

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS DE DOIS VIZINHOS
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM CIÊNCIA DE DADOS

LILIAN DE SOUZA VISMARA

**SEGMENTAÇÃO DE IMAGENS DE MICRORGANISMOS PARA
TAREFAS PREDITIVAS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS
2021

LILIAN DE SOUZA VISMARA

SEGMENTAÇÃO DE IMAGENS DE MICRORGANISMOS PARA TAREFAS PREDITIVAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Especialização em Ciência de Dados da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, como requisito para a obtenção do título de Especialista em Ciência de Dados.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Carlos Monteiro Souza

Coorientador: Prof. Dr. Rafael Gomes Mantovani

DOIS VIZINHOS
2021



3.0 Brasil

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

LILIAN DE SOUZA VISMARA

SEGMENTAÇÃO DE IMAGENS DE MICRORGANISMOS PARA TAREFAS PREDITIVAS

Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização apresentado ao Curso de Especialização em Ciência de Dados da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, como requisito para a obtenção do título de Especialista em Ciência de Dados.

Data de aprovação: 21/dezembro/2021

Francisco Carlos Monteiro Souza
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus Dois Vizinhos

Jefferson Tales Oliva
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus Pato Branco

Luis Fernando Carvalho
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus Apucarana

DOIS VIZINHOS
2021

Para Edgar, pela aprendizagem ao longo da vida
e colaboração singular neste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, familiares e amigos pelo amor fraterno.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) pela oportunidade de desenvolvimento profissional. Em especial, à coordenação e professores do Curso de Especialização em Ciência de Dados pela aprendizagem e desenvolvimento científico.

Aos meus novos professores orientadores Francisco Carlos Monteiro Souza e Rafael Gomes Mantovani pela dedicação, apoio, amizade e paciência na orientação deste Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização (TCCE). E, ao Edgar, pela parceria também neste trabalho.

Aos colegas de curso desta jornada acadêmica de aprendizagem: muito obrigada pelo convívio digital, trocas de saberes, colaboração nas atividades e acolhimento nos fóruns de discussões!

À você pelo interesse de leitura.

Uma grande descoberta envolve a solução de um grande problema, mas há uma semente de descoberta na solução de qualquer problema. Seu problema pode ser modesto; porém, se ele desafiar sua curiosidade e fizer funcionar sua capacidade inventiva, [...] então você poderá experimentar a tensão e o prazer do triunfo da descoberta.

George Polya (1887-1985)

RESUMO

VISMARA, Lilian de Souza. Segmentação de imagens de microrganismos para tarefas preditivas. 2021. 23 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Especialização em Ciência de Dados, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2021.

Estudos para investigar o crescimento microbiano sob ação de agentes antimicrobianos é recorrente em diferentes áreas do conhecimento, tais como: Ciências Agrárias, Biológicas e Médicas, bem como, em Bioengenharias. Quando os bioensaios são incubados em meio de cultura agarizado, é prática comum avaliar a eficiência de produtos sanitizantes via inspeção visual qualitativa ou medição direta de diâmetros das colônias ou de halos de inibição de crescimento com uso de régua ou paquímetro digital (avaliação quantitativa). Porém, devido à possível desorganização da estrutura celular dos microrganismos na presença de produtos testes, a cobertura radial pode não ser uniforme nas direções medidas, levando a erros no cálculo de variáveis de interesse e de estimação de parâmetros do modelo matemático-estatístico considerado na análise de dados. O uso de imagens para a obtenção da área de regiões de interesse, é uma alternativa para contornar tal problema. Adicionalmente, o ferramental de Visão Computacional tem sido apontado como solução inovadora para processamento de imagens e reconhecimento de padrões. Logo, este trabalho tem por objetivo aplicar e apresentar uma técnica de Análise Digital de Imagens, via o algoritmo *flood-fill*, para a determinação da área de colônias microbianas fúngicas provenientes de bioensaio realizado no Laboratório de Fitopatologia da UTFPR Campus Dois Vizinhos. Para isto, foi utilizado um conjunto de 539 fotografias digitais, oriundas de teste de sensibilidade por disco-difusão em ágar de um fungo filamentosos fitopatogênico (*Botrytis cinerea*) na presença de compostos voláteis de diferentes óleos essenciais. A técnica utilizada permitiu a determinação da área da cobertura da colônia microbiana a partir de sua fotografia digital capturada com *smartphone*. Como tem-se por filosofia o conceito de dados abertos, o banco de dados (imagens) e *script* são disponibilizados nos apêndices deste trabalho. Como trabalho futuro, espera-se propor modelos baseados em técnicas de aprendizado de máquina que sejam facilmente interpretáveis e facilitem o entendimento do papel das *features* das imagens no processo de aprendizagem dos algoritmos. Desta forma, almeja-se contribuir com a prospecção de abordagens eficazes que automatizem o processo de mensuração e avaliação da cinemática de crescimento de fungos pelo método de disco-difusão em ágar por uso de imagens.

