

Processamento e análise digital para quantificar adultos do vetor do HLB dos citros *Diaphorina citri* capturados em armadilhas adesivas



OBJETIVOS DE
DESENVOLVIMENTO
SUSTENTÁVEL

2 FOME ZERO
E AGRICULTURA
SUSTENTÁVEL



**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Mandioca e Fruticultura
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
140**

Processamento e análise digital para quantificar
adultos do vetor do HLB dos citros *Diaphorina
citri* capturados em armadilhas adesivas

Romulo da Silva Carvalho

Embrapa Mandioca e Fruticultura
Cruz das Almas, BA
2022

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Mandioca e Fruticultura

Rua Embrapa, s/nº, Caixa Postal 07
44380-000, Cruz das Almas, Bahia
Fone: 75 3312-8048
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Mandioca e Fruticultura

Presidente
Eduardo Chumbinho de Andrade

Secretária-executiva
Maria da Conceição Pereira da Silva

Membros
*Ana Lúcia Borges, Áurea Apolinário de
Albuquerque Gerum, Cinara Fernanda Garcia
Morales, Harllen Sandro Alves Silva, Herminio
Souza Rocha, Jailson Lopes Cruz, José
Eduardo Borges de Carvalho, Paulo Ernesto
Meissner Filho, Tatiana Goes Junghans*

Supervisão editorial
Eduardo Chumbinho de Andrade

Revisão de texto
Alessandra Angelo

Normalização bibliográfica
Lucidalva Ribeiro Gonçalves Pinheiro

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
*Anapaula Rosário Lopes
Andreza dos Santos Lima*

Foto e Ilustração da capa
Romulo da Silva Carvalho

1ª edição
Publicação digital (2022): PDF

Todos os direitos reservados.
A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Mandioca e Fruticultura

Carvalho, Romulo da Silva

Processamento e análise digital para quantificar adultos do vetor
do HLB dos citros *Diaphorina citri* capturados em armadilhas adesivas /
Romulo da Silva Carvalho – Cruz das Almas, BA : Embrapa Mandioca e
Fruticultura, 2022.

PDF (30 p.) : il. color – (Boletim de pesquisa e desenvolvimento /
Embrapa Mandioca e Fruticultura, ISSN 1809-5003 ; 140).

1 *Diaphorina citri*. 2. HLB. 3. Processamento digital. 4. Doença de plantal.
Titulo. II. Série.

CDD 641.343 04

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução.....	8
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	26
Conclusões.....	29
Referências	29

Processamento e análise digital para quantificar adultos do vetor do HLB dos citros *Diaphorina citri* capturados em armadilhas adesivas

Romulo da Silva Carvalho¹

Resumo – A identificação e a quantificação do vetor do HLB *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) nas armadilhas adesivas são as etapas mais trabalhadas do monitoramento populacional do psilídeo dos citros. Nesse trabalho, descreve-se metodologia digital que quantifica adultos de *D. citri* capturados em armadilha adesiva, usando imagens fotográficas obtidas de câmera fotográfica de telefone celular (Samsung S8+). A metodologia compreende as etapas de aquisição de fotografias das armadilhas, pré-processamento, segmentação e extração do atributo de interesse (psilídeos capturados), utilizando o software livre GIMP [GNU (General Public License) Image manipulation program] para manipular e gerar nova imagem contendo apenas a representação dos psilídeos capturados nas armadilhas no denominado de “mapa de ocorrência do vetor do HLB”. Em seguida, um lote de imagens de mapas de ocorrência do vetor do HLB é processado sendo realizada a quantificação automática dos adultos de *D. citri* capturados, usando-se o software livre Fiji ImageJ e o plugin BioMath Monitoramento do vetor HLB, que foi desenvolvido utilizando linguagem computacional em programação Java para gerar automaticamente o quantitativo de adultos do psilídeo capturados em cada armadilha do lote, disponibilizando os dados em uma planilha. Essa metodologia exige pouco conhecimento computacional do usuário, sendo todo o procedimento realizado à frente da tela de computador com maior conforto e menor esforço e fadiga laboral, apesar de realizada por apenas um técnico, em vez de três, como no procedimento atual em uso. Ao eliminar o uso de solventes em laboratório, reduz o risco de contaminação. A preservação de todas as armadilhas originais do monitoramento no formato digital e respectivos dados da ocorrência do inseto-praga, possibilita estudos temporais nas áreas e regiões monitoradas. Por se tratar de uma tecnologia digital com objetivo específico de apoiar à defesa fitossanitária, conclui-se que essa me-

¹ Engenheiro-agrônomo, doutor em Ciências, pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, Bahia.

Metodologia digital será capaz de otimizar e facilitar a logística da coleta de dados de captura do psílídeo dos citros nas armadilhas adesivas e apoiar o estabelecimento de áreas regionais de manejo (ARMAs) e rotas sentinelas no monitoramento do vetor do HLB.

Palavras-chave: *Diaphorina citri*. Psílídeo dos citros. Huanglongbing. Monitoramento digital. Monitoramento populacional. Metodologia digital.

Processing and digital analysis to quantify adults of Asian citrus psyllid the HLB vector *Diaphorina citri* captured in sticky traps

Abstract: The identification and quantification of the HLB vector *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae) in sticky traps are the most laborious steps in monitoring the Asian citrus psyllid (ACP) population. This work describes a digital methodology that quantifies ACP adults captured in a sticky trap, using photographic images obtained from a cell phone camera (Samsung S8+). The methodology comprises the following steps: acquisition of the traps images, pre-processing, segmentation and extraction of the attribute of interest (captured psyllids), using the free software GIMP [GNU (General Public License) Image manipulation program] to manipulate and generate a new image containing only the representation of the psyllids captured in the traps in the so-called “HLB vector occurrence map”. Then, a batch of images of occurrence maps is processed and the automatic quantification of the captured ACP is performed, using the free software Fiji ImageJ and the Biomath HLB Vector Monitoring plugin, which was developed using Java computational language to automatically generate the number of ACP captured in each trap in the lot, making the data available in a spreadsheet. This methodology requires little computational knowledge from the user, and the entire procedure is performed in front of a computer screen with greater comfort and less effort and labour fatigue, despite being performed by only one technician, instead of three, as is the current procedure in use. By eliminating the use of solvents in the laboratory, it reduces the risk of contamination. The storage of all the original monitoring traps in digital format and the respective data on the occurrence of the insect pest allows temporal studies in the monitored areas and regions. As it is a digital technology, with the specific objective of supporting phytosanitary defense, it is concluded that this methodology will be able to optimize and facilitate the logistics of collecting data on the capture of ACP in sticky traps and support the establishment of regional management areas (ARMAs) and sentinel routes in monitoring the HLB vector.

Keywords: *Diaphorina citri*. Asian citrus psyllid. Huanglongbing. Digital monitoring. Population monitoring. Digital methodology.

Introdução

O Huanglongbing (HLB) é a doença mais importante dos citros e que impacta a Ásia, África do Sul, América do Sul e América do Norte (Gaire et al., 2022; Aksenov et al., 2014; Garza-Saldana et al., 2017; Gómez-Flores *et. al.*, 2019). A doença é causada por bactérias do gênero *Candidatus Liberibacter* (*Candidatus Liberibacter americanus*, *Ca. L. africanus* e *Ca. L. asiaticus*). As bactérias infectam os tecidos do floema das plantas atacadas e sua transmissão é feita pelo psilídeo dos citros *Diaphorina citri* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae) (Nava et al. 2012; Pourreza et al., 2015).

No Brasil, o HLB foi detectado pela primeira vez em julho de 2004, sendo considerado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento como praga quarentenária presente, conforme Instrução Normativa nº 41/2008 (Nava et al., 2012).

Para Qiao et al. (2008), as metodologias tradicionais utilizadas para quantificar insetos capturados em armadilhas dependem do julgamento visual humano, sendo a estimativa populacional propensa a vários tipos de ruídos como diferentes aptidões para identificar e quantificar a praga e a fadiga laboral.

Segundo Monzo et al. (2015), em áreas onde o HLB ainda não se faz presente, a detecção precoce do psilídeo dos citros *D. citri* torna-se necessária para implementar medidas de controle. Segundo os autores, a coleta de dados durante o procedimento do monitoramento deve ser a mais fácil e direta possível para minimizar tempo, custo e o grau de conhecimento necessário para a aferição, mas sem comprometer a exatidão e a precisão do resultado. Os autores consideram que o uso de armadilhas adesivas fornecerem resultados precisos para o monitoramento, mas consideram que o processo de classificação e contagem tende a consumir muito tempo.

