# PGM 848 - Avanços Científicos em Genética e Melhoramento de Plantas I VISÃO COMPUTACIONAL NO MELHORAMENTO DE PLANTAS



# TRABALHO ANÁLISE DE IMAGENS DE GRÃOS DE FEIJÃO CARIOCA

## Professor Vinícius Quintão Carneiro

## **Discentes:**

Everton da Silva Cardoso

Lorena Caroline Dumbá Silva

Júlio Augusto de Castro Miguel

Reberth Renato da Silva

**LAVRAS-MG** 

2020

## SUMÁRIO

1 Introdução	3
2 Material e Métodos.	5
3 Análise dos dados e imagens	10
4 Resultado e Discussão	10
5 Considerações finais	18
6 Referências	19

### 1 Introdução

Atualmente as exigências dos agricultores e dos consumidores com relação a expressão fenotípica de vários caracteres da planta e dos grãos do feijoeiro foram crescentes. Um caráter que frequentemente é demandado pelos consumidores é a cocção dos grãos mais rápida possível. Um aspecto dos grãos que muitas vezes é relacionado a cocção é a coloração escura, isso porque o escurecimento dos grãos está associado a grãos que foram colhidos a mais tempo e que, consequentemente, possuem um tempo de cocção mais demorado. Assim, a procura dos agricultores é por cultivares com grãos do tipo carioca o mais claro possível e que essa coloração clara seja persistente por mais tempo, o que facilita a comercialização dos grãos. Uma das cultivares recomendadas que possui o fenótipo favorável bem marcante para essa característica é a BRSMG-Madrepérola (Carneiro et al., 2012).

No controle genético da cor dos grãos estão envolvidos vários genes (Lamprecht 1935, Prakken 1972, Prakken 1974, Bassett 1994, Beninger et al. 1999, Beninger et al. 2000). Contudo, no caso da cor mais clara e persistente com o tempo dos grãos tipo carioca, a princípio poucos genes estão envolvidos e relacionados a produção de tanino (Caldas e Blair 2009, Alvares et al. 2016, Rodrigues et al. 2019). Entretanto, tem sido constatado com o estudo do metaboloma de linhagens de feijão do tipo pinto bean, contrastantes para o tempo de escurecimento dos grãos, que o processo não é metabolicamente simples (Duwadi et al. 2018). Já Erfatpour et al. (2018), também trabalhando com pinto bean, verificaram que apenas um QTL explicou 48% da variação fenotípica para o escurecimento precoce. Com o decorrer do tempo, após a colheita, os grãos diminuem a absorção de água e consequentemente exigem mais tempo para o cozimento, assim, os feijões recém colhidos são sempre preferidos (Ramalho; Abreu, 2001).

Apesar da facilidade e simplicidade das técnicas tradicionais de fenotipagem de plantas, estas demandam tempo, mão de obra, recurso financeiro e muitas são associadas a elevados erros experimentais. A fim de aumentar a precisão, acurácia e rapidez das mensurações fenotípicas, técnicas com base em imagens digitais foram desenvolvidas como alternativa às avaliações já consolidadas por proporcionar maior confiabilidade dos resultados obtidos pelos melhoristas (Cortes et al., 2017).

A expectativa é que a fenotipagem, baseada em imagens, permitirá expandir experimentos e realizar avaliações fenotípicas rápidas, precisas e acuradas. A aquisição de imagens pode ser realizada com equipamentos simples, como câmeras fotográficas e de vídeo,

scanners ou por meio técnicas mais modernas como microscópios eletrônicos, radares, aparelhos de raios-X, aparelhos de ultrassom e ressonância magnética e nuclear (Berger et al., 2010; Houle et al., 2010; Montes et al., 2007). Além disso, a fenotipagem permite o armazenamento para serem analisados posteriormente.

Dada a importância da exigência de mercado por feijões do tipo carioca que permanece claro por mais tempo estar relacionado ao menor tempo de cozimento e, assim, ter o aspecto de feijão recém-colhido, o presente trabalho visa avaliar a eficiência da fenotipagem de grãos de feijão quanto ao escurecimento por meio de imagens digitais.