Palavras-chave: Crescimento micelial. Disco-difusão em ágar. Fotografia digital. Visão computacional. Processamento de imagem. Análise digital de imagem.

ABSTRACT

VISMARA, Lilian de Souza. Microorganism image segmentation for predictive tasks. 2021. 23 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Especialização em Ciência de Dados, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2021.

Studies to investigate microbial growth under the action of antimicrobial agents are recurrent in different areas of knowledge, such as Agricultural, Biological, and Medical Sciences, as well as, in Bioengineering. When bioassays are incubated in agarized culture medium, it is common practice to assess the efficiency of sanitizing products by qualitative visual inspection or direct measurement of colony diameters or growth inhibition halos using a ruler or caliper (quantitative assessment). However, due to the possible disorganization of the cellular structure of microorganisms in the presence of test products, the radial coverage may not be uniform in the measured directions, leading to errors in the calculation of variables of interest and the mathematical-statistical model parameters estimation's considered in the analysis of data. The use of images to obtain the area of interest regions is an alternative to overcome this problem. Additionally, the Computer Vision toolings have been pointed out as an innovative solution for image processing and pattern recognition. Therefore, this work aims to apply and present a Digital Image Analysis technique to determine the area of fungal microbial colonies, by the flood-fill algorithm, from a bioassay carried out at the Phytopathology Laboratory of UTFPR Campus Dois Vizinhos. For this purpose, a set of 539 digital photographs from an agar disk-diffusion sensitivity test of a phytopathogenic filamentous fungus (*Botrytis cinerea*) in the presence of volatile compounds of different essential oils. The technique used allowed the determination of the coverage area of the microbial colony from its digital photograph captured with a smartphone. As the concept of open data is taken as a philosophy, then the database (images) and the script are made available in the appendices of this work. As future work, it is expected to propose models based on machine learning techniques that are easily interpretable and facilitate the understanding of the role of image features in the algorithms learning process. In this way, the aim is to contribute to the prospect of effective approaches that automate the measurement and evaluation process of the fungal growth kinematics by the method of disk-diffusion in agar using images.

Keywords: Mycelial growth. Disc-diffusion on agar. Digital photography. Computer vision. Image processing. Digital Image Analysis.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Etapa I. Pré-processamento: (i) rotação e redimensionamento da imagem; (ii) transformação da cor da imagem para escala de cinza e (iii) ajuste de brilho e contraste para destacar a área da colônia. 14
- Figura 2 – Etapa II. Processamento da imagem: (i) aplicação de algoritmo para preenchimento de regiões de interesse (etiqueta e colônia) a partir das coordenadas do centro da etiqueta e da colônia, seguida pelo passo de (ii) binarização de cada região preenchida. 14

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASUS	AsusTek Computer Inc.
BDA	Batata-Dextrose-Ágar
CCT	Congresso de Ciência e Tecnologia
DIA	<i>Digital Image Analysis</i> (Análise Digital de Imagens)
EVA	Espuma Vinílica Acetinada
MP	Megapixel
PPGAG	Programa de Pós-Graduação em Agronomia
TCCE	Trabalho de Conclusão de Curso de Especialização (TCCE)
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

LISTA DE SÍMBOLOS

- ® Marca registrada
- × Símbolo matemático empregado para representar um produto ou dimensão
- ° Grau