Nesse sentido, Nascimento et al. (2012) descreveram procedimento validado e em uso pela Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB) para o monitoramento do inseto vetor do HLB *D. citri* no Estado da Bahia. Os procedimentos foram padronizados em relação aos códigos, instalação e transporte das armadilhas, quantificação do psilídeo capturados e tabulação de dados. Segundo os autores, em laboratório, a leitura dos insetos é feita “em lupa articulada de mesa, anotando os dados uma planilha

(lado 'A' e lado 'B'), quadriculada e impressa, e com o mesmo número de quadriculas da armadilha, onde anota-se o número de psíldeo encontrado em cada quadricula. A contagem dos insetos deve ser realizada por duas pessoas e conferida por uma terceira. Posteriormente, os dados são digitalizados em planilha eletrônica e procedido o cálculo da densidade populacional do inseto pelo índice PAM – psíldeo/armadilha/mês. A coleta das armadilhas deve ser quinzenal, sempre o mesmo dia da semana”. E a leitura das armadilhas realizadas em até dois dias após a coleta. Entre materiais empregados consta na lista solventes como querosene ou óleo diesel.

Schühli (2013) considera trabalhosa a quantificação manual de insetos capturados em armadilhas adesivas, pois desperdiça o tempo e compromete a agilidade para apresentação de laudos ou diagnósticos pelo técnico ou pesquisador. O autor sugere o aperfeiçoamento do procedimento com o uso de contagem automática utilizando o software ImageJ para monitoramento de *Sirex noctilio* (Hymenoptera: Siricidae).

Nesse sentido, descreve-se metodologia digital semiautomatizada que tem por objetivo otimizar o procedimento e a logística do monitoramento do vetor do HLB *D. citri* na etapa de laboratório que é considerada a mais trabalhosa. A metodologia utiliza como base imagens fotográficas de armadilhas adesivas obtidas por meio de câmera fotográfica de aparelho celular (Samsung S8+). O procedimento metodológico combina ferramentas digitais de manipulação de imagens, utilizando o software livre GIMP [GNU (*General Public License*) *Image manipulation program*] com o processamento digital de imagens (PDI) e a análise quantitativa de adultos do psíldeo capturados nas armadilhas adesivas por meio do software Fiji ImageJ e do plugin “*BioMath monitoramento vetor do HLB*”, desenvolvido em linguagem computacional de programação em Java para automatizar e facilitar a logística da coleta dos dados quantitativos de captura dos adultos do psíldeo nas armadilhas adesivas.

Material e métodos

Os procedimentos computacionais foram divididos em duas etapas:

- A primeira, fase de pré-processamento, visa a aquisição de imagem fotográfica da armadilha adesiva e a sua manipulação por meio do

software GIMP para extração do atributo de interesse (psilídeos capturados), visando gerar uma nova imagem denominada de “mapa digital de ocorrência do vetor do HLB” para cada armadilha do monitoramento.

- A segunda, fase de pós-processamento, ocorre o processamento e análise quantitativa de adultos de *D. citri* na imagem gerada do mapa de ocorrência do vetor do HLB de cada armadilha, utilizando-se o plugin *BioMath monitoramento do vetor do HLB*, desenvolvido em linguagem de programação Java e contém um conjunto de instruções que automatiza essa fase do procedimento digital.

Aquisição de imagens fotográficas das armadilhas adesivas

A aquisição da imagem fotográfica da armadilha adesiva é o primeiro e mais importante procedimento para facilitar a quantificação do inseto-alvo capturado na armadilha, pois inicialmente a imagem é analisada visualmente pelo técnico na tela do computador.

Ressalta-se que nessa metodologia não é obrigatório utilizar apenas armadilhas adesivas quadriculadas, podendo-se utilizar também armadilhas adesiva amarelas lisas. Entretanto, deve-se padronizar o tipo de armadilha a ser utilizada no monitoramento.

Para aquisição das imagens fotográficas, utilizou-se câmera fotográfica de telefone celular da marca Samsung SM-G955F, modelo S8+ e sensor RGB (versão 9.0.01.78). Para obter a máxima nitidez e o melhor foco dos insetos capturados na foto, as armadilhas adesivas foram fixadas no aparato e fotografadas buscando-se obter o melhor ajuste entre a distância focal e o enquadramento da imagem.

Para a manipulação das fotos das armadilhas adesivas, utilizou-se o software livre de manipulação de imagens GIMP (versão 2.10.24), disponível no endereço: <https://www.gimp.org/downloads/>.

Geração de imagem do mapa de corência do vetor do HLB

Para inserir uma imagem da armadilha adesiva no software GIMP, deve-se acessar a barra de ferramentas superior do software e clicar em “Arquivo” e, em seguida, em “Abrir” (Figura 1A) e, posteriormente, selecionar no computador o local (diretório) onde se encontra a imagem da armadilha adesiva a ser manipulada (Figura 1B). Outra maneira de inserir a imagem é arrastá-la diretamente do diretório onde se encontra para a tela do software GIMP.



Figura 1. Sequência para abrir uma imagem no software GIMP. (A) Seleciona-se em “Arquivo” e clica-se em “Abrir”; (B) Posteriormente, seleciona-se o local (Diretório) onde se encontra o arquivo da fotografia da armadilha adesiva a ser manipulada.

Após inserir a imagem da armadilha adesiva no software GIMP (camada inicial, Figura 2A), faz-se a sua duplicação para evitar que a manipulação seja feita na imagem original. Para duplicar a imagem (camada), deve-se acionar a barra inferior à direita do software GIMP, conforme mostrado na Figura 2A. Após duplicação da imagem original da armadilha, a nova camada (imagem) estará ativa e pronta para manipulação (Figura 2B).

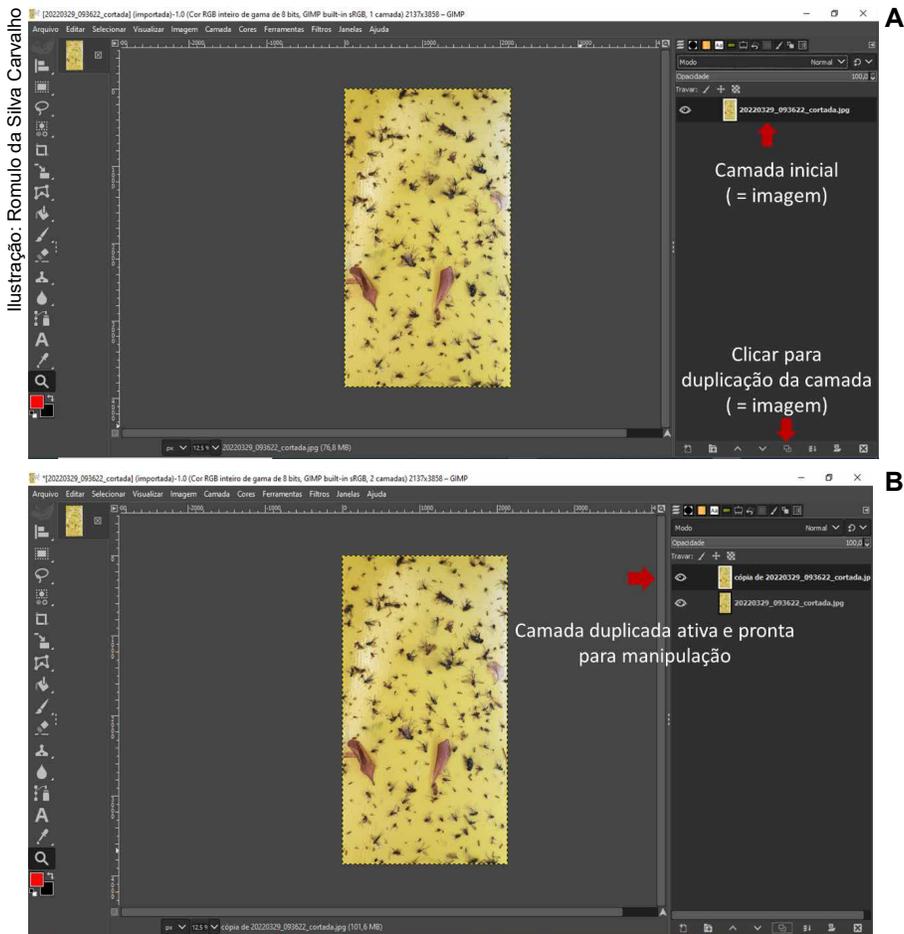


Figura 2. Procedimento para duplicar uma imagem (camada) no software GIMP. (A) Na barra inferior à direita da tela do software seleciona-se o ícone indicado com a seta vermelha; (B) Camada duplicada (cópia) estará ativa e pronta para manipulação.