#### 2 Material e Métodos

Um total de 5 cultivares de feijão de grãos tipo carioca (Tabela 1) de diferentes instituições de pesquisa do Brasil foram conduzidas em campo na safra das "águas" de 2019. O experimento foi implantado em delineamento de blocos casualizados com três repetições.

Tabela 1 - Cultivares de feijão carioca recomendadas no Brasil, ano de recomendação ou avaliação e instituição de origem.

Linhagens	Ano	Origem
Carioca MG	1982	UFLA
BRSMG Madrepérola	2012	Convênio
BRS Majestoso	2006	Embrapa
Pérola	1996	Embrapa
BRSMG Uai	2015	Convênio

Embrapa: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária; UFV: Universidade Federal de Viçosa; UFLA: Universidade Federal de Lavras; Epamig: Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais; Convênio: Parceria entre UFLA, UFV, Embrapa e Epamig.

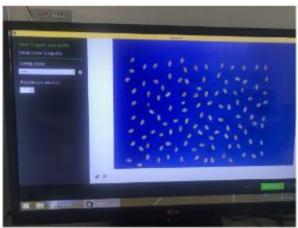
Essas cultivares foram escolhidas devido às suas características de escurecimento. A cultivar Carioca MG tem o escurecimento do tegumento rápido, já a cultivar BRSMG Madrepérola possui um escurecimento tardio. A cultivar BRSMG Uai tem o porte ereto, que é desejado para cultura, porém o seu escurecimento é rápido. Enquanto que as cultivares BRSMG Majestoso e Pérola tem um escurecimento normal.

As cultivares foram avaliadas quanto ao aspecto de grãos logo após a colheita, conforme (Ramalho et al., 1998). Esta avaliação foi visual por meio de uma escala de notas de 1 a 5, em que nota 1 refere-se ao grão padrão carioca (cor creme com estrias marrom-claras, fundo claro, halo creme, peso médio de 100 sementes de 22 a 24 g e não achatado) e nota 5 a grãos totalmente fora do padrão carioca. Em cada experimento foram realizadas avaliações do escurecimento dos grãos logo após a colheita e aos 90 dias após a colheita, conforme (Silva et al., 2008).

A aquisição das imagens dos grãos de cada cultivar seguiu a mesma estrutura de delineamento em blocos casualizados utilizado nos experimentos de campo. Assim, foi obtida uma imagem para cada parcela do experimento contendo cerca de 100 sementes por parcela. A obtenção das imagens foi realizada no Laboratório de Imagens (LAS-UFLA) do Setor de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras. As imagens foram obtidas no equipamento GroundEye®, modelo S800, composto por um módulo de captação das imagens, bandeja para colocação das sementes e *software* de análise de imagens (Pinto, 2017).

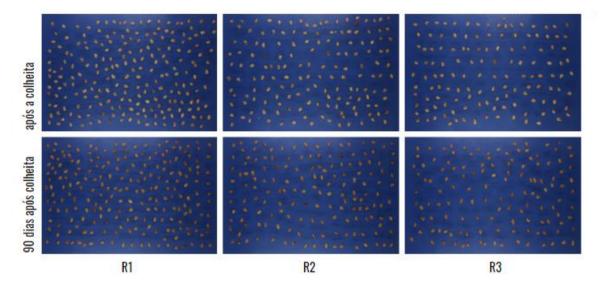
Figura 1 - GroundEye, modelo S800.





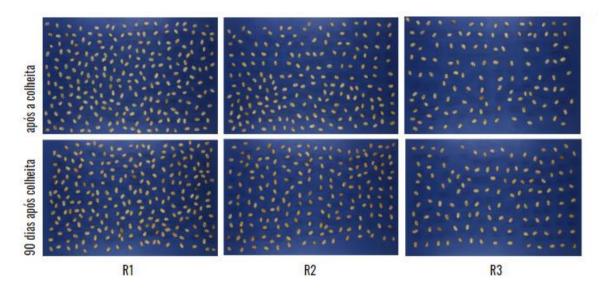
Fonte: Autores (2020).

