حس‌گرهای تصویری و کاربرد آن‌ها در ردیابی انواع بیمارگرهای گیاهی

فاطمه خلقتی بناء، کبری مسلم خانی و فرشید حسنی
اعضای هیأت علمی موسسه

ردیابی درست و سریع بیمارگرهای گیاهی به ویژه بیمارگرهای بذر زاد در نخستین مراحل بیماری در مزرعه و تعیین پراکنش و کمیت بیماری، اساس برنامه‌ریزی‌های هدفمند را در کنترل و گواهی بذر و نهال، حفاظت از محصول و پیش‌بینی پراکنش زمانی و فضایی بیماری را تشکیل می‌دهد. روش‌های ردیابی و تشخیص بیمارگرهای گیاهی راهی بسیار طولانی را پیموده و دست خوش تغییرات و پیشرفت‌های زیادی بوده‌اند. مشاهده و شناسایی ساختارهای قارچ بیمارگر به کمک میکروسکوپ نوری، جداسازی بیمارگر از گیاه، کشت آن در محیط‌های مصنوعی و بررسی ویژگی‌های مورفولوژیکی یا بیوشیمیایی بیمارگر، روش های سرولوژیکی مانند الایزا[1] و روش های مولکولی مانند واکنش زنجیره ای پلی مراز[2] تنها بخشی از فهرست بلند روش‌هایی است که تاکنون برای ردیابی و شناسایی انواع بیمارگرهای گیاهی اعم از بذرزاد و غیر بذرزاد، استفاده شده است. تخمین مقدار آلودگی بیمارگر نیز برای تصمیم‌گیری در مدیریت بیماری، انتخاب ژرم پلاسم، واریته یا کولتیوار مقاوم در به نژادی و درک اساس بیولوژی بیمارگر و اپیدمیولوژی بیماری، بسیار مهم و حیاتی است. سنجش از دور در کشاورزی به روش‌هایی گفته می‌شود که برای کسب اطلاعات از گیاهان یا محصولات نیازی به تماس مستقیم و تخریبی گیاهان نیست. این مفهوم به روش های سنجش مواد گیاهی در دامنه محدود و مقیاس کوچک نیز تسری داده شده است. با توسعه سامانه‌های سنجش از دور[3]، و با تلفیق روش‌های جدید و روش‌های سنتی، سیستم‌های خودکار، هدفمند و قابل اعتماد در کشاورزی طراحی و ساخته شدند. حس‌گرهای نوری از ابزارهای امید بخش در توسعه این سیستم‌ها هستند که شمار و کاربرد آن‌ها در کشاورزی روبه افزایش است. انواع حس‌گرها و نمای کلی فناوری‌های مبتنی بر حس‌گرها و کاربرد آن‌ها در کشاورزی دقیق شامل تعیین وضعیت گیاه در مقیاس‌های مختلف از تک سلول تا اکوسیستم‌های کامل، کاربرد پلتفرم‌های مختلف بسته به مقیاس مورد نظر و پارامترهای قابل مشاهده گیاهی بسته به پلتفرم و نیز ردیابی و شناسایی انواع تعامل گیاه/ بیمارگر در شکل ۱ نشان داده شده است. با پیشرفت‌های اخیر در ساخت حس‌گرهای نوری، توسعه سیستم‌های جمع‌آوری اطلاعات جغرافیایی و نیز پیشرفت فناوری اطلاعات، فصل جدیدی در بیماری‌شناسی گیاهی گشوده شد. یکی از مشکلات و محدودیت‌های حس‌گرهای نوری، حجم بالا و پیچیدگی

شکل ۱-انواع حس‌گرها و فناوری‌های مبتنی بر آن‌ها در ردیابی و شناسایی تعامل گیاه/ بیمارگر و کاربرد این حس‌گرها در کشاورزی دقیق

بسیار داده‌های جمع‌آوری شده توسط این حس‌گرها است. استفاده کارآمد از این داده‌ها توسط کاربر مستلزم بهره‌گیری از یک رابط کاربری بسیار قوی است. رعایت یکنواختی در بزرگنمایی، وضوح و نورپردازی در عکس برداری جهت گرفتن نتایج درست و قابل تکرار بسیار مهم است. مهم‌ترین پیش‌نیاز در موفقیت حس‌گرها برای ردیابی و شناسایی بیماری‌های گیاهی، استانداردسازی مراحل اجرای روش های مبتنی بر حس گرها است که به نوبه خود نیازمند بهره گیری از روش‌های آماری، تجزیه و تحلیل داده و داده‌کاوی[۴] است.