Com a camada da imagem duplicada e ativa (Figura 2B), deve-se identificar e marcar com uma cor todos os adultos psíldeos capturados na imagem da armadilha adesiva, utilizando-se a ferramenta de pintura “pincel”. Essa ferramenta pincel pode ser acessada de duas formas: a primeira, pela barra de ferramentas superior do programa, acionando-se o item “Ferramentas” e, posteriormente, “Ferramentas de pintura” e, em seguida, clicando-se em “Pincel” conforme mostrado na Figura 3A. A segunda forma de acesso a essa ferramenta é via atalho localizado na barra de ferramentas à esquerda da tela do software, conforme mostrado na Figura 3B.

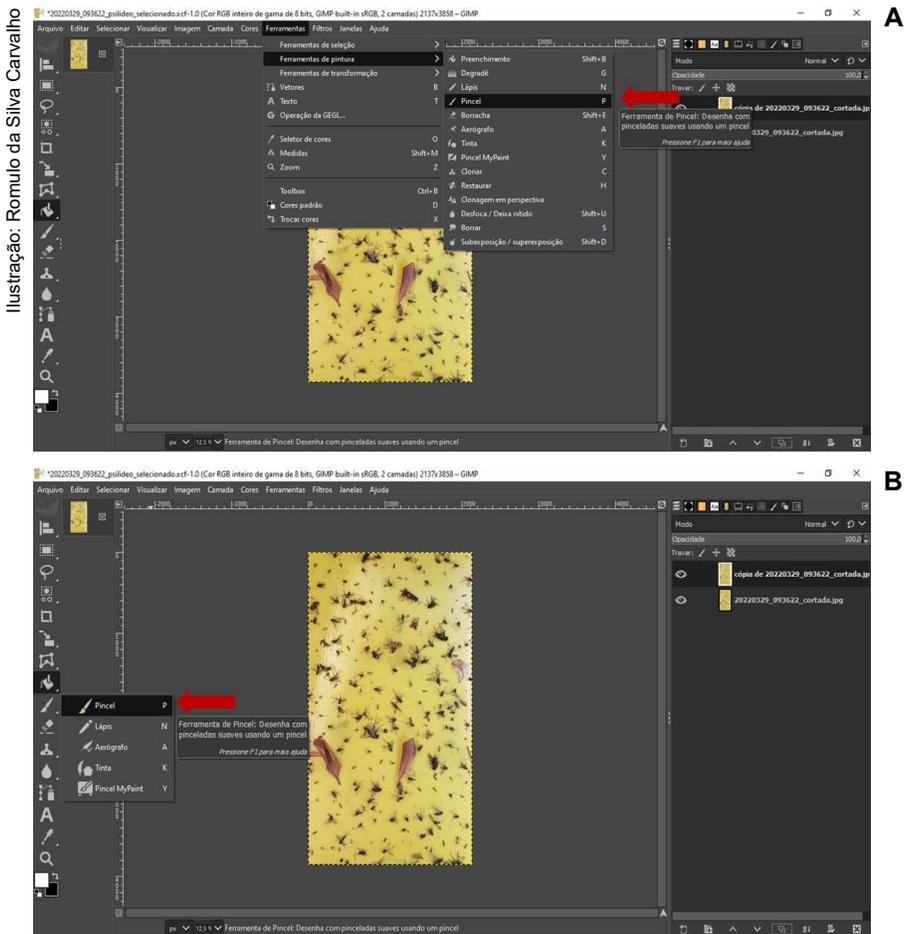


Figura 3. Formas de acessar a ferramenta de pintura “pincel” utilizada para marcação e seleção dos adultos do psíldeos capturados na armadilha adesiva: (A) Acesso barra de ferramenta do GIMP; (B) Acesso via atalho.

Após acessar a ferramenta pincel deve-se escolher uma cor para marcar os adultos de psilídeos capturados na armadilha adesiva clicando-se na barra lateral esquerda do software, conforme mostrado na Figura 4.

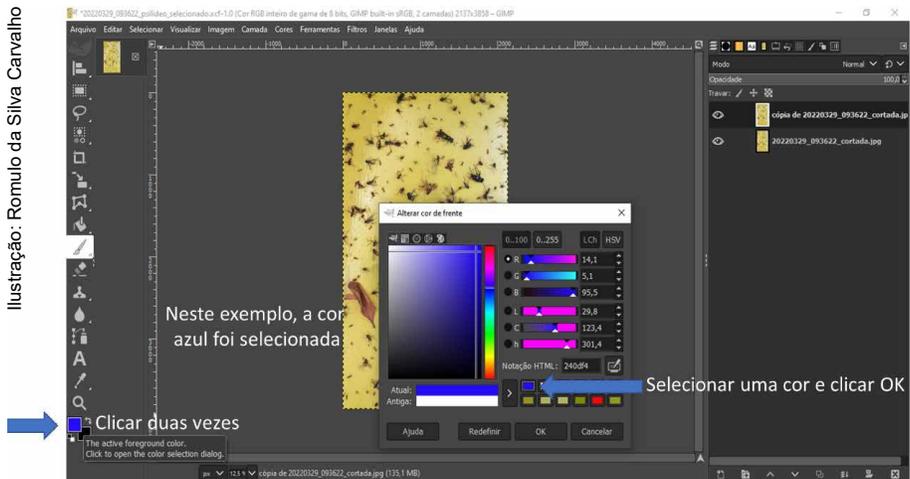


Figura 4. Procedimento de seleção de cor a ser usada na ferramenta pincel para marcar os adultos de psilídeos capturados na armadilha adesiva.

Após a seleção da cor para marcar os adultos do psilídeo, o técnico poderá utilizar a ferramenta de “zoom” localizada na barra de ferramentas lateral à esquerda que facilita a visualização do inseto vetor do HLB na tela do computador. Pressionando-se a tecla de atalho z mais o sinal + amplia-se a imagem, e pressionando a tecla z mais o sinal – a diminui (Figura 5).

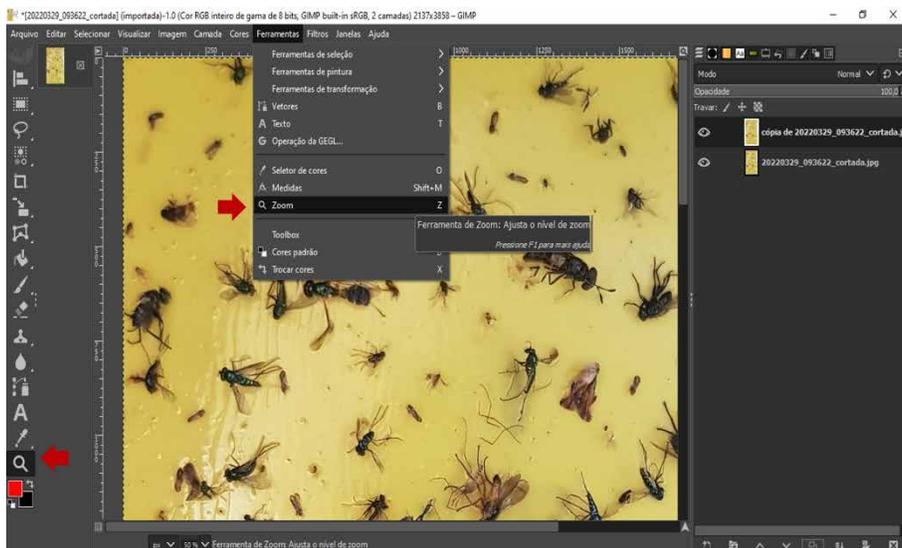


Figura 5. Procedimento para acessar a ferramenta “zoom” visando ampliar a imagem e facilitar a identificação e localização dos adultos do vetor do HLB *D. citri* na imagem da armadilha adesiva em manipulação no software GIMP.

Ressalta-se que durante a visualização dos psíldeos nas armadilhas, pode-se encontrar os adultos capturados de *D. citri* em posições e formatos variados do corpo, que pode confundir e dificultar a sua identificação pelo técnico. No sentido de facilitar a identificação dos adultos capturados nas armadilhas, são mostradas imagens de adultos comumente observadas com baixa resolução e que poderão ajudar na identificação e localização do inseto-alvo, conforme pode ser observado na Figura 6.

Para marcar com uma cor os adultos de psíldeos visualizados na imagem da armadilha, utiliza-se a ferramenta pincel, conforme mostrado na Figura 7.



Figura 6. Imagens de adultos do psíldeo dos citros *D. citri* quando observados em imagens digitais das armadilhas adesivas do monitoramento populacional, no computador, mostrando diferentes resoluções, posições e aspectos gerais do corpo do inseto-praga.