Figura 2 - Carioca MG.



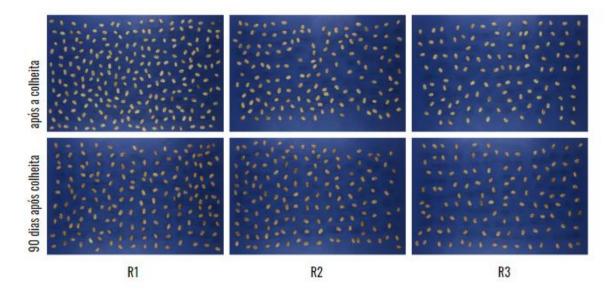
Fonte: Autores (2020).

Figura 3 - BRSMG Madrepérola.



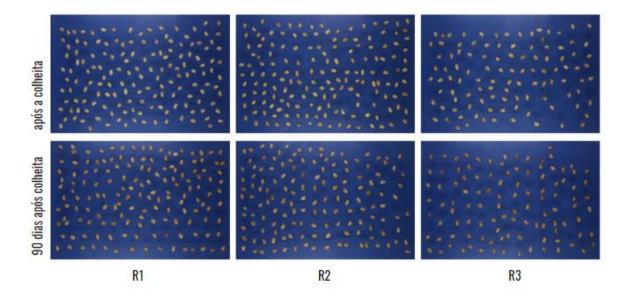
Fonte: Autores (2020).

Figura 4 - BRSMG Majestoso.



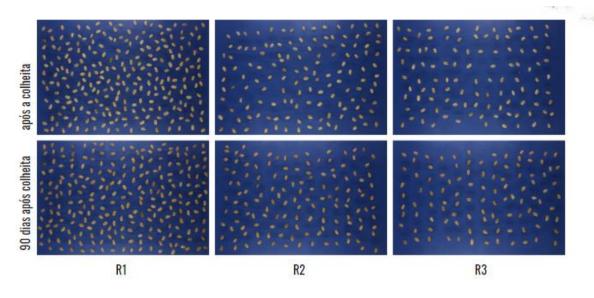
Fonte: Autores (2020).

Figura 5 - Pérola.



Fonte: Autores (2020).

Figura 6 - BRSMG UAI.



Fonte: Autores (2020).

As imagens obtidas foram processadas a fim de mensurar características de cor de cada um dos grãos. Com isso, os grãos foram submetidos a uma segmentação para separação da região do fundo da imagem em relação aos grãos. Assim, sendo possível quantificar a intensidade de vermelho, verde e azul para os grãos. Com base nesses valores dos grãos que compõe a imagem, foram quantificado o escurecimento para cada parcela.

Todo o processamento das imagens foram realizados com auxílio da biblioteca OPENCV da linguagem Python. Para isso foram desenvolvidos *scripts* automatizados que permitiram processar, segmentar e extrair todas as características de interesse das imagens.

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software GENES (Cruz, 2013). Os dados das cultivares quanto a avaliação visual dos grãos e das características obtidas pelo processamento das imagens foram submetidos a análises individuais de variância.

### 3 Análise dos dados e imagens

As análises estatísticas serão realizadas com auxílio do software GENES (CRUZ, 2013). Os dados das linhagens quanto a avaliação visual dos grãos e das características obtidas pelo processamento das imagens serão submetidos a análises individuais de variância, considerando o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + B_j + L_i + e_{ij}$$

em que: é o valor observado na parcela que contém a i-ésima linhagem no j-ésimo bloco; é a média geral do experimento; é o efeito aleatório do j-ésimo bloco; é o efeito fixo da i-ésima linhagem e é o erro aleatório que incide na parcela da i-ésima linhagem no j-ésimo bloco.

#### 4 Resultado e Discussão

A precisão experimental foi de alta magnitude tanto para a avaliação visual, quanto para a avaliação realizada por meio de imagens. O CV de maior magnitude para a avaliação visual foi de 15.50, enquanto que para a avaliação por meio de imagens foi de 1.71 (Tabela 1).Contudo, é possível verificar que o processo de fenotipagem realizado por meio das imagens além de obter uma maior acurácia ele é mais informativo, apresenta uma maior reprodutibilidade além de permitir acessar com maior eficiência a variância genética.

