrais entre folhas saudias e infectadas com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Figura 2B) foram analisadas ao longo do espectro. Destaca-se

expressiva diferença na região do verde e do NIR. A faixa espectral do verde está diretamente relacionada com os pigmentos fotossintetizantes, que indica diminuição das organelas foliares responsáveis por esses pigmentos. A região do NIR caracteriza situação de estresse na planta. Esse estresse pode estar associado à instalação do patógeno no sistema xilemático, que degrada o sistema de transporte de nutrientes da planta. As outras cultivares apresentaram resultados menos expressivos que a RBS Supremo para ambas as doenças.

3.2. Determinação dos intervalos de comprimento de onda relevantes para a discriminação da antracnose e murcha-de-fusário

Os dados foram submetidos a uma ACP para avaliar os comprimentos de onda mais relevantes para discriminação de folhas infectadas com *C. lindemuthianum* ou *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Foi utilizado um fator de carga de 0,8 do primeiro componente principal, para selecionar os comprimentos de onda mais representativos para discriminar entre folhas saudáveis e infectadas (JOLLIFFE, 2002; BAURIEGEL et al., 2011). Na cultivar Rudá a faixa espectral do red edge foi a mais representativa para a antracnose, pois esteve presente em todos os níveis de concentração do inoculo (Tabela 2). Isso pode ser justificado pelo fato que o patógeno causa redução do teor de clorofila na planta devido às necroses e lesões cloróticas que afetam a reflectância nessa região espectral (FRANKE e MENS, 2007).

Tabela 2. Grupo de comprimentos de onda selecionados por análise de componentes principais para Rudá

Doenças	Concentração	NCO (nm)	Grupos de comprimentos de onda (nm)
Antracnose	Baixa	10	703 – 712
	Média	9	703 – 711
	Alta	9	702 – 710
Murcha-de-fusário	Baixa	11	761 – 770; 774
	Média	11	764 – 765; 768 – 769; 784; 801; 814; 822; 831; 851
	Alta	11	759; 764 – 766; 768 – 770; 874 – 875; 881; 900

NCO = número de comprimentos de onda selecionados por ACP.

Para a murcha-de-fusário, a faixa espectral mais representativa foi o NIR (760–850 nm), que é uma região indicativa de estresse na vegetação, que pode ser associada à deficiência de nutrientes e água que chegam às estruturas foliares (DIAS

et al., 2013). Na RBS Supremo a faixa espectral mais representativa da antracnose foi o intervalo de 740 a 760 nm, para as três concentrações do inoculo (Tabela 3). Esse intervalo de comprimento de ondas é próximo à faixa espectral do NIR, que pode ser associada à degradação das organelas da estrutura foliar, que afeta a reflectância das folhas (MAHLEIN et al., 2012). Para *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, a faixa espectral mais representativa foi o red edge (Tabela 3). A relevância do red edge para a murcha-de-fusário pode ser associada ao fato que o patógeno coloniza os vasos do sistema transportador de seiva, causando deficiência nutricional, reduzindo o teor de clorofila nas organelas foliares responsáveis pela fotossíntese, afetando a reflectância das folhas infectadas. A faixa espectral do red edge também foi a mais representativa para a cultivar Vermelhinho, tanto para a antracnose quanto para a murcha-de-fusário (Tabela 4).

Tabela 3. Grupo de comprimentos de onda selecionados por análise de componentes principais para RBS Supremo

Doenças	Concentração	NCO (nm)	Grupos de comprimentos de onda (nm)
Antracnose	Baixa	11	740 – 750
	Média	9	751 – 759
	Alta	10	750 – 759
Murcha-de-fusário	Baixa	10	704 – 713
	Média	10	699 – 708
	Alta	11	712 – 722

NCO = número de comprimentos de onda selecionados por ACP.