SUMÁRIO

1	SEGMENTAÇÃO DE IMAGENS DE MICRORGANISMOS PARA TAREFAS PREDITIVAS	12
1.1	Resumo	12
1.2	Introdução	12
1.3	Material e Métodos	13
1.4	Resultados e Discussão	13
1.5	Conclusões	14
1.6	Referências	14
	REFERÊNCIAS	15
	APÊNDICES	16
	APÊNDICE A – DISPONIBILIZAÇÃO DO CONJUNTO DE DADOS E SCRIPT	17
A.0.1	Disponibilização dos dados (imagens/fotografias digitais)	17
A.0.2	<i>Script</i>	17
	ANEXOS	19
	ANEXO A – ANAIS E DECLARAÇÃO DE APRESENTAÇÃO ORAL DO/NO VI CONGRESSO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA (VI CCT) DA UTFPR CAMPUS DOIS VIZINHOS	20
	ANEXO B – PREMIAÇÃO DE MELHOR TRABALHO APRESENTADO DA ÁREA DE CIÊNCIA DA COMPUTAÇÃO O VI CCT DA UTFPR CAMPUS DOIS VIZINHOS	22

SEGMENTAÇÃO DE IMAGENS DE MICRORGANISMOS PARA TAREFAS PREDITIVAS

**Lilian de Souza Vismara^{1*}, Edgar de Souza Vismara¹, Rafael Gomes Mantovani² e
Francisco Carlos Monteiro Souza¹**

¹Curso de Especialização em Ciência de Dados, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Brasil

²Curso de Especialização em Ciência de Dados, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Brasil

*lilianvismara@utfpr.edu.br (autor para contato principal), edgarvismara@utfpr.edu.br,
rafaelmantovani@utfpr.edu.br, franciscosouza@utfpr.edu.br

RESUMO

Estudos para investigar o comportamento microbiano sob ação de agentes antimicrobianos é recorrente em diferentes áreas do conhecimento, tais como: Ciências Agrárias, Biológicas e Médicas, bem como, em Bioengenharias. Quando os bioensaios são incubados em meio de cultura agarizado, é prática comum avaliar a eficiência de produtos sanizantes via medição direta de diâmetros das colônias ou de halos de inibição de crescimento, com uso de régua ou paquímetro digital. Porém, na presença de produtos testes, a cobertura radial pode não ser uniforme nas direções medidas, levando a erros no cálculo de variáveis de interesse e de estimação de parâmetros de modelos matemático-estatísticos utilizados na análise de dados. O uso de imagens para a obtenção da área de regiões é uma alternativa para contornar tal problema. Este trabalho tem por objetivo aplicar uma técnica de Análise Digital de Imagens para a determinação da área de colônias microbianas provenientes de teste de sensibilidade por disco-difusão. Conclui-se que a técnicas utilizadas permitiram a determinação da área da cobertura da colônia microbiana. Espera-se contribuir com a prospecção de abordagens eficazes, que automatizem o processo de mensuração e avaliação da cinemática de crescimento de fungos pelo método de disco-difusão em ágar.

Palavras-chave: crescimento micelial, disco-difusão em ágar, fotografia digital, visão computacional, processamento de imagem.

INTRODUÇÃO

A cinemática de crescimento microbiano é tema base de investigações nas Ciências Agrárias, Biológicas, da Saúde e em Bioengenharia. Em particular, em testes de sensibilidade pela metodologia de disco-difusão em ágar, é comum a inspeção visual e/ou uso de instrumentos de medição, como régua ou paquímetro digital, para aferição de diâmetros do crescimento radial da colônia. Porém, devido à possível desorganização da estrutura celular dos microrganismos na presença de produtos testes, a cobertura radial pode não ser uniforme nas direções medidas, levando a erros no cálculo de variáveis de interesse e de estimação de parâmetros do modelo matemático-estatístico considerado na análise de dados. Logo, embora seja uma técnica de baixo custo e muito empregada, o uso dos valores observados pode levar a erros de *overfitting* e/ou *underfitting* de parâmetros de modelos matemáticos-estatísticos. Esta inconsistência demanda maior quantidade de repetições para produzir resultados mais exatos (MARTINS et al., 2015).

Uma alternativa para contornar o problema, é obtenção da área de regiões de interesse (cobertura da colônia ou de halo de inibição). Neste contexto, seria importante desenvolver métodos

automáticos de aferição do crescimento fúngico em meio sólido, por meio de imagens com pouco controle na captura, que reduza o tempo de medição e que elimine a subjetividade e a dependência da análise visual de especialistas. Logo, este trabalho tem por objetivo apresentar uma técnica de Análise Digital de Imagens para obtenção da área de colônias a partir de imagens (BURGER; BURGE, 2009; SILVA et al., 2017). As imagens foram obtidas com pouco controle na captura, diferente de trabalhos relacionados a este como o de Ancin-Murguzur et al. (2018) e outros com métodos de segmentação e a rotulação automática de imagens (ARREDONDO-SANTOYO et al., 2019).