Tabela 1: Resumo das análises de variância das avaliações dos grãos de feijoeiro. (QM1 representa avaliação por meio de imagens após a colheita e QM2 avaliação após 90 dias da primeira avaliação. QM3 representa a avaliação visual após a colheita e QM4 avaliação após 90 dias da primeira avaliação).

FV	GL	QM				
		QM1	QM2	QM3	QM4	
Repetição	2	10.07	4.20	0.12	0.22	
Cultivares	4	393.73**	845.23**	3.23**		6.725**
Resíduo	14	3.73	26.28	0.10	0.30	
Total	20					
CV(%)		1.17	3.40	9.57	15.50	

<sup>\*\*</sup>significância pelo teste F à 5% de probabilidade.

Os valores de correlação, para a avaliação visual e a avaliação realizada por meio de imagens, foram próximas a -1, que segundo Hopkins (2000) indicam correlações quase perfeitas, ou seja, existe elevado grau de associação linear entre as duas metodologias de avaliação de grãos de feijão. Os resultados obtidos comprovam que existe conformidade entre os resultados dos dois métodos de avaliação nos quais os valores apresentaram um elevado grau de associação. Resultados semelhantes foram obtidos por Laurent et al. (2010) que concluíram que a avaliação do escurecimento de grãos por imagem digital é uma alternativa ao método tradicional, pois permite medidas mais acuradas desta característica. A análise de correlação é frequentemente empregada para verificar a similaridade entre duas ou mais metodologias de avaliação.

Todos os valores de pixels máximos obtidos pela mediana demonstraram que a avaliação realizada por meio da análise de imagens apresenta ótimo desempenho. Desse modo, esta forma de avaliação é equivalente a avaliação manual. Laurent et al. (2010) obtiveram valores semelhantes ao avaliar o escurecimento de grãos de feijão.

Tabela 2: Resultados obtidos nas avaliações pós colheita e avaliação 90 dias após primeira avaliação, das 3 repetições do método de avaliação computacional por imagem, sendo a moda dos valores de pixel no canal R, sistema RGB e por escala visual proposta por Ramalho et al. (1998).

GENÓTIPOS	REP	AV1PY	AV2PY	AV1FNT	AV2FNT
CARIOCA MG	1	145.00	120.00	4.5	5
CARIOCA MG	2	150.00	131.00	4.5	5
CARIOCA MG	3	147.00	129.00	4.5	5
MADREPÉROLA	1	176.00	175.00	1.5	1.5
MADREPÉROLA	2	180.00	173.00	2	1.5
MADREPÉROLA	3	180.00	171.00	1.5	1.5
UAI	1	164.00	148.00	3.5	3
UAI	2	166.00	150.00	3	3.5
UAI	3	164.00	144.00	3.5	3.5
MAJESTOSO	1	167.00	158.00	3.5	3.5
MAJESTOSO	2	170.00	152.00	3	3.5
MAJESTOSO	3	173.00	160.00	2.5	1.5

PÉROLA	1	165.00	156.00	4	5	
PÉROLA	2	165.00	145.00	3.5	5	
PÉROLA	3	162.00	144.00	3.5	5	

A tabela 3, demonstra a média de variação do escurecimento tanto para a avaliação visual quanto para avaliação realizada por meio de imagens. Observa-se que a cultivar Carioca MG foi a que obteve a maior nota para a avaliação de imagens, enquanto esta obteve uma das menores médias de variação para a avaliação visual. Isso acontece, pois a esta cultivar apresenta o tegumento bem escuro e permanece da mesma forma ao longo do tempo de armazenamento. O mesmo se verifica para a cultivar BRSMG Madrepérola, contudo essa cultivar representa o padrão de tegumento claro e persistente ao longo do período de armazenamento, por isso a variação de escurecimento é de pequena magnitude.