A faixa espectral do NIR se mostrou mais eficaz na detecção da antracnose. Isso pode ser associado à degradação da estrutura interna foliar pelo patógeno. A faixa espectral do red edge foi mais eficiente na detecção da murcha-de-fusário. Esse fato pode ser associado à colonização dos vasos xilemáticos pelo patógeno, causando estresse na planta. De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, recomenda-se a utilização dos valores de reflectância dessas regiões espectrais para discriminação entre folhas sadias e infectadas com *C. lindemuthianum* ou *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

Tabela 4. Grupo de comprimentos de onda selecionados por análise de componentes principais para o Vermelhinho

Doenças	Concentração	NCO (nm)	Grupos de comprimentos de onda (nm)
Antracnose	Baixo	11	714 – 724
	Médio	12	720 – 731
	Alto	11	714 – 724
Murcha-de-fusário	Baixo	10	708 – 717
	Médio	10	703 – 712
	Alto	11	711 – 721

NCO = número de comprimentos de onda selecionados por ACP.

3.3. Índices de vegetação

As significâncias das correlações dos pares de IV demonstraram um desempenho melhor para as reflectâncias hiperespectrais em relação à multiespectrais para o Rudá (Tabela 5). Essa tendência se repetiu para a RBS Supremo e Vermelhinho. Sistemas hiperespectrais fornecem um espectro contínuo devido a uma resolução espectral melhor comparado aos multiespectrais, são mais eficazes na estimativa de características biofísicas das plantas (MIAO et al., 2009). Bandas multiespectrais são determinadas por meio de valores médios das reflectâncias, resultando em possível perda de informação disponível em faixas espectrais estreitas. O IV RDVI em combinação com MCARI ou TCARI, obtidos de dados hiperespectrais, apresentaram baixos coeficientes de correlação (r), indicando que a combinação desses índices são opções para discriminação de folhas infectadas com *C. lindemuthianum* para os três níveis de severidade (Tabela 5). Outras opções são as combinações do DVI com MCARI ou TCARI. O RDVI é um IV que depende dos valores do DVI e NDVI. Os IV DVI e NDVI são calculados utilizando valores de reflectâncias de comprimento de ondas da região espectral do vermelho e do NIR. A relevância desses comprimentos de onda pode ser justificada pelo fato que o patógeno da antracnose causa redução no teor de clorofila na planta devido à necrose ou lesões cloróticas que afetam a reflectância na região espectral do vermelho. Os valores de reflectância na região espectral do NIR são afetados pela estrutura física interna da folha.

Tabela 5. Valores da correlação de Spearman para os seis índices de vegetação de dados hiperespectrais e multiespectrais para Rudá

Índices de vegetação	Concentração	Dados hiperespectrais						Dados multiespectrais					
		NDVI	GNVDI	MCARI	TCARI	DVI	RDVI	NDVI	GNDVI	MCARI	TCARI	DVI	RDVI
GNDVI	Baixa	0,74*						0,86*					
	Média	0,67*						0,83*					
	Alta	0,73*						0,87*					
MCARI	Baixa	-0,07 ^{ns}	-0,55*					0,86*	0,63*				
	Média	-0,09 ^{ns}	-0,67*					0,81*	0,50*				
	Alta	-0,20*	-0,69*					0,78*	0,53*				
TCARI	Baixa	-0,07 ^{ns}	-0,55*	1,00*				0,86*	0,63*	1,00*			
	Média	-0,09 ^{ns}	-0,67*	1,00*				0,81*	0,50*	1,00*			
	Alta	-0,20*	-0,69*	1,00*				0,78*	0,53*	1,00*			
DVI	Baixa	0,61*	0,45*	0,10^{ns}	0,10^{ns}			0,74*	0,63*	0,83*	0,83*		
	Média	0,59*	0,31*	0,15*	0,15*			0,72*	0,55*	0,81*	0,81*		
	Alta	0,55*	0,30*	0,15*	0,15*			0,66*	0,52*	0,84*	0,84*		
RDVI	Baixa	0,88*	0,66*	0,02 ^{ns}	0,02 ^{ns}	0,90*		0,93*	0,81*	0,91*	0,91*	0,92*	
	Média	0,87*	0,55*	0,04 ^{ns}	0,04 ^{ns}	0,89*		0,93*	0,76*	0,88*	0,88*	0,91*	
	Alta	0,83*	0,55*	0 ^{ns}	0 ^{ns}	0,90*		0,91*	0,77*	0,89*	0,89*	0,90*	

