

JOSÉ RICARDO LIBERATO

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DO SOFTWARE QUANT PARA
QUANTIFICAÇÃO DE DOENÇAS DE PLANTAS POR ANÁLISE DE
IMAGENS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2003

JOSÉ RICARDO LIBERATO

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DO SOFTWARE QUANT PARA
QUANTIFICAÇÃO DE DOENÇAS DE PLANTAS POR ANÁLISE DE
IMAGENS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 05 de dezembro de 2003.

Prof. Luiz Antônio Maffia

Dr. Waldir Cintra de Jesus Junior

Prof. Elpídio Inácio Fernandes Filho
(Conselheiro)

Prof. Francisco de Assis Carvalho Pinto
(Conselheiro)

Prof. Francisco Xavier Ribeiro do Vale
(Orientador)

Dedico à minha mãe, Olgany (1939-2003),
in memoriam.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo.

À minha esposa Selma e a meus filhos, Marina e Matheus, pelo amor, compreensão e apoio.

Aos vicentinos de Viçosa, que foram para mim, exemplos de fé, humildade e amor a Deus e ao próximo.

Ao grupo de oração do departamento, especialmente a José Heleno, Macabeu, Sueli e Dora, por nossas orações diárias.

Às mulheres que trabalharam em minha residência, especialmente à Ana e à Maria Aparecida.

Ao prof. Francisco Xavier Ribeiro do Vale, pela amizade, incentivo e orientação.

A todos os demais professores do Departamento de Fitopatologia, pelos ensinamentos, pela amizade e pela convivência.

Ao prof. Elpídio Inácio F. Filho, pela co-orientação, pelo incentivo e por ter escrito o software Quant.

Ao prof. Francisco de Assis Carvalho Pinto, pelo apoio.

Aos amigos que me ajudaram com os trabalhos da tese, Cristian Alves de Souza, Antônio Joaquim Macabeu, Alisson Honorato Dias, Mauro Rossoni, Pedro Henrique Rodrigues, José Roberto Vieira Júnior, Sergio Avelino M. Nobre, Danilo I. Vera Coelho, Max Lenine Rezende de Oliveira e Janilson Rocha.

À Flávia Vieira Correa, pela ajuda nas correções do software QUANT.

Aos demais colegas do laboratório de Epidemiologia e Controle, pela agradável convivência, Kelly, Gisele, Alessandra e Waldir.

A todos os funcionários do Departamento de Fitopatologia.

A todos os colegas do curso de pós-graduação em Fitopatologia.

A todos os professores e colegas de trabalho que contribuíram para meu crescimento profissional, em especial ao prof. Cláudio H. Bruckner, meu orientador de iniciação científica, ao prof. Luiz Antônio Maffia, que me ensinou os primeiros caminhos da Fitopatologia, ao prof. Francisco Xavier Ribeiro do Vale, pela orientação nos cursos de mestrado e doutorado, ao prof. Laércio Zambolim, ao Dr. Hélcio Costa, colega de trabalho na Emcapa, ao prof. Cosme Damiano Cruz, ao prof. Adair José Regazzi, ao prof. Robert Weingart Barreto e ao prof. Silvaldo Felipe da Silveira, com quem trabalhei na Universidade Estadual do Norte Fluminense.

A todos que de alguma forma contribuíram para que eu minha família fôssemos felizes durante esses últimos anos em Viçosa.