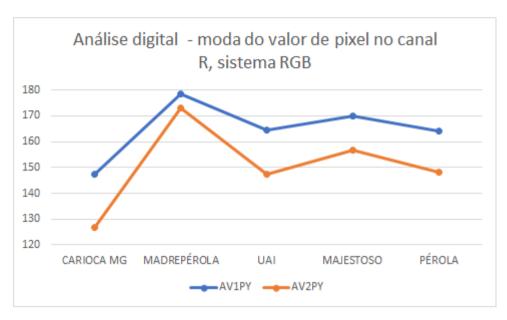
As cultivares BRSMG UAI, BRSMG Pérola BRSMG Majestoso foram enquadradas para o índice de escurecimento obtido pela análise de imagens, com essa respectiva ordem, conforme se observa na tabela 3. Esses resultados diferiram um pouco para a aviação visual. Esse fato pode ser justificado, pois as cultivares que apresentam grãos com tegumento mais escuro tendem a permanecer na mesma classe por isso a média de variação é de baixa magnitude. Contudo, é possível observar que com a avaliação por meio de imagens foi possível discriminar melhor as variações nos índices de escurecimento entre as cultivares.

Tabela 3- Resultados obtidos nas avaliações pós colheita e avaliação 90 dias após primeira avaliação, das três repetições do método de avaliação computacional por imagem, sendo a média de variação entre as três repetições dos valores de pixel no canal R, sistema RGB e por escala visual proposta por Ramalho et al. (1998).

GENÓTIPO	MÉDIA AV. IMG	MEDIA AVALIAÇÃO VISUAL
CARIOCA MG	20.7	0.5
MADREPÉROLA	5.7	0.16
UAI	17.3	0
MAJESTOSO	13.3	0.167
PÉROLA	15.7	1.3334

Na figura 7 verifica-se a análise digital das imagens dos grãos das cinco cultivares, representando a moda do valor do pixel no canal R, no sistema RGB. Este canal foi o que melhor discriminou a variação de pixels quanto ao escurecimento de grãos. Nesse caso, o valor da moda representou com elevada precisão a coloração do tegumento dos grãos, uma vez que foram obtidos resultados similares quanto à avaliação visual.

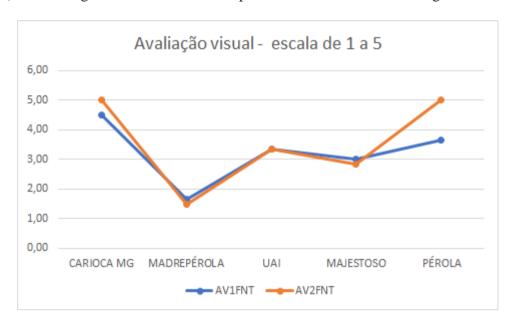
Figura 7 - Análise digital das imagens dos grãos representando a moda do valor do pixel no canal R no sistema RGB. AV1PY avaliação após colheita, AV2PY avaliação 90 dias após primeira avaliação.



Fonte: Autores (2020)

A figura 8 representa a avaliação visual dos grãos de acordo com a escala proposta por Ramalho et al. (1998). Em que a nota 1 refere-se ao grão com padrão carioca (com a cor do tegumento mais clara e persistente) e 5 refere-se aos grãos totalmente fora do padrão. Verifica-se que a avaliação visual foi coincidente com a avaliação por meio de imagens. Em que a cultivar Carioca MG apresentou coloração mais escura e a Cultivar BRSMG Madrepérola apresentou coloração do fundo mais clara e persistente.

Figura 8 - Análise visual dos grãos de acordo a escala Ramalho et al.(1998). Em que nota 1 refere-se ao grão padrão carioca (cor creme com estrias marrom-claras, fundo claro, halo creme) e nota 5 a grãos totalmente fora do padrão carioca com a cor do tegumento mais escura.



Fonte: Autores (2020)

Figura 9 - Diferença das médias de valores de pixel, representando o índice de escurecimento das cultivares observadas obtidas por meio da análise computacional por imagem.