* = significativo $p < 0,05$. ns = não significativo ao nível de 0,05. NDVI = índice de vegetação por diferença normalizada; GNVDI = índice de vegetação por diferença do verde normalizada; MCARI = índice de absorção da clorofila modificada; TCARI = índice de absorção da clorofila transformada; DVI = índice de diferença da vegetação; RDVI = índice de vegetação da diferença relativa.

Os índices DVI e RDVI hiperespectrais, em combinação com os índices da família CARI (MCARI e TCARI), foram os mais representativos para discriminação de folhas infectadas com *C. lindemuthianum* (Tabelas 5 e 6). Os IV MCARI e TCARI foram desenvolvidos para serem sensíveis à variação de clorofila (HABOUDANE et al., 2002), indicando que houve mudança na reflectância na região espectral do visível.

Os índices DVI e RDVI em combinação com os índices NDVI, GNDVI, MCARI ou TCARI, foram os que apresentaram os menores valores de correlações. Observou-se que houve variação nos valores de correlação entre as diferentes concentrações do inoculo (Tabela 6). O DVI foi sensível na detecção dos efeitos da antracnose, sendo que houve tendência de diminuição nos valores de reflectância no NIR e aumento na região espectral do vermelho (Figura 2). Esse comportamento foi, possivelmente, devido às alterações na estrutura foliar e redução do tecido fotossintético, causado pela infecção do fungo.

Tabela 6. Valores da correlação de Spearman para os índices de vegetação DVI, RDVI em combinação com o NDVI, GNDVI, MCARI ou TCARI, de dados hiperespectrais para as cultivares RBS Supremo e Vermelhinho infectadas com *C. lindemuthianum*

Tipo de dados		RBS Supremo				Vermelhinho			
		Hiperspectral				Hiperspectral			
Índices	Concentração	NDVI	GNDVI	MCARI	TCARI	NDVI	GNDVI	MCARI	TCARI
DVI	Alta	0,21*	0,06 ^{ns}	0,18*	0,18*	0,03 ^{ns}	-0,17*	0,38*	0,38*
	Média	0,16*	0,17*	-0,01 ^{ns}	-0,01 ^{ns}	0,12*	-0,12*	0,41*	0,41*
	Baixa	0,03 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,13*	0,15*	0,04 ^{ns}	-0,13*	0,37*	0,37*
RDVI	Alta	0,48*	0,20*	0,20*	0,20*	0,40*	0,09*	0,25*	0,25*
	Média	0,47*	0,35*	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,41*	0,08*	0,31*	0,31*
	Baixa	0,48*	0,23*	0,57*	0,47*	0,40*	0,13*	0,22*	0,22*

* = significativo $p < 0,05$. ns = não significativo ao nível de 0,05. DVI = índice de diferença da vegetação; MCARI = índice de absorção da clorofila modificada; TCARI = índice de absorção da clorofila transformada; GNDVI = índice de vegetação da diferença do verde normalizada; NDVI = índice de vegetação da diferença normalizada.

Na Rudá, os menores valores das correlações ocorreram em combinação dos índices DVI com o MCARI ou TCARI (Tabela 7). Notou-se uma tendência de diminuição nos valores das correlações com o aumento da concentração do inoculo da doença.

Tabela 7. Valores da correlação de Spearman para os índices de vegetação DVI em combinação com o MCARI ou TCARI, de dados hiperespectrais, para Rudá infectada com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*

		Rudá	
Tipo de dados		Hiperspectral	
Índices	Concentração	MCARI	TCARI
DVI	Alta	0,04 ^{ns}	0,04 ^{ns}
	Média	0,11*	0,11*
	Baixa	0,13*	0,14*

* = significativo $p < 0,05$. ns = não significativo ao nível de 0,05. DVI = índice de diferença da vegetação; MCARI = índice de absorção da clorofila modificada; TCARI = índice de absorção da clorofila transformada.