BIOGRAFIA

José Ricardo Liberato, natural de Colatina – ES, graduou-se em Agronomia, na Universidade Federal de Viçosa, em 1990. Concluiu o curso de Mestrado em Fitopatologia, em 1994, na mesma universidade. Trabalhou como pesquisador na extinta Emcapa (Empresa Capixaba de Pesquisa Agropecuária), de 1992 a 1994, e na UENF (Universidade Estadual do Norte Fluminense), de 1995 a 1999. Em agosto de 1999, iniciou o curso de doutorado em Fitopatologia.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	ix
ABSTRACT	xii
INTRODUÇÃO GERAL	01
CAPÍTULO 1	
AVALIAÇÃO DA ACURÁCIA E PRECISÃO DO SOFTWARE QUANT NA MENSURAÇÃO DE ÁREAS EM IMAGENS DIGITAIS	07
RESUMO	07
ABSTRACT	08
INTRODUÇÃO	09
MATERIAL E MÉTODOS	12
RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
CAPÍTULO 2	
AVALIAÇÃO DA INTENSIDADE DE INJÚRIAS POR INSETO EM FOLHAS DE PIMENTÃO COM O USO DO SOFTWARE QUANT	36
RESUMO	36
ABSTRACT	37
INTRODUÇÃO	38
MATERIAL E MÉTODOS	39
RESULTADOS E DISCUSSÃO	45

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DA INTENSIDADE DE MANCHA DE CERCOSPORA EM FOLHAS DE CAFEIEIRO COM O USO DO SOFTWARE QUANT	54
RESUMO	54
ABSTRACT	55
INTRODUÇÃO	57
MATERIAL E MÉTODOS	61
RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
CONCLUSÕES GERAIS	91
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94
ANEXO	
DESENVOLVIMENTO DO SOFTWARE QUANT	102

RESUMO

LIBERATO, José Ricardo, D.S. Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2003.
Desenvolvimento e avaliação do software QUANT para quantificação de doenças de plantas por análise de imagens. Orientador: Francisco Xavier Ribeiro do Vale. Conselheiros: Elpídio Inácio Fernandes Filho e Francisco de Assis Carvalho Pinto.

Foi desenvolvido o software QUANT para processamento, segmentação e mensuração em imagens digitais. Realizaram-se três estudos para avaliar a acurácia e precisão do QUANT. No primeiro estudo, três experimentos foram conduzidos com imagens obtidas por meio de um digitalizador de imagens tipo mesa (scanner). No primeiro, imagens de um disco de metal de 50 cm² foram obtidas em diferentes posições no scanner e em seis resoluções (75 a 300 dpi). No segundo experimento foram utilizadas imagens com resolução de 75 a 300 dpi, de oito botões redondos com área conhecida (0,5 a 5,1 cm²), e no terceiro, imagens digitalizadas a 100 e 300 dpi, de 40 diagramas de papel com tamanho aproximado de 50 cm². Cada diagrama apresentava de um a 40 orifícios circulares e de mesmo tamanho. Em todos os três experimentos, as imagens foram processadas pelo software QUANT e as áreas do disco de metal, dos botões, dos diagramas de papel e de seus orifícios foram segmentadas e mensuradas. No primeiro experimento, as áreas foram segmentadas pelo procedimento de intervalo de coordenadas de cores. No segundo e terceiro experimentos, utilizou-se o procedimento de seleção de áreas do QUANT. As áreas também foram mensuradas com o uso do medidor de área da Li-cor[®], modelo LI – 3100. No primeiro experimento, o QUANT apresentou acurácia de 98,7% para

imagens com 200 dpi e acurácia superior a 99,7% para as imagens nas demais resoluções. No segundo experimento, O QUANT apresentou acurácia superior a 98% e precisão de 99,99%. No terceiro experimento, na estimativa das áreas dos orifícios, o QUANT apresentou acurácia de 98,4% e o medidor de área, 87%. Esses resultados evidenciam que o QUANT possui alto potencial de uso na segmentação e mensuração de áreas em imagens digitais.