Fonte: Autores (2020)

Na figura 9 é possível observar a média dos valores de pixels, representando o índice de escurecimento das cultivares avaliadas. Verifica-se que a cultivar Carioca MG apresentou

um elevado índice de escurecimento quando comparada com as demais. O contrário pode-se observar com a cultivar BRSMG Madrepérola, ela apresentou a coloração do fundo mais clara e persistente, isto é, ela se manteve clara mesmo com o período de armazenamento. Já as cultivares BRSMG Uai, BRSMG Majestoso e Pérola apresentaram o índice de escurecimento normal.

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que o método de fenotipagem de grãos de feijão por meio de imagens digitais é útil para a determinação do escurecimento das cultivares, e consequentemente, permite praticar a seleção, uma vez que a metodologia proposta (por imagens digitais) segue a mesma proporção da avaliação visual realizada por meio da escala de notas. A partir das análises realizadas é possível determinar o índice de escurecimento entre as duas avaliações e, desse modo, realizar o ranqueamento desse caráter e realizar a seleção. Esse caráter é de extrema importância em programas de melhoramento do feijoeiro, pois as cultivares que apresentam a cor do tegumento mais clara e persistente, garantem uma boa aceitação para o mercado consumidor além de proporcionar o armazenamento do produto por um maior tempo e garantir o melhor preço deste produto.

O processo de utilização de imagens digitais apresentou elevado potencial para auxiliar os programas de melhoramento na identificação de genótipos superiores e principalmente por tornar as avaliações mais rápidas, práticas e precisas. A avaliação de experimentos em muitos casos estão suscetíveis a erros de mensuração, digitação e a perda de informações. Neste sentido, a aquisição e avaliação de grãos por imagens em programas de melhoramento propicia uma grande vantagem, pois é possível armazenar as imagens para posterior utilização e reduz o risco de erros humanos, já que serão os computadores que realizarão as mensurações (CORTES et al., 2017; MARTIN et al., 2013).

## **5** Considerações finais

A avaliação realizada por meio de imagens apresentou uma elevada concordância com a avaliação visual. Ela rápida, eficiente, prática e é uma metodologia que pode garantir maior eficiência no processo de seleção para o caráter escurecimento de grãos.

Esse método de fenotipagem por meio de imagens apresenta uma maior reprodutibilidade, apresenta maior conteúdo informacional além de ser mais acurado.

Trabalhos futuros com progênies são necessários para verificar a eficiência do método.

#### 6 Referências

Alvares R. C., Silva Fc, Melo LC, Melo PGS and Pereira HS 2016. Estimation of genetic parameters and selection of high-yielding, upright common bean lines with slow seed-coat darkening. Genet. Mol. Res. 15:1-10. doi: 10.4238/gmr15049081.

Bassett M. J., 1994. The *griseoalbus* (gray-white) seed coat color is controlled by an allele ( $p^{gri}$ ) a the *P* locus in common bean. *Hort Science* 29:1178–1179.

Beninger C. W., Hosfield GL, and Bassett MJ, 1999. Flavonoid composition of three genotypes of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) differing in seedcoat color. *J Am Soc Hort Sci* 124:514–518.

Beninger C. W., Hosfield GL, Bassett MJ, and Owens S, 2000. Chemical and morphological expression of the *B* and *Asp* seedcoat genes in *Phaseolus vulgaris* L. *J Am Soc Hort Sci* 125:52–58.

BERGER, B.; PARENT, B.; TESTER, M. High-throughput shoot imaging to study drought responses. Journal of experimental botany, v. 61, n. 13, p. 3519 - 3528, 2010.

CARNEIRO, V. Q. Apostila: Visão Computacional (2020).

CARNEIRO, J. E. S.; ABREU, A. F. B.; RAMALHO, M. A. P.; PAULA JUNIOR, T. J.; PELOSO, Maria José Del; MELO, L. C.; PEREIRA, H. S.; PEREIRA FILHO, Israel Alexandre; Martins, M.; VIEIRA, R. F.; Martins, F.A.D.; COELHO, M.A. de O.; CARNEIRO, P. C. S.; Moreira, J.A.A.; SANTOS, J. B.; FARIA, L. C.; COSTA, JOAQUIM GERALDO CÁPRIO DA; TEIXEIRA, H. Brsmg madrepérola: common bean cultivar with late-darkening carioca grain. Crop breeding and applied biotechnology (impresso), V. 12, P. 281-283, 2012.