داده‌های جمع‌آوری شده در صورتی موفق و مفید خواهند بود که دارای چندین ویژگی مهم باشند: الف) ردیابی و شناسایی بیماری را در مراحل نخستین وقوع بیماری امکان پذیر سازند ب) توانایی تمایز بیماری‌های مختلف را از یکدیگر داشته باشند. ج) توانایی تشخیص علائم بیماری از تنش‌های غیر زنده را داشته باشند. د)کمی‌سازی شدت بیماری و برآورد آن را امکان پذیر سازند ذ) ردیابی، شناسایی و برآورد بیماری را با دقتی برابر یا بیشتر از روش‌های استاندارد و در مدت زمانی کوتاه‌تر انجام دهند. حس‌گرهای نوری در چندین پلتفرم مختلف شامل میکروسکوپ دیجیتال، تراکتور یا وسایل نقلیه دیگر، ربات‌ها، پلتفرم‌های پربرونداد[۵] ، پهپادها و ماهواره‌ها قابل نصب

هستند(شکل ۱). حتی در محل های استراتژیک می توان از حس‌گرهای درجا استفاده کرد.

کاربردحس‌گرهای نوری در ردیابی بیماری‌های گیاهی

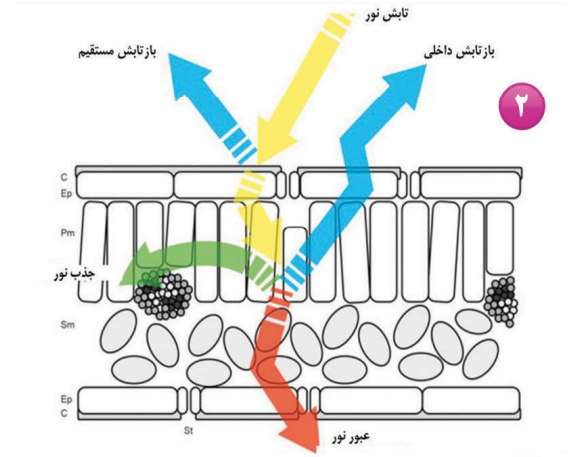
تصویربرداری RGB

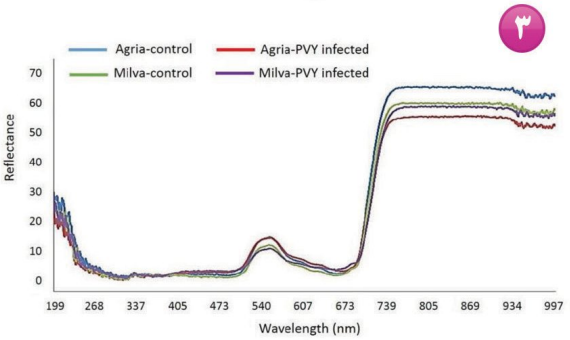
تصویر برداری RGB با دوربین های دیجیتال، یکی از منابع مهم رنگ های قرمز، سبز و زرد و در دسترس برای ردیابی، شناسایی و تعیین کمیت بیماری‌های گیاهی است. حس‌گرهای RGB با قدرت‌های تفکیکی متفاوت، برای پایش گیاه در طول دوره رشد استفاده می‌شوند. استفاده از اطلاعات و الگوهای شناخته شده از تصاویر RGB در هوش مصنوعی می‌تواند در ردیابی و شناسایی بیماری‌های گیاهی به‌کار گرفته شود. چندین بسته نرم‌افزاری مانند« Leaf Doctor »، « ASSESS 2.0 » و « Scion Image» برای آنالیز تصاویر دیجیتال در دسترس هستند. بسته نرم افزاری ASSESS 2.0 توزیع رنگ‌ها را در هیستوگرام‌ها تجزیه و تحلیل می‌کند. در این بسته نرم افزاری، پارامترهای مربوط به نواحی بیمار و سالم محاسبه شده است. امروزه شناسایی و تخمین میزان آلودگی به عوامل بذرزاد *Uromyces beta* و *Phoma betae* در چغندر قند با استفاده از آنالیز تصاویر RGB به کمک اپلیکشن‌های قابل نصب در تلفن همراه امکان پذیر می‌باشد.