No segundo estudo, foram avaliadas a acurácia e a precisão do software QUANT na mensuração da área foliar total, da área desfolhada (consumida) e da severidade da desfolha (percentagem da área foliar desfolhada) por besouros crisomelídeos, em 99 folhas de pimentão (*Capsicum annum*), usando imagens digitais, com resolução de 100 e 300 dpi. Também foram feitas mensurações com o medidor de área Li-cor® modelo LI-3100, por meio de estimativa visual por seis avaliadores. A área desfolhada também foi estimada por dois avaliadores observando-se as imagens digitais obtidas com papel milimetrado como fundo, por meio de contagem direta de cada quadrado de 1mm² de área. A resolução da imagem não afetou as estimativas de área pelo QUANT. As estimativas de área com o uso do QUANT e com o LI-3100 apresentaram concordância de 97,8%, 77,0% e 80,8%, para área foliar, área desfolhada e severidade, respectivamente. Compararam-se as mensurações de área desfolhada do QUANT e do LI-3100 com mensurações realizadas por dois avaliadores, por meio de contagem de quadrículas em papel milimetrado. O QUANT apresentou maior acurácia (89,0 a 93,1%) e precisão (97,0%) que o medidor de área foliar, o qual apresentou acurácia de 86 a 88% e precisão de 77%. Todos os seis avaliadores visuais superestimaram a severidade. Apenas um avaliador apresentou alta acurácia (92%). A precisão dos avaliadores variou de 22,3 a 92,1%.

No terceiro estudo, utilizaram-se diferentes procedimentos do software QUANT na mensuração da área foliar total, da área lesionada e da severidade da mancha parda (*Cercospora coffeicola*) em 58 folhas de cafeeiro (*Coffea arabica*), usando imagens digitais, com resolução de 150 dpi. A severidade foi estimada visualmente por cinco avaliadores. A área lesionada foi mensurada com o medidor de área Li-cor® modelo LI-3100 e por meio de contagem direta observando-se as imagens digitais obtidas com papel milimetrado como fundo. Para tanto, as lesões foram previamente retiradas da folha com o auxílio de um bisturi. As estimativas de áreas com o procedimento de seleção de áreas com a varinha mágica foi arbitrariamente considerado o padrão do QUANT. Essas estimativas de área foliar apresentaram 99,3% de concordância com as do LI-3100. Nas estimativas das áreas lesionadas, quando comparados com o método do papel milimetrado, o QUANT apresentou

acurácia de 97,9% e o LI 3100, de 83,7%. Imagens com contraste previamente alterado, segundo três protocolos, tiveram as áreas foliares estimadas por meio de três procedimentos do QUANT, que quando comparados com o procedimento padrão, apresentaram acurácia de 98,6 a 100% e precisão de 99,99%. Com relação à área lesionada, os procedimentos de limiar preto e branco, função discriminante e redução para 32 cores, apresentaram alta acurácia (96,6 a 99,6%) e precisão ($\geq 99,3\%$). Nas estimativas de severidade o procedimento de redução para 32 cores apresentou acurácia superior a 99%, enquanto as função discriminantes e o intervalo de coordenadas de cores apresentaram acurácia inferior. As estimativas de severidade do QUANT (padrão) não apresentaram boa concordância com as do medidor de área foliar LI-3100. Dos cinco avaliadores que estimaram visualmente a severidade de doença, somente um apresentou acurácia (97%) e precisão (94%) elevadas. Quatro usuários do QUANT estimaram área foliar em 16 folhas, usando o procedimento de seleção de área com a varinha mágica, obtendo acurácia superior a 99%. Três usuários estimaram área lesionada usando este procedimento, e também o procedimento de limiarização, obtendo acurácia entre 96 e 98%. O QUANT disponibiliza vários algoritmos para melhorar o contraste da imagem, Com isso, mesmo os sintomas de doenças onde o sistema visual humano tem dificuldade de distinguir entre área foliar sadia e doente, podem ser quantificados com o uso do QUANT. Propõe-se que o QUANT seja adotado como padrão na mensuração de severidade de doenças de plantas e área foliar injuriada (consumida) por insetos.

Palavras-chaves: imagens digitais, fitopatometria, herbivoria.

ABSTRACT

LIBERATO, José Ricardo, D.S. Universidade Federal de Viçosa, December 2003.
Development and evaluation of the software QUANT for quantification plant disease by image analysis. Adviser: Francisco Xavier Ribeiro do Vale. Committee members: Elpídio Inácio Fernandes Filho and Francisco de Assis Carvalho Pinto.