MATERIAL E MÉTODOS

A fonte de dados é um bioensaio — teste de sensibilidade de *Botrytis cinerea* à compostos voláteis de óleos essenciais — conduzido no Laboratório de Fitopatologia, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, *Câmpus Dois Vizinhos*. O fungo foi repicado em meio de cultura de batata-dextrose-ágar (BDA), acomodado no centro de placas de Petri® e então aplicou-se os tratamentos testes. As placas foram fechadas com filme plástico esticável e incubadas a 20°C (±1°C), com fotoperíodo de 12 h, por 5 dias.

O sistema de captura de imagem consistiu de uma bandeja coberta com EVA (Espuma Vinílica Acetinada) preta, na qual foi fixada um recorte de papel milimetrado de 4 cm × 4 cm e um suporte para celular com haste flexível de 14 cm de comprimento e fixação por ventosa. O registro do fundo das placas de Petri® ocorreu sem controle de luminosidade ambiente para captura com uso de câmara digital de smartphone modelo ASUS Z017DC (ZE520KL), de 16 MP (Megapixel), resolução 4608 × 3456 pixel, sensor Sony® IMX298, lentes Largan de seis elementos com abertura de f/2.0. Foram obtidas 539 fotografias oriundas de registro diário.

Utilizou-se o programa R e o pacote EBImage (PAU et al., 2010) na análise de dados. A abordagem deste trabalho, adaptada de Silva et al. (2017) envolve a aplicação de uma série de passos dentre as etapas de pré-processamento (I) e processamento de imagem (II), visando a segmentação desta em duas regiões: da colônia e de uma etiqueta com área conhecida.

- I. Pré-processamento: (i) rotação e redimensionamento da imagem; (ii) transformação da cor da imagem para escala de cinza; (iii) ajuste de brilho e contraste para destacar a área da colônia.
- II. Processamento: (i) aplicação de um algoritmo para preenchimento de regiões de interesse (etiqueta e colônia) a partir das coordenadas do centro da imagem. Este preenchimento envolve a definição de um certo limiar (tolerância) de cor (*threshold*) definido arbitrariamente; (ii) binarização das regiões de interesse preenchidas; (iii) cálculo da área dos objetos binarizados (em px²); (iv) conversão da unidade de área da colônia, A_c , de px² para mm² é via a expressão (1):

$$A_c = (A_c : 1600) \cdot A_e \quad (1)$$

onde: A_e é a área da etiqueta em px² e 1600 é a área da etiqueta em mm².

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas Figuras 1 e 2 são apresentados os resultados obtidos a partir das etapas I e II de processamento de imagem. A partir da binarização da área conhecida da etiqueta (Figura 2), efetuou-se (iii) obtendo-se a área dos objetos binarizados (px²) e então implementou-se (iv) para a conversão da unidade de área da colônia conforme (1). Verificou-se que a técnica implementada (BURGER; BURGE, 2009) permitiu a determinação da área da cobertura da colônia microbiana na placa de Petri®. Desta forma, a visão computacional com foco no processamento e segmentação da imagem

baseado em algoritmo (PAU et al, 2010, SILVA et al., 2017), trouxe contribuições complementares à visão biológica (ARREDONDO-SANTOYO et al., 2019).

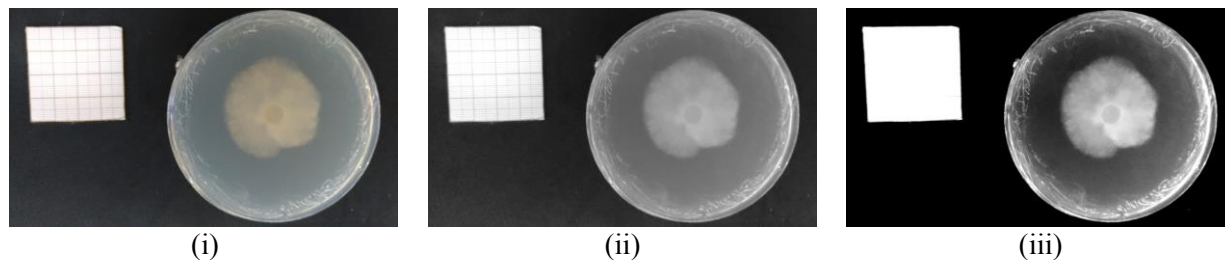


Figura 1 – Etapa I. Pré-processamento: (i) rotação e redimensionamento da imagem; (ii) transformação da cor da imagem para escala de cinza e (iii) ajuste de brilho e contraste para destacar a área da colônia.