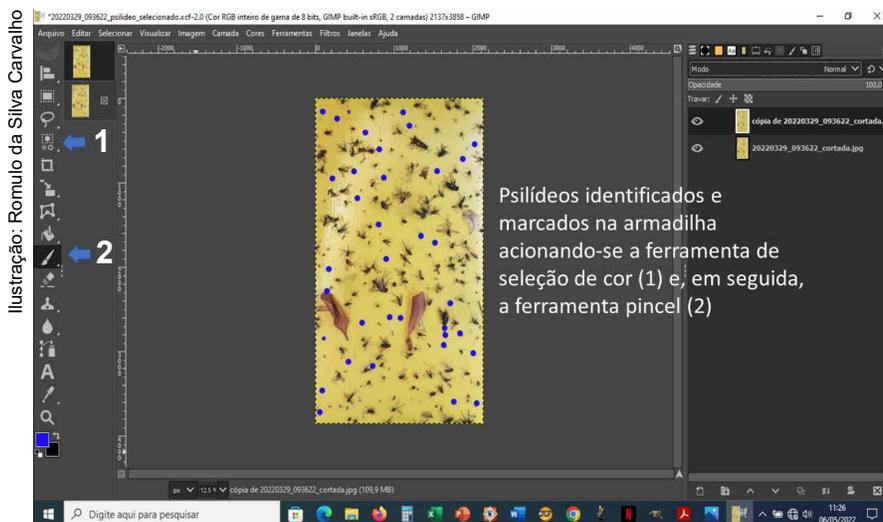


Figura 7. Marcação com círculo na cor azul dos adultos dos psíldeos *D. citri* nos locais de captura na armadilha adesiva.

Após identificar e marcar todos os adultos do psílídeos com círculos (cor azul), aciona-se a “Ferramenta de seleção de cor” localizada na barra de ferramentas da lateral esquerda do software GIMP (Figura 7-1). Em seguida, com a ferramenta pincel (Figura 7-2) clicar em qualquer um dos círculos da imagem ativa, o que resultará na seleção de todos os círculos marcados na imagem da armadilha adesiva (Figura 8).

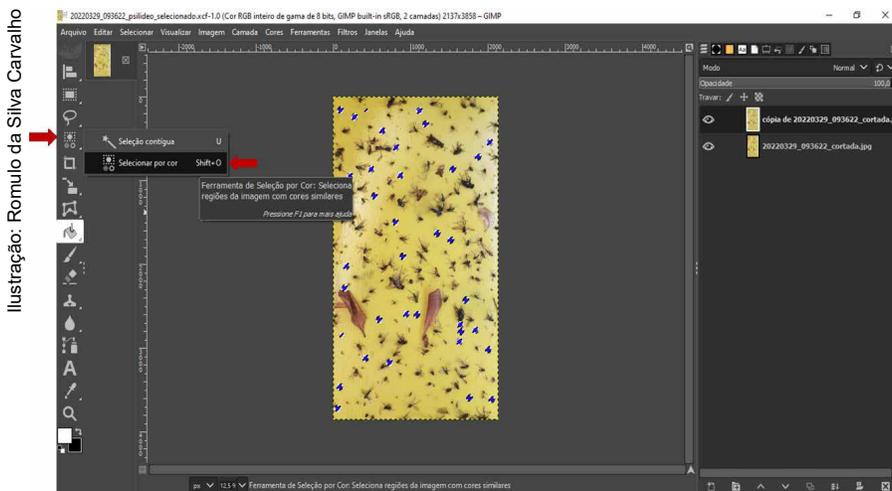


Figura 8. Seleção da ferramenta de seleção de cor permitirá selecionar as regiões da imagem com cores similares (ou iguais). Na imagem da armadilha adesiva, os círculos em azul representam os adultos de *D. citri* identificados e selecionados pelo técnico.

Ressalta-se que esses círculos em azul na imagem representam todos os psílídeos capturados na armadilha adesiva e serão utilizados para gerar uma nova imagem digital (no formato .jpg), que conterà apenas os psílídeos capturados. Para gerar essa nova imagem, deve-se acessar a barra de ferramentas superior do GIMP e clicar em “Editar” (Figura 9A-1), depois em “Copiar” (Figura 9A-2), depois em “Colar como” e, em seguida, clicar em “Nova Imagem” (Figura 9A-3). Este procedimento irá gerar a imagem denominada de “mapa de ocorrência do vetor do HLB” dessa armadilha adesiva, conforme mostrado na Figura 9B.

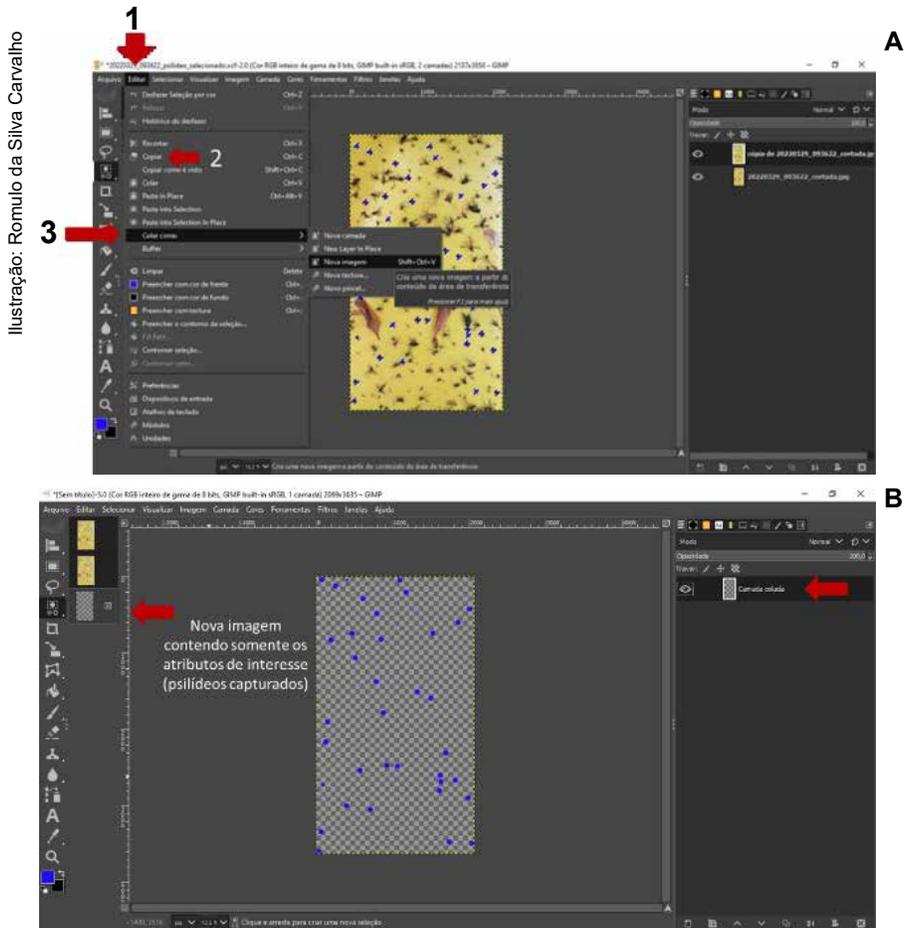


Figura 9. Procedimento para gerar nova imagem referente ao mapa de ocorrência do vetor do HLB. (A) acessar a barra de ferramentas superior do GIMP e clicar em “Editar”, depois em “Copiar”, depois em “Colar como” e, em seguida, clicar em “Nova Imagem”; (B) Nova imagem gerada e que representa o “mapa de ocorrência do vetor do HLB” que contém apenas os círculos em azul que representam os adultos de psilídeos capturados na armadilha adesiva.

A nova imagem gerada não tem cor de fundo (Figura 9B). Portanto, deve-se colorir o fundo da imagem com a cor branca para que o software Fiji ImageJ possa processá-la e analisá-la como uma imagem binária após seu processamento.

Para incluir a cor branca no fundo da imagem, seleciona-se a ferramenta de seleção por cor (Figura 10A) e, em seguida, clica-se em qualquer local quadriculado do fundo da imagem. Com este procedimento, todos os círculos devem ficar evidenciados (Figura 10B) e a imagem está pronta para a inclusão da cor de fundo (Figura 10C). Para isso, deve ser selecionada a ferramenta de pintura “preenchimento” (ícone no formato de balde) que fará a coloração do fundo da imagem com a cor branca (Figura 10A). Para selecionar a cor branca, deve-se clicar no último ícone da barra de ferramentas esquerda do software GIMP (conforme demonstrado na Figura 10B). Para proceder o preenchimento da cor de fundo, basta clicar no fundo da imagem (Figura 10D).