حس‌گرهای بازتابشی چند طیفی و فراطیفی[۶]

طیف سنجی عبارت است از مطالعه تعامل مواد با امواج الکترومغناطیسی و میزان جذب یا بازتاب این امواج به وسیله ماده مورد آزمون حس‌گر های طیفی عموماً براساس قدرت تفکیک طیف ها، نوع سیستم حس‌گر شامل تعداد و پهنای باند، تصویری یا غیر تصویری بودن حس‌گر، گروه‌بندی می شوند. حس‌گرهای چند طیفی نخستین حس‌گرهای طیفی بودند که معرفی شدند. این حس‌گرها معمولاً اطلاعات طیف‌سنجی هدف را در چندین باند نسبتاً عریض از محدوده های طول موج ارزیابی می کنند. دوربین های تصویر برداری چند طیفی، ممکن است داده های خود را به صورت امواج الکترو مغناطیسی در هریک از محدوده‌های طول موج قرمز، سبز و آبی یا باند امواج نزدیک به مادون قرمز[۷] ارائه کنند. حس‌گرهای ویژه امواج فراطیف به دلیل توانایی در تشخیص و درک حجم بالایی از اطلاعات، از مهمترین حس‌گرهای ساخته شده به شمار می‌روند. تصویربرداری فراطیف، در سه دهه گذشته کاربرد های متعددی در کشاورزی یافته است. نقشه برداری از زمین‌های کشاورزی و پوشش گیاهی منطقه، پایش کیفیت میوه، ردیابی آلودگی به آفات و علف‌های هرز در محصول، ردیابی و تعیین کمیت بیماری در محصول، نمونه‌هایی از کاربرد این فناوری در کشاورزی است. تصویربرداری فراطیفی به ویژه در بیماری شناسی گیاهی، با تولید اطلاعات فراوان از گیاه آلوده، در ردیابی علائم و تخمین میزان آلودگی به بیماری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این فناوری در حقیقت تلفیقی است از دانش طیف سنجی[۸] و تصاویر فضایی که از ترکیب داده های هم‌زمان طیف سنجی و تصاویر فضایی استفاده می کند. حس‌گرهای فراطیفی جدید به علت افزایش دامنه طیف سنجی از ۳۵۰ نانومتر تا ۲۵۰۰ نانومتر و افزایش قدرت تفکیک به کمتر از ۱ نانومتر، داده‌های پیچیده‌تری را نسبت به انواع قدیمی‌تر ارائه می‌دهند. داده‌های فراطیف به‌صورت ماتریس‌های بسیار بزرگی از اطلاعات مربوط به محورهای فضایی x و y و تراکم بازتاب امواج مغناطیسی در بعد z، ارائه می‌شوند. وضوح فضایی تصویر گرفته شده به شدت به فاصله میان حس‌گر و هدف تصویربرداری، بستگی دارد. بنابراین سیستم‌های تصویربرداری از هوا یا فاصله دور، قدرت تفکیک کمتری نسبت به تصویربرداری از نزدیک یا توسط میکروسکوپ دارند. باید دانست که قدرت تفکیک فضایی تأثیر بسیاری بر توانایی ردیابی بیماری گیاهی یا تعامل‌های گیاه با بیمارگر دارد. حس‌گرهای هوایی برای شناسایی و ردیابی بخش‌هایی از سطح مزرعه که به صورت لکه‌ای توسط عوامل خاکزاد آلوده شده‌اند یا ردیابی بیماری در مراحل انتهایی آن است، مناسبند. اما برای ردیابی بیماری در گیاهان، بذر یا غده به صورت انفرادی، به پلتفرم‌های مجهز به تصویربرداری از نزدیک[۹] نیاز است. سطوح گیاهی پس از بازتابش نور مورد تجزیه و تحلیل قرار می‌گیرد. برای نمونه، واکنش برگ در برابر نور به سه صورت خلاصه می‌شود: بخشی از نور، از برگ عبور می‌کند. بخشی از آن به وسیله مواد شیمیایی برگ جذب می‌شود و بخش دیگری از آن از سطح برگ به‌طور مستقیم یا پس از عبور از ساختارهای داخلی آن، بازتاب می‌شود(شکل ۲). بنابراین، بازتاب نور از سطوح گیاهی پدیده‌ای بسیار پیچیده است و نتیجه آن در تعاملی چندگانه با مشخصات بیوفیزیکی مانند ویژگی های سطح و ساختار بافت برگ ، مشخصات بیوشیمیایی مانند میزان رنگدانه و آب در بافت برگ تعیین می‌شود. دامنه نور مرئی[۱۰] با طول موج ۴۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر بیشتر متأثر از رنگدانه های موجود در برگ است. در حالی‌که بازتابش نور نزدیک به مادون قرمز، به ساختار برگ و فرآیندهای پراکنده در بافت برگ و میزان جذب نور به وسیله مولکول‌های آب بستگی دارد. امواج مادون قرمز با طول موج ۱۱۰۰ تا ۲۵۰۰ نانومتر، تحت تأثیر ترکیبات شیمیایی برگ و میزان آب موجود در برگ قرار می‌گیرند. آسیب و اختلال در ساختار برگ و ترکیب مواد شیمیایی در جریان بیماری که برای هر بیمارگر بسیار اختصاصی است، موجب تغییرات بازتابش نور می‌شود. وجود الگویی بسیار پیچیده و اختصاصی در آلودگی به هریک از بیمارگرها، امکان ردیابی و شناسایی بیمارگر را براساس ویژگی‌های طیفی بافت گیاهی