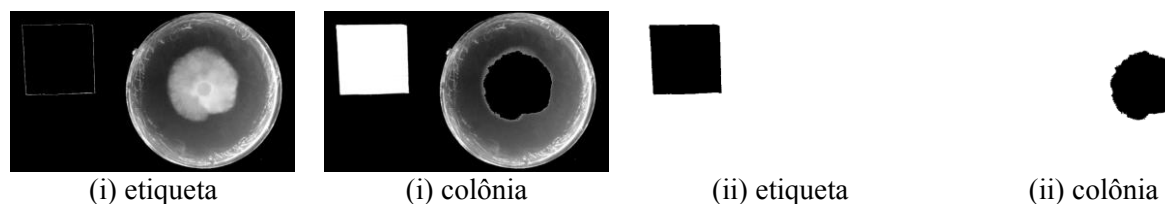


Figura 2 – Etapa II. Processamento da imagem: (i) aplicação de algoritmo para preenchimento de regiões de interesse (etiqueta e colônia) a partir das coordenadas do centro da etiqueta e da colônia, seguida pelo passo de (ii) binarização de cada região preenchida.

CONCLUSÕES

Os resultados iniciais foram promissores, pois a técnica permitiu a determinação da área da cobertura de colônia microbiana a partir de fotografia digital de *smartphone*, com pouco controle na captura da imagem. A partir desta visão computacional, pretende-se como trabalho futuro propor abordagens de aprendizado de máquina eficazes que permitam automatizar o processo de mensuração e avaliação da cinemática de crescimento de fungos pelo método de disco-difusão em ágar.

REFERÊNCIAS

- ANCIN-MURGUZUR, F. J.; BARBERO-LÓPEZ, A.; KONTUNEN-SOPPELA, S.; HAAPALA, A. Automated image analysis tool to measure microbial growth on solid cultures. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 151, p. 426-430, 2018.
- ARREDONDO-SANTOYO, M.; DOMÍNGUEZ, C.; HERAS, J.; MATA, E.; PASCUAL, V.; VÁZQUEZ, M. S. G., VAZQUEZ, M. G. Automatic characterisation of dye decolourisation in fungal strains using expert, traditional, and deep features. **Soft Computing**, v. 23, n. 23, p. 12799-12812, 2019.
- BURGER, W; BURGE, M. J. **Principles of digital image processing**. Berlin: Springer, 2009.
- MARTINS, A. P; PIZOLATO Jr., J. C.; BELINI, V. L. Avaliação automática da taxa de crescimento de colônias de leveduras incubadas em placas de petri usando plataforma móvel. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 36, n. 2, p. 33-46, 2015.
- PAU, G.; FUCHS, F.; SKLYAR, O.; BOUTROS, M.; HUBER, W. EBImage—an R package for image processing with applications to cellular phenotypes. **Bioinformatics**, v. 26, n. 7, p. 979-981, 2010.
- SILVA, F. O.; ITAKO, A. T.; TOLENTINO Jr., J. B. Mycelial growth assessment by digital image analysis in R software environment. **Idesia**, v. 35, n. 1, p. 7-10, 2017.