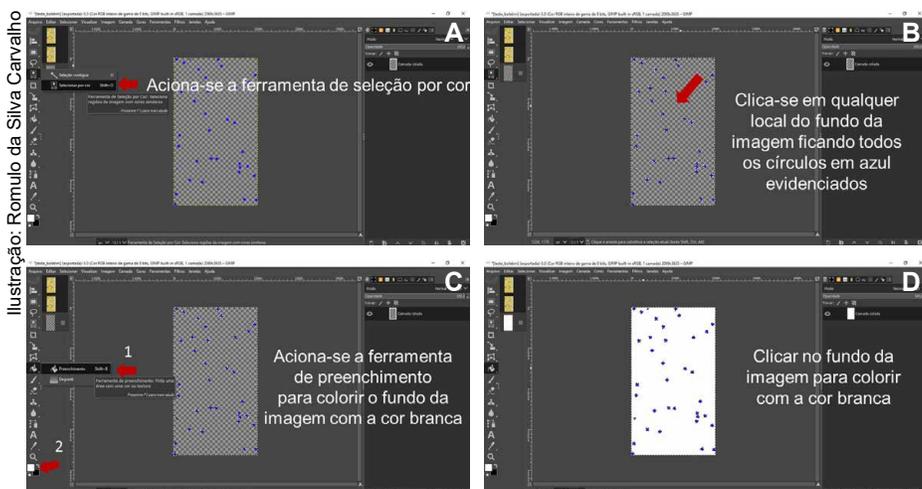


Figura 10. Etapas para colorir o fundo da nova imagem com a cor branca e gerar o mapa de ocorrência do vetor do HLB; (10A) Acionamento da ferramenta de seleção por cor; (10B) Selecionar um dos círculos que todos os outros círculos em azul que ficarão evidenciados; (10C-1) Seleção da ferramenta de pintura “preenchimento” clicando no ícone no formato de balde; (10C-2) Selecionamento da cor branca para colorir o fundo da imagem; (10D) Resultado da nova imagem denominada de mapa de ocorrência do vetor do HLB cujos círculos em azul representam os adultos de psilídeos capturados na armadilha adesiva.

Após colorir o fundo da imagem (Figura 10D) com a cor branca, deve-se exportar o arquivo acessando a barra de ferramentas superior da tela do GIMP, clicando em “Arquivo” e, em seguida, seleciona-se “exportar como” (Figura 11A).

Ilustração: Romulo da Silva Carvalho

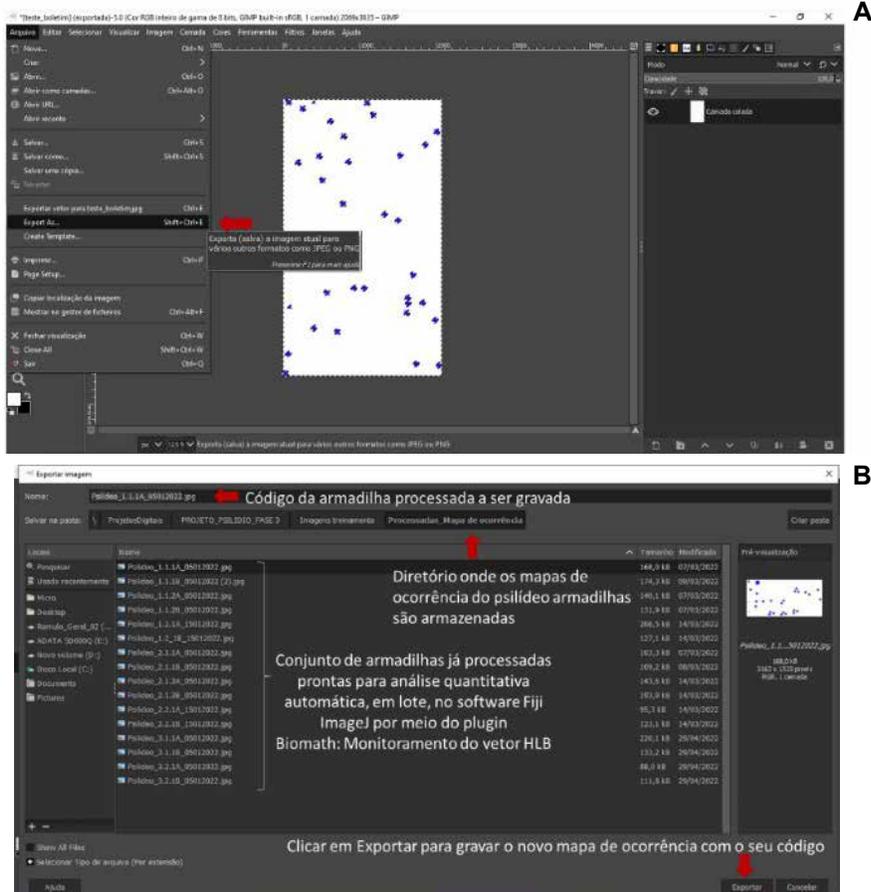
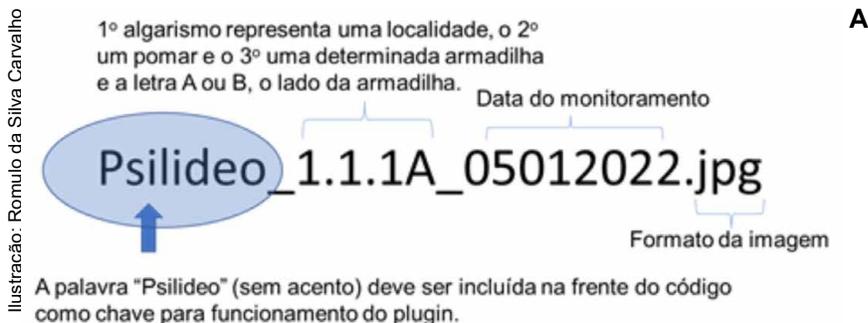


Figura 11. Procedimento para exportar a imagem gerada do mapa de ocorrência do vetor do HLB. (A) Acessar a barra de ferramentas superior da tela do GIMP, clicar em “Arquivo” e, em seguida, selecionar “exportar como”; (B) Deve-se salvar a imagem do mapa no diretório onde as outras imagens dos mapas de ocorrência do vetor do HLB foram armazenadas.

Ao exportar a imagem será necessário salvar a nova imagem. Ao denominar o arquivo da nova imagem, sugere-se seguir o padrão de código utilizado pela Agência de Defesa Agropecuária do Estado da Bahia (ADAB), descrita por Nascimento et al. (2012). Ressalta-se que no início da nomeação do código da armadilha, deve ser incluída a palavra-chave “Psilideo” (sem acento), pois permitirá o acionamento do plugin Biomath Monitoramento do vetor do HLB (Figura 12B). Recomenda-se que, previamente, crie-se um diretório (pasta)

específico para conter todas as imagens salvas dos mapas de ocorrência do vetor do HLB de cada armadilha adesiva com seus respectivos códigos (Figura 12B).



Exemplo de diretório onde se encontram as imagens dos mapas de ocorrência do vetor do HLB de cada armadilha do monitoramento

B

Nome	Data	Tipo	Tamanho
Psilideo_1.1.1A_05012022.jpg	31/08/2021 09:43	Arquivo JPG	165 KB
Psilideo_1.1.1B_05012022.jpg	09/03/2022 15:36	Arquivo JPG	171 KB
Psilideo_1.1.2A_05012022.jpg	07/03/2022 16:43	Arquivo JPG	137 KB
Psilideo_1.1.2B_05012022.jpg	31/08/2021 09:50	Arquivo JPG	329 KB
Psilideo_1.2.1A_15012022.jpg	14/03/2022 14:06	Arquivo JPG	202 KB
Psilideo_1.2.1B_15012022.jpg	14/03/2022 14:11	Arquivo JPG	125 KB
Psilideo_2.1.1A_05012022.jpg	07/03/2022 14:51	Arquivo JPG	101 KB
Psilideo_2.1.1B_05012022.jpg	08/03/2022 09:23	Arquivo JPG	107 KB
Psilideo_2.1.2A_05012022.jpg	14/03/2022 13:59	Arquivo JPG	141 KB
Psilideo_2.1.2B_05012022.jpg	14/03/2022 14:03	Arquivo JPG	190 KB
Psilideo_2.2.1A_15012022.jpg	14/03/2022 14:15	Arquivo JPG	94 KB
Psilideo_2.2.1B_15012022.jpg	14/03/2022 14:18	Arquivo JPG	321 KB
Psilideo_3.1.1A_05012022.jpg	29/04/2022 08:57	Arquivo JPG	215 KB
Psilideo_3.1.1B_05012022.jpg	29/04/2022 09:09	Arquivo JPG	131 KB
Psilideo_3.2.1A_05012022.jpg	29/04/2022 10:45	Arquivo JPG	88 KB
Psilideo_3.2.1B_05012022.jpg	29/04/2022 10:53	Arquivo JPG	110 KB

Figura 12. Exemplo de nome do código do mapa de ocorrência do vetor do HLB (A); exemplo de diretório criado para conter as imagens (lote) dos mapas de ocorrência de cada armadilha adesiva que serão processadas e analisadas automaticamente (B).

Reitera-se que a nomeação do arquivo por código deve ser realizada nesse padrão em todas as imagens do lote de imagens do mapa de ocorrência do vetor do HLB (Figura 12B) para que o plugin funcione corretamente.