Na RBS Supremo e Vermelhinho o DVI hiperespectral obteve os menores valores de correlações em combinação com os índices GNDVI, MCARI ou TCARI (Tabelas 8 e 9). Os melhores resultados foram obtidos pela combinação do DVI com o GNDVI, indicando que houve pouca redundância de informação entre os dois índices. E que parte da variação dos dados pode ser retida pela combinação desses IV. Esses dois IV possuem em suas fórmulas comprimentos de ondas da região do NIR, ressaltando a importância dessa região espectral na detecção de plantas infectadas com o *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*. A murcha-de-fusário é uma doença radicular e a diminuição nos valores de reflectância na região espectral do NIR de folhas infectadas, indica que houve variação na estrutura física interna da folha, devido, possivelmente, a deficiência na quantidade de nutrientes e água que chegaram às folhas, devido à colonização do fungo nos vasos transportadores das plantas.

Tabela 8. Valores da correlação de Spearman para os índices de vegetação DVI em combinação com o GNDVI, MCARI ou TCARI, de dados hiperespectrais, para RBS Supremo infectada com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*

		RBS Supremo		
Tipo de dados		Hiperspectral		
Índices	Concentração	GNDVI	MCARI	TCARI
DVI	Alta	0,03 ^{ns}	0,16*	0,16*
	Média	0,10*	0,08*	0,08*
	Baixa	0,06 ^{ns}	0,15*	0,14*

* = significativo $p < 0,05$. ns = não significativo ao nível de 0,05. DVI = índice de diferença da vegetação; MCARI = índice de absorção da clorofila modificada; TCARI = índice de absorção da clorofila transformada; GNDVI = índice de vegetação da diferença do verde normalizada.

O índice DVI hiperespectral em combinação com o GNDVI, MCARI ou TCARI foram os mais representativos para a discriminação de folhas infectadas com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Tabelas 7, 8 e 9). O índice DVI foi o mais

representativo, pois esteve presente em todas as combinações com os menores valores de correlações. Ressaltando a importância desse índice na detecção de folhas infectadas com *C. lindemuthianum* ou *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

Neste trabalho os resultados mostraram o potencial do IV DVI hiperespectral na detecção da de folhas infectadas com *C. lindemuthianum* ou *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, entretanto, tal IV deve ser testado em condições de campo em diferentes concentrações de conídios/mL, visando testar seu desempenho em outras condições.

Tabela 9. Valores da correlação de Spearman para os índices de vegetação DVI em combinação com o MCARI ou TCARI, de dados hiperespectrais, para Vermelhinho infectada com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*

Tipo de dados		Vermelhinho		
		Hiperspectral		
Índices	Concentração	GNDVI	MCARI	TCARI
DVI	Alto	0,17*	0,07 ^{ns}	0,07 ^{ns}
	Médio	0,08*	0,17*	0,17*
	Baixo	0,09*	0,22*	0,22*

* = significativo $p < 0,05$. ns = não significativo ao nível de 0,05. DVI = índice de diferença da vegetação; MCARI = índice de absorção da clorofila modificada; TCARI = índice de absorção da clorofila transformada; GNDVI = índice de vegetação da diferença do verde normalizada.

4. CONCLUSÕES

A resposta espectral do feijoeiro em conjunto com índices de vegetação pode ser utilizada com eficiência para a detecção da antracnose e murcha-de-fusário, auxiliando no monitoramento e no manejo integrado dessas doenças.