Referências

- ANCIN-MURGUZUR, F. J. et al. Automated image analysis tool to measure microbial growth on solid cultures. **Computers and Electronics in Agriculture**, Elsevier, v. 151, p. 426–430, 2018. Citado na página 13.
- ARREDONDO-SANTOYO, M. et al. Automatic characterisation of dye decolourisation in fungal strains using expert, traditional, and deep features. **Soft Computing**, Springer, v. 23, n. 23, p. 12799–12812, 2019. Citado 2 vezes nas páginas 13 e 14.
- BURGER, W.; BURGE, M. J. **Principles of Digital Image Processing**. Springer London, 2009. ISBN 978-1-84800-190-9. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/978-1-84800-191-6>>. Acesso em: 20 dez. 2021. Citado na página 13.
- MARTINS, A. P.; PIZOLATO JR, J. C.; BELINI, V. L. Avaliação automática da taxa de crescimento de colônias de leveduras incubadas em placas de petri usando plataforma móvel. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 36, n. 2, p. 33–46, 2015. Citado na página 12.
- Open Knowledge Foundation. **Open Definition: Defining open in open data, open content and open knowledge**. 2021. Disponível em: <<http://opendefinition.org/>>. Acesso em: 20 dez. 2021. Citado na página 17.
- PAU, G. et al. EBIImage — an R package for image processing with applications to cellular phenotypes. **Bioinformatics**, Oxford University Press, v. 26, n. 7, p. 979–981, 2010. Citado 3 vezes nas páginas 13, 14 e 18.
- R Core Team. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna, Austria, 2021. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 20 dez. 2021. Citado na página 13.
- SILVA, F. O. da; ITAKO, A. T.; TOLENTINO JR, J. B. Mycelial growth assessment by digital image analysis in R software environment. **Idesia**, Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Tarapacá, v. 35, n. 1, p. 7–10, 2017. Citado 2 vezes nas páginas 13 e 14.
- VISMARA, L. de S. **Óleos essenciais a indução de resistência em morangos ao mofo cinzento, à Botrytis cinerea in vitro e ação toxicológica**. 212 p. Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Agronomia Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Departamento Acadêmico de Ciências Agrárias, Pato Branco, PR, 2019. Disponível em: <<http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/3069>>. Acesso em: 20 dez. 2021. Citado na página 17.

Apêndices

APÊNDICE A – Disponibilização do conjunto de dados e script

Neste trabalho perpassa a filosofia e conceito de dados abertos, cuja uma formalização inicial, *Open Definicion*, foi criada pela [Open Knowledge Foundation \(2021, tradução nossa\)](#): “aberto significa que qualquer pessoa pode acessar, usar, modificar e compartilhar livremente para qualquer finalidade (sujeito, no máximo, aos requisitos que preservam a procedência e a abertura)”.

Conseqüentemente, este apêndice tem por objetivo disponibilizar os *links* para acesso ao conjunto de dados (imagens/fotografias digitais) e *script* da técnica de Análise Digital de Imagens (*Digital Image Analysis*, DIA) utilizada para a determinação da área de colônias microbianas provenientes de teste de sensibilidade por disco-difusão em ágar (conforme descrito na seção 1.3).

A.0.1 Disponibilização dos dados (imagens/fotografias digitais)

O conjunto de dados (imagens) de crescimento micelial de *Botrytis cinerea in vitro* na presença de compostos voláteis (potenciais antimicrobianos) em diferentes alíquotas (doses, 20, 40, 60, 80 e 100 μL) de óleos essenciais (guaçatonga, melaleuca, patchouli e pitangueira) mais o controle de crescimento (testemunha, 0 μL), está disponível em: <<https://nuvem.utfpr.edu.br/index.php/s/JfmPqUHfiKVgAQ2>>. Maiores detalhes sobre metodologia de bioensaio análogo ao deste trabalho podem ser conferidos em [Vismara \(2019\)](#).

A.0.2 Script

```

1 library("EBImage")
2
3 # Pre-processamento
4
5 ima <- readImage("imagem_teste.jpg") # lendo uma imagem (Figura 1i)
6 ima <- rotate(ima, 90) # rotacionando a imagem para o formato landscape
7 ima <- resize(ima, 800) # reduzindo a definicao para 800x425
8 colorMode(ima) = Grayscale # alterando a cor para escala de cinza
9 img <- ima - 0.3 # diminuindo brilho
10 img <- img * 2.2 # aumentando o contraste
11
12 # Processamento
13 y1 <- floodFill(img, c(228.7546, 222.0941), col = 0, tol = 0.5) #
   preenchimento da area da etiqueta a partir da coordenada central e
   parametro de tolerancia 0,5
14
15 res1 <- bwlabel(y1) # binarizacao da area de etiqueta
16 res1 <- res1[1:800,1:450,1] # transformando o 3D array em 2D array
17 ft1 <- computeFeatures.shape(res1) # calculando a area da etiqueta
18
19
20 y2 = floodFill(img, c(545.1494, 222.548), col = 0, tol = 0.3) #
   preenchimento da area da colonia a partir da coordenada central e
   parametro de tolerancia 0,3
21
22 res2 <- bwlabel(y2) # binarizacao da area de colonia
23 res2 <- res2[1:800,1:450,1] # transformando o 3D array em 2D array
24 ft2 <- computeFeatures.shape(res2) # calculando a area da colonia

```

```
25
26 # Extraindo a area de cada regio de interesse
27 area1 <- ft1[1,1]
28 area2 <- ft2[1,1]
29
30 # Conversao da unidade de area da regio da colonia
31 area_colonia <- (area2*1600)/area1
32 print(paste("Area: ", area_colonia))
```

Verifica-se que o preenchimento das regiões de interesse é executado usando o algoritmo de linha de varredura rápida (*flood-fill*) considerando um limiar (*threshold*) arbitrário para cada imagem. Desta forma, o preenchimento começa em pontos e cresce em áreas conectadas/vizinhas onde a diferença absoluta das intensidades dos pixels permanece abaixo da tolerância.

