

## Revisão Literária

### Fungos Entomopatogênicos, HSI e IA

Termos utilizados na busca: *Metarhizium*, Entomopathogenic fungi, Machine learning, HSI, Hyperspectral imaging, Spectroscopy, Tick.

#### FTIR - Espectroscopia Infravermelha por transformada de Fourier:

A Espectroscopia Infravermelha por Transformada de Fourier (FTIR) foi usada com sucesso para diferenciar os gêneros, espécies e cepas de *Aspergillus* e *Penicillium* (Fisher et al, 2006). Esses dois gêneros de fungos filamentosos e outros oito foram medidos por Shapaval et al. (2010) usando o mesmo método. Os espectros obtidos foram classificados em análise de agrupamento hierárquico com precisão de 93,9% e 94,0% em nível de espécie e gênero, respectivamente. Nível de identificação ainda maior foi alcançado por Lecellier et al. (2014) que descobriram que, respectivamente, 98,77% e 98,97% dos espectros foram previstos corretamente. Eles reduziram o tempo de cultivo para a produção de micélio em meio líquido para 48 horas em comparação com os métodos convencionais. Este método não foi utilizado apenas para distinguir fungos em culturas fúngicas isoladas, mas também em amostras com diversos fungos misturados (Huleihel et al, 2018).

Pena et al (2014), utilizou técnica FTIR-ATR para diferenciar entre cinco espécies de fungos ectomicorrízicos (*Amanitarubescens*, *Cenococcumgeophilum*, *Lactariussubdulcis*, *Russulaochroleuca*, e *Xerocomuspruinatus*) coletados de raízes de árvores em várias regiões geográficas. A técnica foi capaz de identificar corretamente as espécies fitopatogênicas em amostras mistas com alta precisão. Linker et al, (2008) utilizou a mesma espectroscopia para diferenciar fungos de solo sem a necessidade de secar as amostras, embora os espectros obtidos de amostras úmidas devam ser submetidos a pós-processamento matemático. Cinco fungos foram estudados: *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Pythium*, *Rhizozctonia* e *Verticillium*.

O estudo de Lopusiewicz et al., (2020) utilizou FTIR para analisar as mudanças químicas em esporos de *Metarhizium robertsii* expostos a quatro metais pesados (cádmio, cobalto, chumbo e estanho) em várias concentrações. Os resultados mostraram que os metais pesados influenciaram na composição química dos esporos, afetando todos os grupos químicos presentes nas células. O FTIR mostrou ser uma técnica útil para determinar as alterações químicas em fungos expostos a metais pesados.

Fischer, G., Braun, S., Thissen, R., Dott, W., 2006. FT-IR spectroscopy as a tool for rapid identification and intra-species characterization of airborne filamentous fungi. J. Microbiol. Meth. 64(1), 63-77.

Shapaval, V., Møretrø, T., Suso, H.P., Asli, A.W., Schmitt, J., Lillehaug, D., Martens, H., Bocker, U., Kohler, A., 2010. A high-throughput microcultivation protocol for FTIR spectroscopic characterization and identification of fungi. J. Biophotonics 3, 512–521.

Lecellier, A., Mounier, J., Gaydou, V., Castrec, L., Barbier, G., Ablain, W., Manfait, M., Toubas, D., Sockalingum, G.D., 2014. Differentiation and identification of filamentous fungi by high-throughput FTIR spectroscopic analysis of mycelia. Int. J. Food Microbiol. 168-169, 32-41.

Huleihel, M., Shufan, E., Tsrur, L., Sharaha, U., Lapidot, I., Mordechai, S., Salman, A., 2018. Differentiation of mixed soil-borne fungi in the genus level using infrared spectroscopy and multivariate analysis. J. Photoch. Photobio. B 180, 155-165.

Pena, R., Lang, Ch., Naumann, A., Polle, A., 2014. Ectomycorrhizal identification in environmental samples of tree roots by Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy. Front. Plant Sci. 5, 229.

Linker, R., Tsrur Lahkim, L., 2008. Discrimination of soil-borne fungi using fourier transform infrared attenuated total reflection spectroscopy. Appl. Spectrosc. 62 (3), 302-305.

LOPUSIEWICZ, L.; MAZURKIEWICZ-ZAPALOWICZ, K.; TKACZUK, C. Chemical changes in spores of the entomopathogenic fungus *Metarhizium robertsii* after exposure to heavy metals, studied through the use of FTIR spectroscopy. Journal of Elementology, v. 25, n. 2, 2020.