آلـوده فراهـم مـی‌سـازد. تصویربـرداری فراطیف از نـوع نزدیک توانسـت بیمارگرهـای تولیدکننـده توکسـین را در دانه‌های ذرت و گندم شناسـایی





شـکل ۲- رفتـار بـرگ در مقابـل نور تابیده شـده: عبـور، جذب و بازتابـش نور بر اسـاس ویژگی‌های سـطحی و داخلی برگ. شـکل۳- بازتابش طیفی دو کولتیوار اگریـا و میلـوا آلـوده بـه ویـروس PVY در مقایسـه بـا شـاهد سـالم. شـکل۴- ردیابـی بیمـاری هدبلایـت گنـدم در سـنبله‌ها با تصویـر برداری فراطیـف پس از محاسـبه شـاخص NDVI. نواحی قرمز رنگ با شـاخص ۱ کاملاً سـالم و طیف رنگی بنفش، آلوده به بیماری است.

کنـد. یکی دیگـر از ظرفیت‌های مهم و ارزشـمند تصویربـرداری فراطیف، بازرسـی مـزارع بـذری بـرای میـزان آلودگـی بـه بیمارگرهـای مهـم، در اسـتاندارد سـلامت مـزارع بـذری اسـت. در مطالعـه‌ای کـه بـرای ردیابی و شناسـایی بوتـه‌هـای آلـوده به دو ویـروس وای سـیب‌زمینـی(PVY) و ویـروس پژمردگـی نقطه‌ای گوجـه فرنگـی(TSWV) در مزرعـه انجام شـد، پـس از تجزیـه و تحلیـل داده‌هـای بازتابشـی طیـف‌سـنجی[۱۱] حاصل از دسـتگاه طیف سـنج فیبرواپتیک[۱۲] در دامنـه نور مرئی و نزدیک بـه مـادون قرمـز بـا طـول مـوج ۴۵۰ تـا ۸۵۰ نانومتـر، توانایی شناسـایی و ردیابـی PVY بـر اسـاس داده‌هـای بازتابشـی در دامنـه نـور قرمـز بـا طـول مـوج ۷۲۰-۶۹۰ نانومتـر، تأییـد شـد . PVY از مهمتریـن ویروس هـای آلـوده‌کننـده غـده‌هـای بـذری اسـت. تشـخیص و ردیابـی عوامل ویروسـی در مـزارع بـذری سـیب‌زمینـی به کمک طیف‌سـنجی بـا امواج فراطیف، بازرسـی سـطوح گسـترده این مزارع را در زمانی کوتاه امکان پذیر مـی سـازد. بیشـترین اختلاف در الگـوی بازتابـش بین بوته‌های سـالم و بیمـار سـیب زمینـی در طـول مـوج‌هـای نزدیک به مـادون قرمـز (۷۰۰ تـا ۱۲۰۰نانومتـر) مشـاهده شـد. آنالیز آمـاری داده‌هـای فراطیـف در این طـول مـوج‌ها نشـان