The software QUANT was developed for processing, segmentation and mensuration in digital images. It was accomplished three set of trials to evaluate the accuracy and precision of the QUANT. In the first trial set, images were obtained through a scanner. In the first trial, images of a steel disk of 50 cm² were obtained in different positions on the scanner and with six resolutions (75 to 300 dpi). In the second trial, images of eight round buttons with known area (0.5 to 5.1 cm²) had resolutions from 75 to 300 dpi, and in the third trial, images at 100 and 300 dpi, of 40 diagrams of paper, each having from one to 40 rounded holes. In all trials, the images were processed by the software QUANT and the areas of the metal disk, buttons, diagrams, and of the holes were segmented and measured. In the first trial, the areas were segmented by the procedure of interval of coordinates of colour. In the second and third trials, the procedure for selection of areas was used. The areas were also measured with the area meter Li-cor, model LI-3100. In the first trail, QUANT showed accuracy of 98.7% for images with 200 dpi and 99.7% for others. In the second trial, QUANT showed accuracy of 98%. In the third experiment, in the estimate of the areas of the holes, QUANT showed accuracy of 98.4% and the area meter, 87%. The results

have evidenced that the QUANT has high potential for segmentation and mensuration of areas in digital images.

In the second trial set, It was evaluated the accuracy and precision of the software QUANT in the mensuration of the foliar area, defoliated area for beetles and of the severity (percentage of the eaten foliar area), in 99 leaves of green pepper (*Capsicum annuum*), using digital images, at 100 and 300 dpi. Mensuration with the area meter Li-cor, model LI-3100, and through visual estimate of six evaluators were accomplished too. The defoliated area was also measured by two evaluators counting on graph paper squared 1 mm. The image resolution didn't affect the mensuration by QUANT. The mensuration by QUANT and by LI-3100 showed agreement of 97.8%, 77.0% and 80.8%, for foliar area, defoliated area and severity, respectively. The mensuration of defoliated area by Quant and by LI-3100 were compared with mensuration accomplished by two evaluators, through counting on graph paper squared 1 mm. QUANT presented accuracy > 89 % and precision 97%. The LI-3100 showed accuracy > 86% and precision of 77%. All the six visual evaluators overestimated the severity. Just an evaluator showed high accuracy (92%). The evaluators' precision varied from 22 to 92%.

In the third trial set, it was evaluated the accuracy and precision of the different procedures of the software QUANT in the mensuration of the foliar area, diseased area and severity of Cercospora leaf spot (*Cercospora coffeicola*) in 58 leaves of coffee (*Coffea arabica*), using digital images at dpi. The severity was visually estimated by five evaluators. The diseased area was estimated with the meter of area Li-cor model LI-3100 and through direct counting being observed the digital images obtained with graph paper squared 1 mm as bottom. The lesions were previously removed of the leaf. The estimates of areas with the procedure selection of areas with the magic rod were arbitrarily considered the standard of QUANT. These estimates of foliar area showed 99,3% of agreement with the ones of the LI-3100. In the estimates of the diseased areas, when compared with the method of the graph paper squared 1 mm, QUANT and the LI-3100 showed accuracy of 97.9% and 83.7%, respectively. Images with contrast previously challenged, according to three protocols, had the foliar areas estimated by three procedures of QUANT, that when compared with the standard procedure, they presented accuracy from 98.6 to 100% and precision of 99.99%. The procedures of threshold, discriminant functions and reduction for 32 colours showed high accuracy (96.6 to 99.6%) and precision (99.3%) on the estimations of diseased area. Estimating severity, the procedure reduction for 32 colours showed higher accuracy (99%) than discriminant functions and the interval of colour coordinates. The standard estimates of severity by QUANT didn't show good agreement with the ones of

the LI-3100. Among five visual evaluators, only one showed high accuracy (97%) and precision (94%). Four users of QUANT estimated foliar area in 16 leaves, using the procedure of area selection with the magic rod, obtaining accuracy > 99%. Three users estimated diseased area using this procedure, and also the threshold, obtaining accuracy between 96 and 98%. QUANT makes available several algorithms to improve the contrast of the image, which allow that, even the symptoms where the eye human system has difficulty of distinguishing among healthy and diseased foliar area, they can be quantified by QUANT. It is proposed that QUANT should be adopted as standard method (golden method) in the mensuration of severity of plant diseases and defoliated (eaten) foliar area.