### **Espectroscopia de reflectância hiperespectral:**

Piekarczyk et al., (2019) utilizaram um método para diferenciar rapidamente os fungos entomopatogênicos *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea*, *I. farinosa*, *I. tenuipes*, *Lecanicillium lecanii*, *L. muscarium*, em placa de cultura, usando espectroscopia de reflectância no infravermelho visível. O espectrorradiômetro FieldSpec3 ASD foi usado para medir a radiância refletida na faixa de 350-2500 nm

em dois modos: contato e proximal. Os espectros foram transformados usando os métodos derivados e suavização de Savitzky-Golay (SG) e alinhamento de linha de base (BA). O método SG com medição de contato ou proximal obteve 100% de sucesso na diferenciação entre as seis espécies de fungos, enquanto o método BA obteve 84-90% de sucesso com quatro a cinco comprimentos de onda. Liaghat et al., (2014) realizaram medições espectrais de refletância proximal de campo na faixa de 325 – 1075 nm para detectar infecção por *Ganoderma* em folhas de dendezeiro em estágios iniciais. O modelo de classificação (k-nearest neighbour - kNN), aplicado neste estudo, pôde diferenciar as folhas levemente infectadas das saudáveis com precisão geral de classificação de 97%.

Além disso, caracterizou-se *Colletotrichum* spp., um tipo de fungo que causa antracnose em manga, usando termografia de curto alcance e espectroscopia de refletância. Eles identificaram 26 isolados do fungo e os classificaram no complexo de espécies *Colletotrichum gloeosporioides* e em oito morfotipos. A virulência, crescimento micelial, produção de conídios e abundância de esporulação variaram entre os isolados. Os pesquisadores usaram análise discriminante e métodos estatísticos para analisar a resposta espectral dos frutos infectados e identificaram marcadores para quatro grupos distintos de morfotipos.

PIEKARCZYK, J.; RATAJKIEWICZ, H.; JASIEWICZ, J.; SOSNOWSKA, D.; WÓJTOWICZ, A. An application of reflectance spectroscopy to differentiate of entomopathogenic fungi species. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v. 190, p. 32–41, 1 jan. 2019.

Liaghat, S., Ehsanib, R., Mansora, S., Shafria, H.Z.M., Meonc, S., Sankarand, S., Azame, S.H.M.N., 2014. Early detection of basal stem rot disease (*Ganoderma*) in oil palms based on hyperspectral reflectance data using pattern recognition algorithms. *Int. J. Remote Sens.* 35 (10), 3427-3439.

GÓMEZ-CARO, S.; MENDOZA-VARGAS, L. A.; RAMÍREZ-GIL, J. G.; BURBANO-DAVID, D.; SOTO-SUÁREZ, M.; MELGAREJO, L. M. Close-Range Thermography and Reflectance Spectroscopy Support In Vitro and In Vivo Characterization of *Colletotrichum* spp. Isolates from Mango Fruits. *Plant Disease*, v. 106, n. 9, p. 2355–2369, set. 2022.

## **Imagens Hiperespectrais:**

O estudo de Bergmann et al., (2018) apresenta um método que usa imagens hiperespectrais de curto alcance (400 - 1000 nm) para detectar e rastrear os

estágios iniciais de doenças de plantas, incluindo a mancha do fungo *Septoria tritici* e o fungo ferrugem marrom. O método envolve medir a refletividade das plantas na faixa visível e infravermelha próxima e criar um tipo de dados 4D com dimensões espaciais, espectrais e temporais para rastrear os sintomas da doença no tempo. O problema de correspondência de pontos é resolvido por meio de referência com o algoritmo RANSAC e transformações geométricas. Modelos de aprendizado de máquina podem ser treinados para aumentar a sensibilidade nos estágios iniciais da patogênese.

Utilizando imagens hiperespectrais, Yao et al., (2008) monitoraram o desenvolvimento fúngico em placas de petri. Atingiram uma classificação com alta acurácia de 97,7%, podendo diferenciar 5 fungos: *Penicillium chrysogenum*, *F. verticillioides*, *Aspergillus parasiticus*, *Trichoderma viride* e *Aspergillus flavus*. em uma faixa espectral de 400 - 1000 nm, com uma resolução espectral de 2,43 nm.

Williams et al., (2012) descobriram que, com base em imagens hiperespectrais registradas dentro de uma faixa de 1000 - 2498 nm, era possível discriminar entre três espécies de *Fusarium* em grãos de milho. A análise discriminante de mínimos quadrados parciais revelou que os pixels nas imagens de *F. subglutinans*, *F. proliferatum* e *F. verticillioides* foram previstos corretamente em, respectivamente, 71 –100%, 60-80% e 1647%.”

Siedliska et al., (2018) mostraram que a espectroscopia de imagens pode ser usada para distinguir entre morangos inoculados com os fungos *Botrytis cinerea* e *Collatotrichum acutatum* e morangos saudáveis com 97% de precisão.” (Piekarczyk et al., 2019, p. 5)

Lee et al., (2021) detectaram *Escherichia coli* (*E. coli*) e *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) na superfície de instalações de processamento de alimentos usando imagem hiperespectral de fluorescência. As imagens hiperespectrais de fluorescência foram obtidas pela emissão de luz UV de uma fonte de luz UV de 365 nm e usadas para classificar os materiais nos quais as bactérias foram cultivadas. Os desempenhos discriminantes de especificidade e sensibilidade para *E. coli* e *S. typhimurium* foram superiores a 90% para a maioria dos modelos de aprendizado de máquina usados, com os desempenhos mais altos geralmente

obtidos do modelo k-nearest neighbor (k-NN). A aplicação do modelo de aprendizado à imagem hiperespectral confirmou que a detecção do biofilme foi bem realizada, indicando a possibilidade de inspecionar biofilmes rapidamente usando este método.