Comprimentos de onda da faixa espectral do red rdge foram os mais representativos para a diferenciação entre folhas sadias e infectadas com *C. lindemuthianum* ou *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

Combinações de índices de vegetação (IV) obtidos de reflectâncias hiperespectrais resultam em melhor desempenho em relação às multiespectrais na detecção de folhas infectadas com *C. lindemuthianum* ou *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

O índice por diferença de vegetação (DVI) em combinação com o índice de vegetação da diferença normalizada pelo verde (GNDVI), índice de absorção pela clorofila modificado (MCARI) ou índice de absorção pela clorofila transformado (TCARI), podem ser utilizados com eficiência para discriminar entre folhas infectadas com *C. lindemuthianum* ou *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

5. AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (Fapemig) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelos recursos financeiros disponibilizados para a realização do experimento pela bolsa concedida ao primeiro autor.

6. BIBLIOGRAFIA

BAURIEGEL, E., GIEBEL, A., GEYER, M., SCHMIDT, C., HERPPICH, W. B. Early detection of Fusarium infection in wheat using hyper-spectral imaging. **Computers and Electronics in Agriculture**, v.75, p.304-312, 2011.

DAUGHTRY, C. S.; WALTHALL, C. L.; KIM, M. S.; COLSTOUN, E. B. Estimating corn leaf chlorophyll concentration from leaf and canopy reflectance. **Remote Sensing of Environment**, v.74, p.229-239, 2000.

DELALIEUX, S.; VAN AARDT, J.; KEULEMANS, W.; COPPIN, P. Detection of biotic stress (*Venturia inaequalis*) in apple trees using hyperspectral data: Nonparametric statistical approaches and physiological implications. **Euro Journal Agronomy**, v.27, p.130-143, 2007.

DIAS, P. P.; BERBARA, R. L. L.; FERNANDES, M. C. A. Controle de *Rhizoctonia solani* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* por biopreparados de isolados de *Trichordema* spp. **Summa Phytopathol.**, Botucatu – SP, v. 39, n.4, p.258-262, 2013.

DONGO, S. L.; MULLER, L. E. Estudio sobre la patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* en frijol: II. Pruebas varietales. **Turrialba**, San José, v.19, n.1, p.82-90, 1969.

FRANKE, J.; MENZ, G. Multi-temporal wheat disease detection by multi-spectral remote sensing. **Precision Agriculture**, v.8, p.161-172, 2007.

HABOUDANE, D.; MILLER, J. R.; TREMBLAY, N.; ZARCO-TEJADA, P. J.; DEXTRAZE, L. Integrated narrow-band vegetation indices for prediction of crop chlorophyll content for application to precision agriculture. **Remote Sensing of Environment**, v.81, p.416-426, 2002.

JOLLIFFE, I. T. **Principal Component Analysis**. 2ed. Springer, 487p, 2002.

MAHLEIN, A. K.; STEINER, U.; DEHNE, H. W.; OERKE, E. C. Spectral signatures of sugar beet leaves for the detection and differentiation of diseases. **Precision Agriculture**, v.11, p.413-431, 2010.

MAHLEIN, A. K., OERKE, E. C., STEINER, U., DEHNE, H. W. Recent advances in sensing plant diseases for precision crop protection. **Eur J Plant Pathology**, v.133, p.197-209, 2012.

MIAO, Y.; MULLA, D. J.; RANDALL, G. W.; VETSCH, J. A.; VINTILA, R. Combining chlorophyll meter readings and high spatial resolution remote sensing images for in-season site-specific nitrogen management of corn. **Precision Agriculture**, v.10, p.45-62, 2009.

PEREIRA, M. J. Z.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Reação de linhagens de feijoeiro ao fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em condições controladas. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras – MG, v.35, n.5, p.940-947, 2011.

PRABHAKAR, M.; PRASAD, Y. G.; DESAI, S. Hyperspectral remote sensing of yellow mosaic severity and associated pigment losses in *Vigna mungo* using multinomial logistic regression models. **Crop Protection**, v.45, p.132-140, 2013.

RIZZARDI, M. A.; FLECK, N. G.; AGOSTINETTO, D.; BALBINOT, A. A. Ação de herbicidas sobre mecanismos de defesa das plantas aos patógenos. **Ciência Rural**, v.33, n.5, p.957-965, 2003.