Key words: herbivory, digital image, phytopathometry.

INTRODUÇÃO GERAL

A fitopatometria (Large, 1966) é a estimativa da intensidade de doença presente em um determinado tempo em uma população de plantas. Ela é tão importante para a Fitopatologia que diversas revisões sobre esse tema foram feitas nas últimas quatro décadas, por Large (1966), James (1974; 1983), Horsfall & Cowling (1978), Berger (1980), Gaunt (1987), Kranz (1988) e Campbell & Madden (1990), dentre outros. A quantificação da intensidade de doenças em conjunto com a quantificação da produção permite avaliar o efeito das doenças na produção e, ou, qualidade do produto (danos). Com informações sobre a importância das doenças pode-se definir as prioridades de alocação de recursos para pesquisa científica, considerando a importância da cultura para um Estado ou país, bem como definir a necessidade ou não de medidas específicas de controle e prevenção.

A fitopatometria é indispensável a diversos estudos fitopatológicos, tais como o levantamento de doenças em uma região, a comparação de resistência genética de cultivares a doenças, a comparação da eficiência de fungicidas e suas doses ou de práticas de manejo no controle de doenças. Também é necessária à determinação do limiar de dano econômico de uma doença e do limiar de ação, ou seja, a tomada de decisão no manejo de doenças em lavouras comerciais (James, 1983), a qual consiste em determinar o momento de aplicação de medidas de controle (Silva & Jesus Junior, 2000; Zadoks, 2001; Shtienberg, 1995; Campbell & Madden, 1990), como é o caso do critério recomendado para controle de algumas doenças do trigo, na região Sul do Brasil (Reis, 1994).

Dependendo dos objetivos, a intensidade de doença pode ser quantificada uma única vez ou várias vezes durante o ciclo da cultura. Uma epidemia pode ser definida

como um aumento, no tempo e espaço, na intensidade de doença em uma população de plantas e, geralmente, é descrita com uma série de estimativas de intensidade de doença ao longo do tempo. Plotando-se os valores de intensidade de doença versus o tempo, obtêm-se uma curva de crescimento cumulativa (progresso de doença), a qual resume os efeitos da planta hospedeira, do patógeno e do ambiente (Madden, 1986), e de medidas de controle no desenvolvimento da epidemia. Assim, uma epidemia é melhor compreendida quantificando-se seu progresso. A quantificação da intensidade de doenças ao longo do tempo possibilita a análise matemática das epidemias (Campbell & Madden, 1990; VanderPlank, 1963). A quantificação da doença ao longo do espaço é fundamental para estudos sobre sua disseminação. Estudos relacionando o progresso da doença e variáveis meteorológicas permitem desenvolver modelos de previsão da doença, que podem ser usados para alertar aos produtores qual o momento ideal para a realização da aplicação de fungicidas, como é o caso da sarna da macieira no Sul do Brasil (Melzer & Berton, 1989).

A intensidade de doença pode ser mensurada como incidência, que é a percentagem de plantas doentes, ou de suas partes na população; ou como severidade, que é a percentagem da área ou do volume do tecido vegetal coberta com sintomas. A estimação da incidência é mais simples, rápida e acurada, sendo usada para doenças que afetem toda a planta, como o caso das viroses sistêmicas e das murchas vasculares, ou para aquelas em que uma única lesão impede a comercialização do produto, como a podridão dos frutos. A severidade é mais apropriada para medir doenças foliares, como ferrugens, oídios, míldios e manchas (Bergamin Filho & Amorim, 1996). Nesses casos, os danos, redução da produção, muitas vezes são função da severidade.