Caldas GV and Blair MW. Inheritance of seed condensed tannins and their relationship with seed-coat color and pattern genes in common bean (Phaseolus vulgaris L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 119, n. 1, p. 131-142, 2009.

CORTES, D. F. M.; CATARINA, R. S.; BARROS, G. B. D. A.; ARÊDES, F. A. S.; SILVEIRA, S. F. D.; FERREGUETTI, G. A.; RAMOS, H. C. C.; VIANA, A. P.; PEREIRA, M. G. Modelassisted phenotyping by digital images in papaya breeding program. **Scientia Agricola**, v. 74, n. 4, p. 294-302, 2017.

ERFATPOUR M, NAVABI A and PAULS KP. Mapping the non-darkening trait from 'Witrood boontje'in bean (Phaseolus vulgaris). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 131, n. 6, p. 1331-1343, 2018.

CORTES, D. F. M.; CATARINA, R. S.; BARROS, G. B. D. A.; ARÊDES, F. A. S.; SILVEIRA, S. F. D.; FERREGUETTI, G. A.; RAMOS, H. C. C.; VIANA, A. P.; PEREIRA, M. G. Modelassisted phenotyping by digital images in papaya breeding program. Scientia Agricola, v. 74, n. 4, p. 294-302, 2017.

CRUZ, C.D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. Acta Scientiarum, 35:271-276, 2013.

HOULE, D.; GOVINDARAJU, D. R.; OMHOLT, S. Phenomics: the next challenge. Nature Reviews. Genetics, London, v. 11, n.12, p. 855-66, 2010.

Lamprecht H 1935. Zur Genetik von Phaseolus vulgaris. XII. Über die Vererbung der Blütenund Stammfarbe. *Hereditas* 21:129–166.

LAURENT, B. et al. Digital camera images processing of hard-to-cook beans. **Journal of Engineering and Technology Research**, v. 2, n. 9, p. 177-188, 2010.

MARTIN, T.N.; MARCHESE, J. A.; SOUSA, A. K. F.; CURTI, G. L., FOGOLARI, H.; CUNHA, V. S. Uso do software ImageJ na estimativa de área foliar para a cultura do feijão. **Interciencia**, v. 38, n. 12, p. 843-848, 2013.

MONTES, J. M.; PAUL, C.; MELCHINGER, A. E. Determination of chemical composition and nutritional attributes of silage corn hybrids by near-infrared spectroscopy on chopper: evaluation of traits, sample presentation systems and calibration transferability. Plant Breeding, v. 126, n. 5, p. 521-526, 2007.

Prakken R, 1972. Inheritance of colours in *Phaseolus vulgaris* L. III. On genes for red seed coat colour and a general synthesis. *Meded Landbouwhogeschool Wageningen* 29:1–82.

Prakken R, 1974. Inheritance of colours in *Phaseolus vulgaris* L. IV. Recombination within the "complex locus C." *Meded Landbouwhogeschool Wageningen* 24:1–36.

PINTO, C. A. G. Relação entre tamanho e potencial fisiológico de sementes de soja sob variações da disponibilidade hídrica. Piracicaba, 2017. 64 p.

RAMALHO, M. A. P.; PIROLA, L. H.; ABREU, A. de F. B. Alternativas na seleção de plantas de feijoeiro com porte ereto e grão tipo carioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 12, p. 1989-1994, 1998.

Rodrigues LL, Rodrigues LA, Souza TLPO, Melo LC, Pereira HS. Genetic Control of Seed Coat Darkening in Common Bean Cultivars from Three Market Classes. **Crop Science**, v. 59, n. 5, p. 2046-2054, 2019.

SILVA, G. S.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SILVA, F. B. Genetic control of early grain darkening of carioca common bean. Crop Breeding and Applied Biotechnology, Viçosa, v. 8, p. 299-304, 2008.