Etapa 2: Quantificação automática do vetor do HLB

O plugin Biomath Monitoramento do vetor do HLB apoiará o estabelecimento de áreas regionais de manejo (ARMAs) e rotas sentinelas. Ele será disponibilizado durante curso de capacitação técnica do pessoal técnico das agências estaduais de defesa fitossanitária.

Uma vez disponibilizado o plugin, deve-se localizar na área de instalação do aplicativo (Fiji app), o subdiretório denominado “plugins” que é o local para onde deve ser copiado o arquivo de programação do plugin (Figura 13). Para instalação do software Fiji ImageJ deve-se acessar o endereço: <https://imagej.net/software/fiji/>.

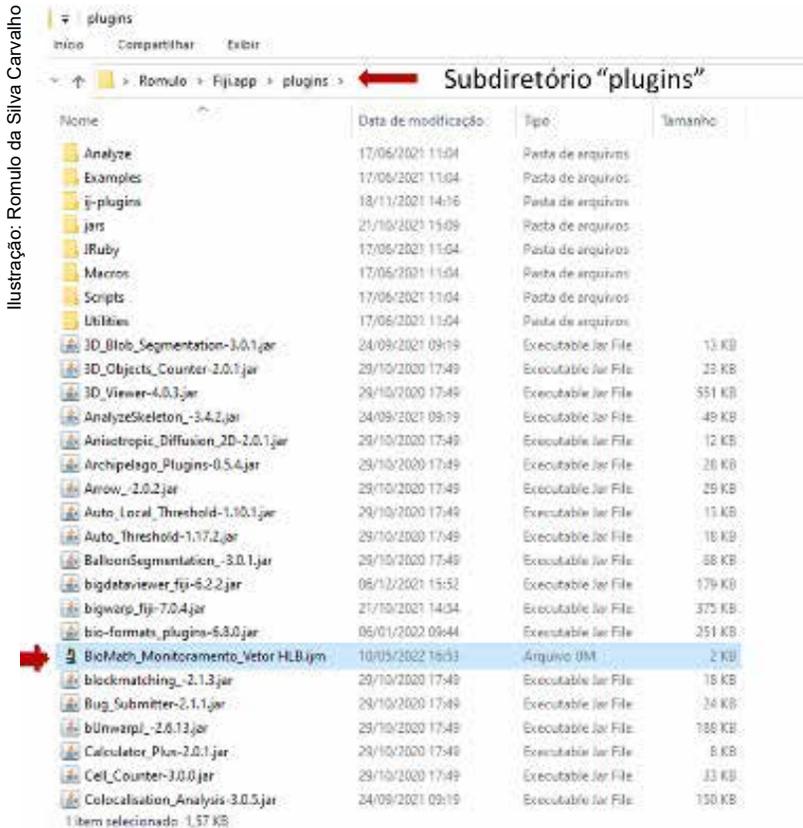


Figura 13. Plugin BioMath Monitoramento do vetor do HLB inserido no diretório plugins do software Fiji ImageJ para instalação.

Em seguida, na barra de ferramentas do software Fiji ImageJ, clica-se em “Plugin s” e, depois, em “Install” (Figura 14A), sendo aberta uma janela do diretório “plugins”, onde se encontra o arquivo de programação do plugin “Biomath_Monitoramento_Vetor_HLB.ijm” que foi previamente inserido nesse diretório (Figura 13). Para instalá-lo e torná-lo operante, clica-se no arquivo e

em seguida em “Abrir” (Figura 14B). Ressalta-se que o técnico deverá reiniciar o software Fiji ImageJ e, após ser reiniciado, o plugin já estará disponível na listagem de plugins do software (Figura 14C).

Ilustração: Romulo da Silva Carvalho

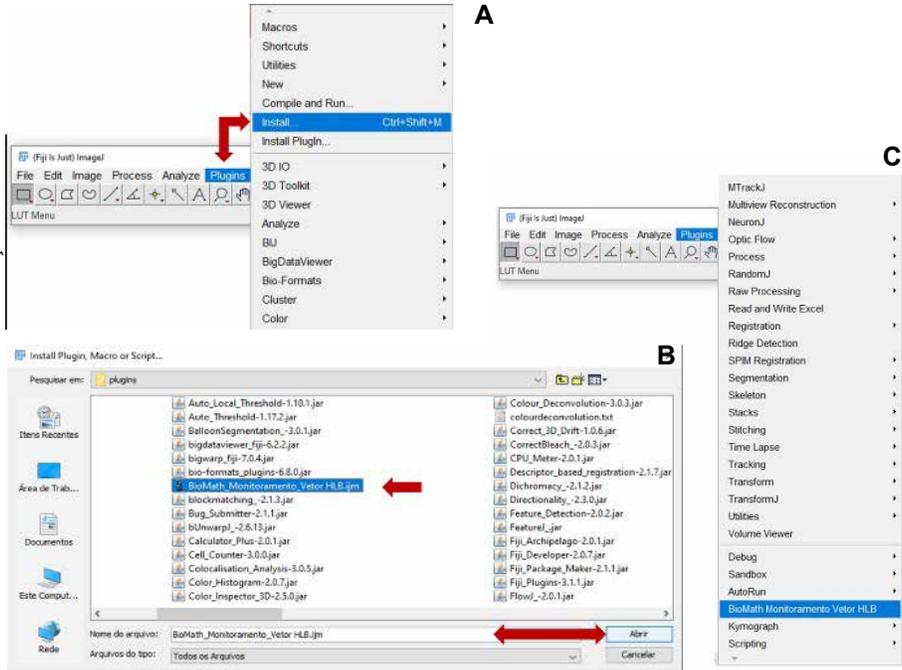


Figura 14. Procedimento para instalar o plugin Biomath Monitoramento vetor HLB no software Fiji ImageJ. (A) Aciona a barra de ferramentas na aba “Plugins” clicar em install; (B) Localizar o diretório “plugins” onde o arquivo do plugin “Biomath_Monitoramento_Vetor_HLB.ijm” foi previamente copiado; (C) Interface da listagem de plugins ativos para acionamento, onde se observa evidenciado o plugin Biomath Monitoramento vetor HLB.

Ao acionar o plugin Biomath Monitoramento vetor HLB, o técnico usuário deverá indicar o local onde se encontra o diretório contendo todos os arquivos de imagens dos mapas de ocorrência do vetor do HLB. Em seguida, o pós-processamento e a análise digital de todas as imagens do lote dos mapas de ocorrência do vetor do HLB serão realizados de forma automática, gerando os dados de captura dos psílídeos em planilha no formato CSV da sigla *Comma Separated Values* (em português, valores separados por vírgula) (Figura 15A e 15B) que deve ser transformado, posteriormente, para o formato XLSX do Excel.

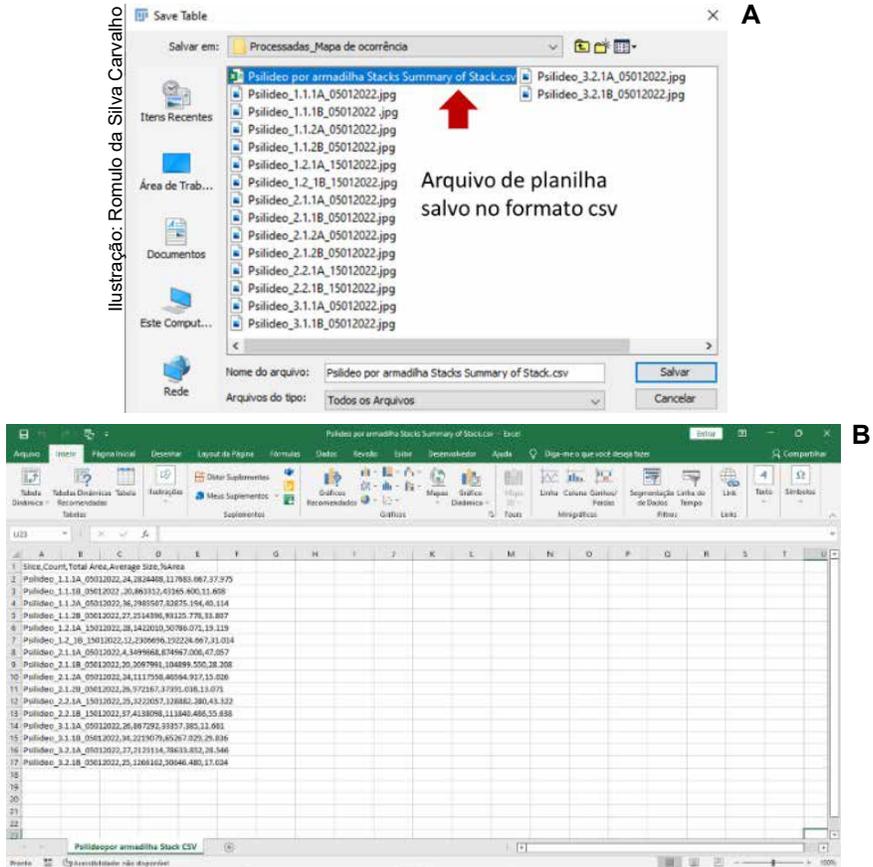


Figura 15. (A) Planilha de dados gerada após a análise quantitativa do lote de imagens dos mapas de ocorrência do vetor do HLB; (B) Arquivo no formato texto separado por vírgula (CSV) gerado que deve ser transformado para o formato XLSX do Excel.