Nas mensurações de severidade de doenças, o erro é a diferença entre o valor estimado e o valor real. A acurácia é o complemento do erro (valor real menos o valor absoluto do erro), expressa em percentagem em relação ao valor real. Precisão está inversamente relacionada à variabilidade do erro. Quanto menor a variabilidade, maior a precisão. Assim, podem-se ter medidas com baixa acurácia e alta precisão, mas não o contrário. Quantificar objetivamente a severidade de doenças com acurácia é uma tarefa difícil e que consome tempo. É impraticável contar e medir o tamanho de lesões individuais em grandes amostras. Para tornar essa estimação rápida e prática, duas estratégias têm sido tradicionalmente utilizadas: as chaves descritivas, que são escalas de notas arbitrárias, e as escalas diagramáticas, que são representações ilustradas de uma série de plantas ou de seus órgãos, principalmente folhas, com diferentes níveis de severidade, que auxiliam o avaliador a estimar visualmente a severidade da doença (Campbell & Madden, 1990; Amorim, 1995), muitas delas sendo

reunidas em compêndios (James, 1971; Azevedo, 1998). A primeira chave descritiva foi elaborada por Cobb, em 1892, e a mais conhecida por Horsfall & Barratt (1945). Também há escalas diagramáticas para doenças em frutos (Gupta & Pathak, 1990). Mas, em alguns estudos, a intensidade da doença é avaliada pelo número de lesões por fruto (Furman et al., 2003). Neste caso, se houver grande variação no tamanho dos frutos e das lesões, essa variável não estimará acurada e precisamente a severidade de doença.

Há alguns problemas nesses métodos subjetivos de quantificação da severidade: a) a falta de padronização dos métodos e das chaves descritivas utilizadas em diferentes estudos, o que preocupa até mesmo a indústria de fungicidas (Watson et al., 1990), pois resultados obtidos de diferentes estudos não podem ser comparados; b) muitas escalas diagramáticas são criadas sem considerar alguns requisitos básicos, citados por Amorim & Bergamin Filho (1999), nem tem sua adequabilidade avaliada, conforme descrito por Godoy et al. (1997); c) reduzidas acurácia e precisão na estimativa visual da severidade de doenças, mesmo por avaliadores experimentados, têm sido relatadas por Smith et al. (1969), Sherwood et al. (1983), Lindow & Webb (1983), Forbes & Jeger (1986), Shokes et al. (1987), Beresford & Royle (1991), Carmo et al. (1991), Weber & Jorg (1991), Parker et al. (1993, 1995), Giglioti & Canteri (1998), Martin & Rybicki (1998) e outros citados por Kranz (1988).

Segundo Sherwood et al. (1983), em estimativas visuais de severidade, é comum o avaliador superestimar duas a três vezes o valor real. Isto é mais proeminente em baixos valores de severidade. Beresford & Royle (1991) constataram que, para folhas de cevada com severidade de ferrugem, os avaliadores superestimaram até 70 X, quando a severidade foi menor que 0,2%, e superestimaram oito a dez vezes, quando as folhas apresentaram 0,6 a 20% de severidade. Segundo Carmo et al. (1991), somente 10% dos avaliadores foram acurados e precisos. Parker et al. (1995) constataram que os avaliadores apresentaram precisão variando entre 8% e 95%. As estimativas de um mesmo avaliador em diferentes ocasiões não foram consistentes (Shokes et al., 1987; Nutter et al., 1993; Parker et al., 1995).

Diante dessas constatações, foram desenvolvidos alguns softwares para treinar avaliadores de severidade de doenças, como o "Areagram" (Shane et al., 1985), o "Distrain" (Tomerlin & Howell, 1988), o "Disease.Pro" (Nutter & Worawitlikit, 1989), o "Estimate" (Weber & Jörg (1991), e o "Combro" (Giglioti & Canteri, 1998; Canteri & Giglioti, 1999). Embora o treinamento aumente a acurácia das avaliações, segundo Parker et al. (1993), há evidências que seus efeitos benéficos duram pouco tempo

após o treinamento. Além disso, esses softwares abrangem apenas algumas doenças e as avaliações continuam subjetivas e variando entre avaliadores.