داد کـه الگوی ویـژه بازتابش یـا اصطلاحـاً امضای فراطیفـی[۱۳] در بوتـه‌هـای آلـوده بـه ویـروس PVY در هـر دو رقـم اگریا و میلـوا نسـبت بـه گیاهـان شـاهد سـالم بـه میـزان معنـی‌داری متفاوت اسـت. شناسـایی بیمـاری هدبلایـت گنـدم در سـنبله‌هـا (*Fusarium graminearum*) بـا تصویـر بـرداری فراطیف یکی دیگر از مـوارد کاربرد طیـف سـنجی فراطیـف است(شـکل۴). از طیـف سـنجی فراطیـف برای مطالعـه بیمـاری‌هـای بـذرزاد جـو، بـا عوامـل *Pyrenophora teres* و *Blumeria graminis f.sp. hordei*، نیـز اسـتفاده شـده اسـت.

حس‌گرهای حرارتی

تروموگرافـی بـا نـور مـادون قرمـز[۱۴] در حقیقت دمـای گیـاه را ارزیابی مـی‌کنـد و بـه عواملی ماننـد وضعیت آب در گیـاه، میکروکلیمـا و تغییرات تعـرق گیـاه در نخسـتین مراحـل آلودگـی بـه بیمارگـر، بسـتگی دارد. نور مـادون قرمـز سـاطع شـده در دامنـه طـول مـوج ۸ تـا ۱۲ میکرومتـر بـا دوربیـن‌هـای ترموگـراف مـادون قرمـز قابـل ردیابی اسـت. تصاویـر این دوربیـن‌هـا، رنگـی -از نـوع فالـس- بـوده و هر پیکسـل در ایـن تصاویر در بردارنـده ارزش دمایـی هـر نقطـه در هـدف اسـت. ایـن نـوع تصویـر بـرداری در علـوم گیاهـی، در هـر دو مقیاس زمانـی و فضایی از هـوا یا از نزدیـک بـرای هدف‌هـای کوچک قابل انجام اسـت. با وجـود این، عوامل محیطـی مانند نور خورشـید، دمای اطـراف گیاه، بارندگی و سـرعت باد بر ایـن تصاویـر تأثیر مـی‌گذارند. دمای برگ همبسـتگی نزدیکـی را با تعرق گیـاه نشـان مـی‌دهـد کـه در آلودگـی بـه بیمارگرهـای مختلـف متفاوت

است. در حالی‌که در بسیاری از بیماری‌های برگی مانند لکه برگی‌ها و زنگ‌ها، تغییرات بسیار مشخص موضعی مشاهده می‌شود، آسیب و اختلال حاصل از بیمارگرهای ریشه مانند ریزوکتونیا و پیتیوم یا آلودگی های سیستمیک در گیاه، اغلب بر سرعت تعرق و جریان آب در تمام گیاه تأثیر می‌گذارند.