O arquivo do *script* e imagem teste estão disponíveis em: <https://github.com/lilianvismara/2021_TCCE_LdeSV>. Já a documentação do pacote EImage (PAU et al., 2010) pode ser acessada em <<https://github.com/aoles/EImage>>.

Anexos

ANEXO A – Anais e declaração de apresentação oral do/no VI Congresso de Ciência e Tecnologia (VI CCT) da UTFPR Campus Dois Vizinhos

Este trabalho foi apresentado no VI Congresso de Ciência e Tecnologia (VI CCT) da UTFPR Campus Dois Vizinhos. Os anais do VI CCT da UTFPR encontram-se disponíveis para consulta em: <<https://cloud.utfpr.edu.br/index.php/s/MYuC05wocZnHPqS#pdfviewer>>. A declaração de apresentação é apresentada a seguir.



República Federativa do Brasil
Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

DECLARAÇÃO

Declaramos que trabalho intitulado **SEGMENTAÇÃO DE IMAGENS DE MICRORGANISMOS PARA TAREFAS PREDITIVAS**, de autoria de *Lilian de Souza Vismara, Edgar de Souza Vismara, Rafael Gomes Mantovani e Francisco Carlos Monteiro Souza* foi apresentado na modalidade ORAL, no VI CONGRESSO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA UTFPR – CAMPUS DOIS VIZINHOS (VI CCT), III MOSTRA CIENTÍFICA DA PÓS-GRADUAÇÃO, EXPOUT 2021 E PAINEL AGROTECH, realizado no período de 05 a 09 de outubro de 2021.

Nédia de Castilhos Ghisi
Coordenadora do evento de Extensão

Veridiana L. Stachowski Kuss
Departamento de Extensão

ANEXO B – Premiação de melhor trabalho apresentado da área de Ciência da Computação o VI CCT da UTFPR Campus Dois Vizinhos

O *short paper* aqui apresentado ([Capítulo 1](#)) recebeu premiação de melhor trabalho da área de Ciência da Computação no VI CCT da UTFPR Campus Dois Vizinhos, conforme documento apresentado a seguir.



DECLARAÇÃO N° 293/2021 - DIRPPG-DV

Declaramos que o trabalho "SEGMENTAÇÃO DE IMAGENS DE MICRORGANISMOS PARA TAREFAS PREDITIVAS" de autoria de Lilian de Souza Vismara, Edgar de Souza Vismara, Rafael Gomes Mantovani e Francisco Carlos Monteiro Souza, apresentado de forma virtual, foi premiado como MELHOR TRABALHO da área de Ciência da Computação, durante o VI Congresso de Ciência e Tecnologia da UTFPR - Dois Vizinhos, realizado nos dias 07,08,09 de outubro de 2021, na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus de Dois Vizinhos.

Profa. Michele Potrich

Diretora de Pesquisa e Pós-Graduação
UTFPR - Campus Dois Vizinhos

Profa. Nédia de Castilho Ghisi

Presidente da Comissão Organizadora
UTFPR - Campus Dois Vizinhos



Documento assinado eletronicamente por (Document electronically signed by) **MICHELE POTRICH, DIRETOR(A)**, em (at) 25/10/2021, às 17:13, conforme horário oficial de Brasília (according to official Brasília-Brazil time), com fundamento no (with legal based on) art. 4º, § 3º, do [Decreto n.º 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por (Document electronically signed by) **NEDIA DE CASTILHOS GHISI, PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR**, em (at) 26/10/2021, às 09:46, conforme horário oficial de Brasília (according to official Brasília-Brazil time), com fundamento no (with legal based on) art. 4º, § 3º, do [Decreto n.º 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site (The authenticity of this document can be checked on the website) https://sei.utfpr.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador (informing the verification code) 2350095 e o código CRC (and the CRC code) 37644A1B.