A transformação do formato CSV para o formato colunas do Excel é feita de forma simples e automática. Basta acessar no software Excel a aba “Dados” (Figura 16A-1) e, em seguida, clica-se em “De text/CSV” para importar o arquivo de dados no formato CSV (Figura 16A-2) e, para convertê-lo, deve-se selecionar o arquivo de dados CSV no diretório (pasta) que foi salvo (Figura 16A-3), clicar em “Importar” (Figura 16A-4), e posteriormente clicar em “Carregar” para que seja feita a importação e transformação automática do arquivo CSV para o novo formato em colunas XLXS do Excel, conforme mostrado nas Figuras 17B e 17C.

Ilustração: Romulo da Silva Carvalho

A

B

C

Stack	Count	Total Area	Average Size	Infusora
Pdlideop_1.1.1A_05012022	24	3924480	163500	11938487
Pdlideop_1.1.1B_05012022	20	865313	43165400	11508
Pdlideop_1.1.2A_05012022	36	2982507	82875191	40116
Pdlideop_1.1.2B_05012022	27	2514396	93125778	33887
Pdlideop_1.2.1A_15012022	28	14273018	507880371	16919
Pdlideop_1.2.1B_15012022	12	2306696	192224467	31014
Pdlideop_1.1.2A_05012022	6	3499988	67969700	11057
Pdlideop_1.1.1B_05012022	20	2021991	104699510	21628
Pdlideop_1.1.2A_05012022	24	1117558	46564917	15006
Pdlideop_1.1.2B_05012022	26	572187	37393338	13071
Pdlideop_2.2.1A_15012022	25	2222057	128882280	43222
Pdlideop_3.2.1B_15012022	37	4138098	111840486	55648
Pdlideop_1.1.1A_05012022	26	867292	35157589	11661
Pdlideop_1.1.1B_05012022	24	2225079	85267229	21628
Pdlideop_1.2.2A_05012022	27	2121314	78622812	28546
Pdlideop_1.2.2B_05012022	25	1266182	50646480	17034

Figura 16. Procedimento para importação e transformação do arquivo CSV (*Comma Separated Values*) para o formato XLSX do Excel; (A) Importação do arquivo CSV gerado; (B) Carregamento do arquivo CSV; (C) Nova planilha gerada contendo os dados transformados no formato XLSX do Excel.

Resultados e discussão

O acionamento do plugin Biomath Monitoramento do vetor HLB no software Fiji ImageJ (Figura 14C), resulta no início de uma sequência automática de ações de processamento de imagens e análise quantitativa no lote de imagens dos mapas de ocorrência do vetor do HLB (Figura 17A) em diretório local indicado pelo técnico usuário (Figura 17B).

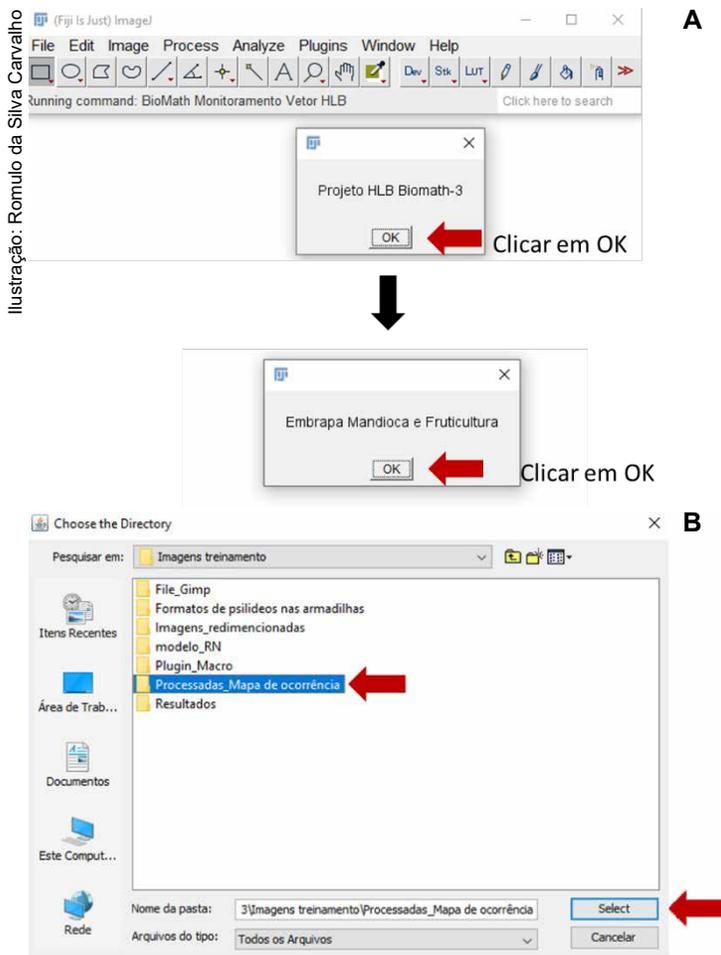


Figura 17. Sequência para execução do plugin BioMath Monitoramento vetor HLB. (A) Botões iniciais de apresentação do plugin; (B) Local do diretório indicado pelo técnico usuário onde se encontram o lote de arquivos de mapas de ocorrência do vetor do HLB obtidos na primeira etapa de pré-processamento.

Ao ser acionado, o plugin assume o controle do processamento e análise quantitativa dos adultos do psilídeo capturados em cada armadilha, resultando numa planilha de dados (Figuras 18A e 18B) que é salva pelo usuário no formato texto (CSV), seguindo o procedimento descrito na Figura 15.

Contudo, devido ao fato dessa metodologia utilizar artifício computacional adaptado da análise de partículas celulares utilizados em estudos da área biomédica, gera-se também na análise quantitativa, dados “colaterais” sobre área total, média de tamanho e percentual da área dos círculos em azul (Figura 18A) e que não interessam ao monitoramento do vetor do HLB, devendo ser desconsiderados (Figura 18B, colunas C, D, E em destaque na cor vermelha). Portanto, deve-se utilizar apenas os dados das colunas A e B, cujo conteúdo refere-se aos códigos de cada armadilha do lote das imagens dos mapas de ocorrência do vetor do HLB e respectivos dados de captura dos psilídeo de cada armadilha (Figura 18B, colunas A e B em destaque na cor azul).

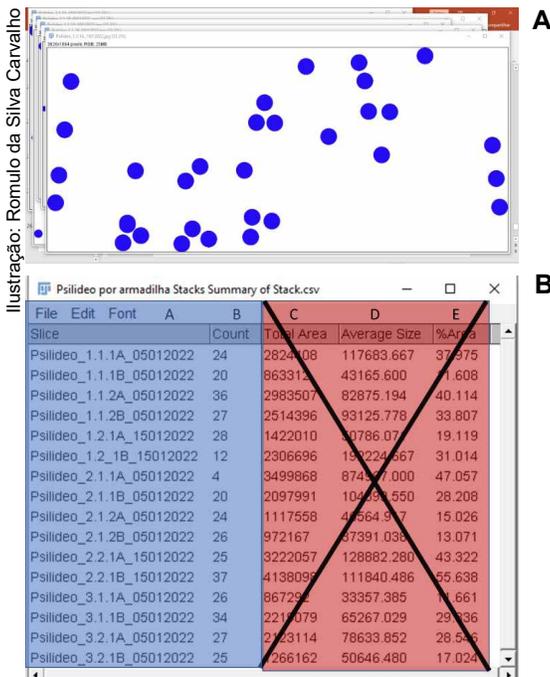


Figura 18. (A) Resultado do processamento automático realizado pelo plugin Biomath monitoramento do vetor HLB; (B) Resultado da análise quantitativa onde, em azul, observa-se os códigos das armadilhas e respectivos quantitativos de psilídeos capturados em cada armadilha e, em vermelho, a análise quantitativa da área total, média de tamanho e percentual de tamanho dos círculos das imagens dos mapas de ocorrência do vetor do HLB que não interessam ao objetivo do monitoramento do vetor do HLB.