نمونه‌هایی از سیستم‌های موفق در مزرعه

Polder و همکاران (۲۰۱۹)، پلتفرمی را برای ردیابی آلودگی به ویروس PVY بر مزارع بذری طراحی کردند که به‌صورت ربوتیک و با استفاده از حس‌گرهای چند طیفی و یک مسیر برخط[15] برای آنالیز داده‌ها، غده‌های بذری آلوده به ویروس را در سطح قابل قبولی از درستی، ردیابی می‌کرد. همچنین سیستم تصویربرداری فراطیف که توسط Bravo و همکاران طراحی شد، توانست لکه‌های آلوده به زنگ زرد را در مزرعه با ۹۶٪ موفقیت ردیابی و گروه‌بندی کند. موفقیت این روش‌ها امیدواری زیادی را در توسعه پلتفرم‌های مبتنی بر حس‌گرهای نوری برای ردیابی زود هنگام بیماری در محصولات کشاورزی با صرف هزینه‌های معقول فراهم آورده است.

نتیجه‌گیری و چشم‌انداز آینده

مطالعات محققین پیشرو نشان می‌دهد که حس‌گرهای نوری، فرصت‌ها و راه حل‌های تکنیکی چند گانه‌ای برای ردیابی هدفمند و قابل اطمینان انواع بیماری‌های گیاهی در حجم بالا به صورت خودکار یا از نزدیک با استفاده ازدستگاه‌های کوچک و قابل حمل را فراهم می آورد. حس‌گرهای مورد استفاده در ترموگرافی و تصویر برداری با نور فلورسنس II، نسبت به واکنش‌های زود هنگام گیاه بسیار حساسند. اما این حس‌گرها توانایی شناسایی اختصاصی بیماری‌ها را ندارند. فناوری های مبتنی بر RGB و فراطیف در این زمینه نسبت به فناوری‌های دیگر برتری دارند. هم اکنون نسل اول تلفن‌های همراه مجهز به حس‌گرها، به بازار آمده و برای ردیابی بیماری‌ها در دسترس هستند. تصویربرداری از مزارع بذری با امواج فراطیف یکی از مهم‌ترین کاربرد های این فناوری در بازرسی مزارع بذری است. به این ترتیب برآورد میزان آلودگی به بیمارگرهای مهم، در استاندارد سلامت مزرعه بذری با سرعت و دقت بالا امکان‌پذیر خواهد بود. ترکیب و تجمیع داده‌های حس‌گرهای مختلف برای رسیدن به دیدگاهی جامع از پاتوسیستم مورد مطالعه، یکی دیگر از اهداف امید بخش در توسعه این فناوری هاست. تحقیقات آینده نیازمند همکاری و مشارکت تنگاتنگ رشته های مختلفی مانند بیماری‌شناسی گیاهی، توسعه حس‌گرها، فناوری اطلاعات و یادگیری ماشین است. بهره‌گیری از رویکردهای بسیار قوی و چند رشته‌ای و برقراری رابطه‌ای نزدیک با کشاورزی عملی می‌تواند رسیدن به راه‌حل‌های قدرتمند در ردیابی و شناسایی بیماری با دقت و سرعتی قابل قبول را امکان‌پذیر سازد.

پی نوشت

1-ELISA
2- Polymerase chain reaction, PCR
3- Remote sensing
4-data mining
5- High-throughput platforms
6-Multi–hyperspectral reflectance sensors
7- Near infrared
8- Spectroscopy
9-Proximal sensor platforms
10-Visible light, VI
11- Spectral reflectance characteristics (SRC)
12- Portable fiberoptic spectrometer
13-Hyperspectral signature
14- Infrared thermography
15- online pipeline

منابع

-Polder, G., Blok, P.M., de Villiers, H., van der Wolf, J.M. and Kamp, J. 2019. Potato virus y detection in seed potatoes using deep learning on hyperspectral images. Frontiers in plant science, 10: p.209.

-Alisaac, E., Behmann, J., Rathgeb, A., Karlovsky, P., Dehne, H. W., and Mahlein, A. K. (2019). Assessment of Fusarium Infection and Mycotoxin Contamination of Wheat Kernels and Flour Using Hyperspectral Imaging. Toxins, 11(10), 556.

-Del Fiore, A., Reverberi, M., Ricelli, A., Pinzari, F., Serranti, S., Fabbri, A. A., and Fanelli, C. (2010). Early detection of toxigenic fungi on maize by hyperspectral imaging analysis. International journal of food microbiology, 144(1), 6471-.