ROUJEAN, J.; BREON, F. Estimating PAR absorbed by vegetation from bidirectional reflectance measurements. **Remote Sensing of Environment**, v.51, p.375-384, 1995.

ROUSE, J. W.; HAAS, R. H.; SCHELL, J. A.; DEERING, D. W. Monitoring vegetation systems in the Great Plains with ERTS. **In: Proceedings of the third earth resources technology satellite-1 symposium**. Greenbelt, MD: NASA, p.301-317, 1974.

RUMPF, T., MAHLEIN, A. K., STEINER, U., OERKE, E. C., DEHNE, H. W., PLÜMER, L. Early detection and classification of plant diseases with support vector machines based on hyperspectral reflectance. **Computers and Electronics in Agriculture**, v.74, p.91-99, 2010.

SHARMA, P. N.; BANYAL, K.; RANA, J. C.; NAG, R.; SHARMA, S. K.; PATHANIA, A. Screening of common bean germplasm against *Colletotrichum lindemuthianum* causing bean anthracnose. **Indian Phytopathology**, v.65, n.1, p.99-101, 2012.

SONG, S.; GONG, W.; ZO, B.; HUANG, X.; Wavelength selection and spectral discrimination for paddy rice, with laboratory measurements of hyperspectral leaf reflectance. **ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**, v.66, p.672-682, 2011.

TOLEDO-SOUZA, E. D.; LOBO JÚNIOR, M.; SILVEIRA, P. M.; CAFÉ FILHO, A. C. Interações entre *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* e *Rhizoctonia solani* na severidade da podridão radicular do feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia – GO, v.39, n.1, p.13-17, 2009.

TUCKER, C. J. Red and photographic infrared linear combinations for monitoring vegetation. **Remote Sensing Environment**, v.8, p.127–150, 1979.

YANG, C. M.; CHENG, C. H.; CHEN, R. K. Changes in spectral characteristics of rice canopy infested with brown planthopper and leaffolder. **Crop Science**, v.47, p.329-335, 2007.

CONCLUSÕES FINAIS

Nos experimentos utilizando medidas de reflectâncias foliares, os resultados indicaram que não houve melhora significativa na classificação com a utilização de dados hiperespectrais em relação à utilização de dados multiespectrais.

Para as folhas infectadas com o fungo *C. lindemuthianum*, o classificador é capaz de detectar a antracnose três dias antes que os primeiros sintomas característicos da doença se tornassem visíveis. Para folhas infectadas com o fungo *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, o classificador não foi eficiente para detectar a murcha-de-fusário precocemente. Como as plantas foram infectadas jovens, o maior sintoma percebido ocorreu no desenvolvimento das plantas. As plantas infectadas ficaram com estatura menor que as plantas controle. Neste caso, medidas de reflectância do dossel das plantas poderiam capturar melhor as variações nas respostas espectrais.

O índice por diferença de vegetação (DVI) hiperespectral em combinação com o índice de vegetação da diferença normalizada pelo verde (GNDVI), índice de absorção pela clorofila modificado (MCARI) ou índice de absorção pela clorofila transformado (TCARI), se mostraram mais eficientes na detecção de folhas infectadas para as duas doenças.

O classificador utilizando o índice DVI hiperespectral ou multiespectral, como variável de entrada, não apresentou diferença significativa no valor do coeficiente Kappa. Neste trabalho, se optou por utilizar o DVI multiespectral como variável de entrada do classificador, por ser o sistema multiespectral mais simples comparado ao hiperespectral.

As faixas espectrais de maior representatividade na estimativa da antracnose foi o red-edge, que pode ser justificado pelo fato que o patógeno causa redução do teor de clorofila na planta devido às necroses e lesões cloróticas que afetam a reflectância nessa região espectral, e para a murcha-de-fusário foi à região do infravermelho próximo, que é uma região indicativa de estresse na vegetação, que pode ser associada à deficiência de seiva para às estruturas foliares.