Portanto, a quantificação da severidade de doenças constitui-se o "calcanhar de Aquiles" da epidemiologia. Tanto, que tem sido estudada a relação incidência-severidade, sendo observada alta correlação entre incidência e severidade em diversas doenças. Essa possibilidade é maior quando os valores de severidade permanecem baixos (Seem, 1984). Baseado nessa associação em alguns poucos casos, principalmente com ferrugens, foi possível definir a época de adoção de medidas de controle (aplicação de fungicida) baseada na incidência da doença (Edwards et al., 2000; Reis, 1994; Dillard & Seem, 1990; Brown & Holmes, 1983).

Para quantificar a severidade de doenças, é necessário estimar a área foliar e a área lesionada da folha. A quantificação objetiva da área foliar tem sido realizada por diferentes métodos: a) por meio de equações de regressão linear em função de variáveis como largura e comprimento da folha (Barros & Maestri, 1973; Alfonsi et al., 1974; Gomide et al., 1976; Garçon et al., 2001); b) por meio de pesagens de cópia xerográfica ou heliográfica da folha (Silveira, 1972); e c) com o uso de medidores eletrônicos de área foliar (Blanco et al., 1991; Urchei et al., 2000; Aguiar Netto et al., 2000).

A área das lesões têm sido estimada com o uso de transparência milimetrada colocada sobre a folha lesionada (Fernandes, 1988) ou obtendo-se cópia xerográfica da folha e mensurando a área lesionada com o uso do planímetro ou por meio de pesagens (Sherwood et al., 1983). A dimensão da lesão e sua expansão são consideradas importantes componentes epidemiológicos (Berger et al., 1997) e têm sido estimados pela mensuração do comprimento (C) e largura (L) da lesão e usando a fórmula para obtenção da área da elipse (A): $A = C \times L / 4$. A mensuração tem sido feita com régua, paquímetro (Emge et al., 1975; Subbarao & Michailides, 1995) ou com ocular micrométrica (Shaner, 1983). Beresford & Royle (1991), estimaram a área de 270 urédias de *Puccinia hordei* em cevada, a partir de seu comprimento e largura. A área média variou de $2,05 \times 10^{-2}$ a $4,29 \times 10^{-2}$ mm². A área lesionada foi estimada multiplicando o número de urédias na folha pela área média das urédias. Desta maneira, quantificar objetivamente a severidade de doenças com acurácia é uma tarefa difícil e que consome tempo. É impraticável contar e medir o tamanho de lesões individuais em grandes amostras.

O processamento de imagens digitais foi iniciado quase concomitantemente com a disponibilidade dos computadores, mas foi na década de 60 que os paradigmas e os algoritmos para análise de imagens começaram a ser formulados (Rosenfeld, 2001). Este trabalho restringe-se ao processamento de imagens digitais de folhas de plantas.

Técnicas de sensoriamento remoto consistem na medição ou aquisição de informações de plantas ou de lavouras com o auxílio de aparelho registrador que não entra em contato físico com a planta ou seus órgãos, tais como fotografia com filme infravermelho, radiômetros e videografia, cujo uso foi ampliado nas duas últimas décadas para quantificar intensidade de doenças (Jackson, 1986; Nilsson, 1995). Essas técnicas, que detectam estresse da planta, mas normalmente não permitem identificar sua causa, se biótica ou abiótica (Cooke, 1998), não serão abordadas neste trabalho.

O processamento de imagens digitais tem sido aplicado em diferentes áreas da ciência. Imagens digitais têm sido obtidas com o uso de digitalizadores ("scanner"), câmera fotográfica ou câmera de vídeo. Em Fitopatologia, tem sido utilizado em diferentes estudos, por exemplo: caracterização morfológica de fungos em cultura (Pamboukian et al., 2002); quantificação de lipídios em nematóides (Stamps & Linit, 1995) e do número de juvenis de nematóides em suspensão (Bfen et al., 1996); mensuração de nematóides (Atkinson et al., 1996), de micorrizas (Smith & Dickson, 1991) e do comprimento de tubos germinativos de fungos (Hilber & Schüepp, 1992), avaliação da densidade de colônias fúngicas (Olsson, 1995), contagem de microescleródios de *Verticillium dahliae* (Mol & Meijer, 1995), avaliação da uniformidade de bicos de pulverização por análise de imagens do jato do bico (Zhang et al., 1994), avaliação da deposição de agrotóxicos aplicados por pulverização terrestre ou aérea, utilizando imagens digitais de cartões de papel sensível à água (Smith et al., 1997; Chaim et al., 2002) ou imagens de folhas após aplicação de fungicidas mais corante (Barber et al., 2003).