Essa metodologia preserva todas as imagens das armadilhas do monitoramento e os dados de captura de adultos do psilídeo no formato digital, possibilitando a realização de estudos temporais sobre a ocorrência e flutuação populacional do vetor do HLB nas áreas e regiões monitoradas (Figura 19A e 19B).

Ilustração: Romulo da Silva Carvalho

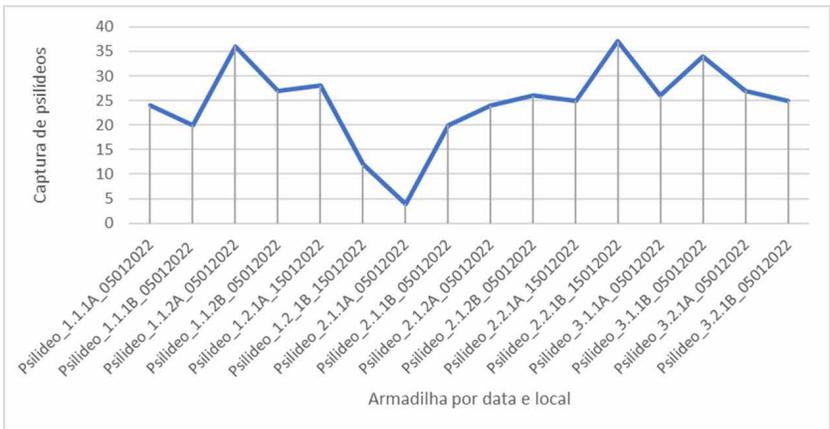
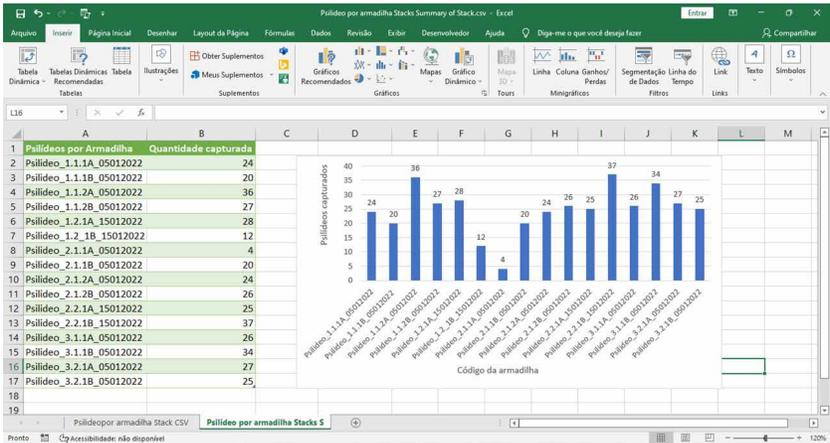


Figura 19. Exemplo hipotético de monitoramento digital do psilídeo *D. citri* que gera dados que possibilitam análises temporais importantes sobre a captura do vetor do HLB (A) e de flutuação populacional (B) nas áreas ou regiões monitoradas facilitando a tomada de decisão das ações de controle do inseto vetor do HLB dos citros.

Por fim, a metodologia destaca-se com o diferencial de poder ser executada no computador o que proporciona maior conforto, menor esforço e fadiga laboral do técnico, até mesmo a redução no número de pessoas envolvidas nessa etapa de execução do monitoramento de três para apenas uma pessoa quando comparada com o procedimento em atualmente uso e descrito por Nascimento et al. (2012).

Conclusão

Conclui-se que a metodologia descrita cumpre o objetivo de apoiar o monitoramento do vetor do HLB *D. citri*, na etapa de laboratório, considerada a mais trabalhosa no que se refere à identificação e à quantificação de psílidos capturados nas armadilhas adesivas. O procedimento metodológico é executado de forma otimizada por apenas um técnico nessa etapa do monitoramento, sendo executada com baixa complexidade computacional, menor fadiga e risco laboral ao eliminar o uso de solventes na operação de limpeza da cola da armadilha nos materiais utilizados no monitoramento na etapa de laboratório. Por se tratar de solução tecnológica digital que visa apoiar a defesa fitossanitária nessa etapa trabalhosa do monitoramento de *D. citri*, contribui com a logística da coleta de dados de captura do inseto-alvo nas armadilhas adesivas, podendo ser utilizada em apoio ao estabelecimento de áreas regionais de manejo (ARMAs) e rotas sentinelas.

Referências

AKSENOV, A. A.; PASAMONTES, A.; PEIRANO, D.J.; ZHAO, W.; DANDEKAR, A. M.; FIEHN, O.; EHSANI, R.; DAVIS, C. E. Detection of Huanglongbing Disease Using Differential Mobility Spectrometry. *Analytical Chemistry*, v.5, p.2481-2488, 2014. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac403469y>. Acessado em: 26 abr.2022.

GAIRE, U.; ALBRECHT, U.; OZGUR BATUMAN, O.; QURESHI, J.; ZEKRI, M. ALFEREZ, F. Individual protective covers (IPCs) to prevent Asian citrus psyllid and *Candidatus Liberibacter asiaticus* from establishing in newly planted citrus trees. **Crop Protection**, v. 152, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S026121942100332X>. Acesso em: 27 abr. 2022.

GARZA-SALDANA, J. J.; VARELA-FUENTES, S.; GOMEZ-FLORES, W. Métodos para la detección presuntiva de Huanglongbing (HLB) en cítricos. **CienciaUAT**, Ciudad Victoria, v.11, n.2, p.93-104, 2017. Disponível em: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-78582017000100093&lng=en&nrm=iso. Acesso em: 24 maio 2022.

- GÓMEZ-FLORES, W., GARZA-SALDAÑA, J. J.; VARELA-FUENTES, S. E. Detection of Huanglongbing disease based on intensity-invariant texture analysis of images in the visible spectrum. *Computers and Electronics in Agriculture*, v.162, p. 825-835, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168169918315497>. Acesso em: 26 abr. 2022.
- MONZO, C.; AREVALO, H. A.; JONES, M. M.; VANACLOCHA, P.; CROXTON, S. D.; QURESHI, J. A.; STANSLY, P. A. Sampling Methods for Detection and Monitoring of the Asian Citrus Psyllid (Hemiptera: Psyllidae). *Environmental Entomology*, v. 44, n.3, p. 780-788, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ee/nvv032>. Acesso em: 27 abr. 2022.
- NASCIMENTO, A. S. do; SILVA, S. X. de B.; SANCHES, N. F.; SANCHES, I. B. N.; ANDRADE, E.C. de; LARANJEIRA, F.F. Procedimentos para o monitoramento populacional de *Diaphorina citri*, vetor do huanglongbing (HLB) dos citros. In: CONFERÊNCIA, 3., 2012, Salvador. **Defesa agropecuária responsabilidade compartilhada**: livro de resumos. Salvador: Sociedade Brasileira de Defesa Agropecuária e a Sociedade de Medicina Veterinária da Bahia; SEAGRI; ADAB, 2012. p. 225. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/945144/1/PROCEDIMENTOSPARAOMONITORAMENTO225.pdf>. Acesso em: 25 abr. /2022.
- NAVA, D. E.; UENO, B.; MELO, M.; CARBONARI, J. J.; DANIELI, R.; GRASELLI, V.; GONÇALVES, R. da S.; FILIPPINI ALBA, J. M.; ALMEIDA, I. R. de; OLIVEIRA, R. P. de. **Bioecologia, danos e controle de *Diaphorina citri* e do Huanglongbing em citros e resultado do monitoramento e zoneamento para o Rio Grande do Sul**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2012. 26 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 363). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/110937/1/Documento-363-web.pdf>. Acesso em: 27 abr. 2022
- POURREZA, A.; LEE, W.S.; EHSANI, R.; SCHUELLER, J.K.; RAVEH, E. An optimum method for real-time in-field detection of huanglongbing disease using a vision sensor. *Computers and Electronics in Agriculture*, v. 110, p. 221-232, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168169914003044>. Acesso em: 26 abr. 2022.
- QIAO, M., LIM, J., JI, C.W., CHUNG, B.K., KIM, H.Y., UHM, K.B., MYUNG, C.S., CHO, J. AND CHON, T.S. Density estimation of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) in a greenhouse using sticky traps in conjunction with an image processing system. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, v. 11, n. p. 25-29, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2008.03.002>. Acesso em: 27 abr. 2022.
- SCHUHLI, G. S. e. **Contagem automática de insetos em armadilhas adesivas: uma sugestão baseada no monitoramento de *Sciaridae***. Colombo: Embrapa Florestas, 2013. 7 p. (Embrapa Florestas. Comunicado técnico, 330).. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/974611/1/CT-330-Schuhli1.pdf>. Acesso em: 24 maio 2022.



Mandioca e Fruticultura

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



PÁTRIA AMADA
BRASIL
GOVERNO FEDERAL

CGPE 017890