O estudo de Nguyen et al., (2021) utilizou sensoriamento remoto hiperespectral para identificar e classificar videiras infectadas com o vírus de DNA da videira (GVCV) no estágio inicial assintomático. Abordagens estatísticas e de aprendizado de máquina foram usadas para discriminar entre vinhas saudáveis e infectadas com GVCV com base em padrões de espectros de refletância. Os resultados mostraram que o índice de feofitinação normalizado, índice de taxa de fluorescência, índice de refletância de senescência da planta, índice de antocianina e medidas de estresse hídrico e temperatura do dossel foram os índices mais discriminativos, e a máquina de vetores de suporte e o classificador de random forest tiveram bom desempenho na classificação. O extrator de recursos de rede neural convolucional 3D também forneceu resultados promissores.

Piekarczyk et al., (2022) usou imagens hiperespectrais e RGB e métodos de aprendizado de máquina para discriminar entre três espécies de fungos (*Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*) incubadas em ágar batata dextrose. Os melhores resultados na discriminação de fungos com base em dados hiperespectrais foram obtidos usando o método de Análise de Componentes Principais, com valores médios de reconhecimento e precisão de 0,96 e 0,93, respectivamente. As imagens RGB tiveram sucesso principalmente na identificação de *R. solani* e *S. sclerotiorum*, com as maiores diferenças de intensidade dos pixels ocorrendo nas bandas azul e vermelha para diferentes pares de fungos.

Qi et al., (2019) utilizou imagens hiperespectrais para identificar de forma não invasiva amendoins contaminados por fungos que podem conter a substância cancerígena aflatoxina. As imagens espectrais e informações espaciais das imagens foram exploradas e a projeção sucessiva foi usada para selecionar bandas sensíveis, e a classificação baseada em representação escassa e conjunta e o classificador de máquina de vetores de suporte foram usados para comparação. Os resultados experimentais mostraram que o método de classificação baseado em representação escassa e conjunta superou a máquina de vetores de suporte em

termos de robustez e precisão, com precisão de classificação atingindo 99,2% e 98,8% na escala de pixels e pelo menos 98,4% e 96,8% na escala de kernel para dois variedades de amendoim. Amendoins contaminados com fungos foram identificados corretamente nas imagens de aprendizado e teste.

**Behmann, J.; Bohnenkamp, D.; Paulus, S.; Mahlein, A.-K. Spatial Referencing of Hyperspectral Images for Tracing of Plant Disease Symptoms. J. Imaging 2018, 4, 143.**

**Yao, H., Hruska, Z., Kincaid, R., Brown, R.L., Cleveland, T.E., 2008. Differentiation of toxigenic fungi using hyperspectral imagery. Sens. Instrument. Food Qual. 2, 215-224.**

**Williams, P.J., Geladi, P., Britz, T.J., Manley, M., 2012. Investigation of fungal development in maize kernels using NIR hyperspectral imaging and multivariate data analysis. J. Cereal. Sci. 55, 272-278.**

**Siedliska, A., Baranowski, P., Zubik, M., Mazurek, W., Sosnowska, B., 2018. Detection of fungal infections in strawberry fruit by VNIR/SWIR hyperspectral imaging. Postharvest Biol. Tec. 139, 115-126.**

**LEE, A.; PARK, S.; YOO, J.; KANG, J.; LIM, J.; SEO, Y.; KIM, B.; KIM, G. Detecting Bacterial Biofilms Using Fluorescence Hyperspectral Imaging and Various Discriminant Analyses. Sensors (Basel, Switzerland), v. 21, n. 6, p. 2213, 22 mar. 2021.**

**NGUYEN, C.; SAGAN, V.; MAIMAITIYIMING, M.; MAIMAITIJIANG, M.; BHADRA, S.; KWASNIEWSKI, M. T. Early Detection of Plant Viral Disease Using Hyperspectral Imaging and Deep Learning. Sensors (Basel, Switzerland), v. 21, n. 3, p. 742, 22 jan. 2021.**

**PIEKARCZYK, J.; WÓJTOWICZ, A.; WÓJTOWICZ, M.; JASIEWICZ, J.; SADOWSKA, K.; ŁUKASZEWSKA-SKRZYPNIAK, N.; ŚWIERCZYŃSKA, I.; PIECZUL, K. Machine Learning-Based Hyperspectral and RGB Discrimination of Three Polyphagous Fungi Species Grown on Culture Media. Agronomy, v. 12, n. 8, p. 1965, ago. 2022.**

**QI, X.; JIANG, J.; CUI, X.; YUAN, D. Identification of fungi-contaminated peanuts using hyperspectral imaging technology and joint sparse representation model. Journal of Food Science and Technology, v. 56, n. 7, p. 3195–3204, jul. 2019.**