Alguns pesquisadores, com fins de elaboração de escalas, começaram a usar imagens digitais para mensurar a severidade em diagramas (Stonehouse, 1994; Falloon et al., 1995) ou em folhas doentes (Bacchi et al., 1992; Oliveira et al., 2001). Leister et al. (1999) avaliaram a área foliar de todas as folhas de *Arabidopsis thaliana* com o uso de imagens obtidas por câmera de vídeo acoplada a computador.

Sistemas de análise de imagens digitais têm sido usado para quantificar a intensidade de algumas doenças (Lindow, 1983; Lindow & Webb, 1983; Sah & Fehrmann, 1992; Kokko et al. 1993, 1995, 2000; Kampmann & Hansen, 1994; Todd, & Kommedahl, 1994; Hood & Shew, 1996; Chungu et al., 1997; Tucker & Chakraborty, 1997, 2001; Martin & Rybicki, 1998; Ahmad et al., 1999; Niemira et al., 1999; Biernacki & Bruton, 2001; Olmstead & Lang, 2001; Maruti et al., 2002; Pei et al., 2002; Berner & Paxson, 2003; Díaz-Lago et al., 2003; Miller et al., 2003).

Os métodos para estimar a intensidade de doença devem ser de fácil uso, baixo custo, rápidos, acurados, precisos, aplicáveis em ampla gama de condições e seus resultados devem ser reproduzíveis. Sua descrição pormenorizada permite a adoção por outros pesquisadores, de modo a facilitar a comparação entre resultados obtidos em diferentes locais, por diferentes avaliadores.

O software QUANT[®] está sendo desenvolvido desde 2000, com o objetivo principal de quantificar severidade de doenças, a partir de imagens obtidas com scanner ou câmeras digitais (Vale et al., 2001, 2003). Este estudo trata do desenvolvimento desse software e da avaliação de sua acurácia e precisão na estimativa de severidade de doenças e de injúrias causadas por inseto. Serão apresentados quatro capítulos. No primeiro são apresentadas informações sobre o software QUANT. O segundo refere-se ao estudo da acurácia e precisão do QUANT na estimativa de áreas de objetos de tamanho conhecido; o terceiro, na estimativa de severidade de injúria (desfolha) causada por insetos em folhas de pimentão; e o quarto capítulo refere-se à avaliação do QUANT na estimativa de severidade de doenças, utilizando como exemplo a mancha parda (*Cercospora coffeicola* Berk. & M.A. Curtis) do cafeeiro (*Coffea arabica* L.).

CAPÍTULO 1

AVALIAÇÃO DA ACURÁCIA E PRECISÃO DO SOFTWARE QUANT[®] NA MENSURAÇÃO DE ÁREAS EM IMAGENS DIGITAIS

RESUMO

Com o objetivo de avaliar a acurácia e precisão do software QUANT na mensuração de áreas em imagens digitais, três experimentos foram conduzidos com imagens obtidas por meio de um digitalizador de imagens tipo mesa (scanner). No primeiro, imagens de um disco de metal de 50 cm² foram obtidas em diferentes posições no scanner e em seis resoluções (75 a 300 dpi). No segundo experimento foram utilizadas imagens com resolução de 75 a 300 dpi, de oito botões redondos com área conhecida (0,5 a 5,1 cm²), e no terceiro, imagens digitalizadas a 100 e 300 dpi, de 40 diagramas de papel com tamanho aproximado de 50 cm². Cada diagrama apresentava de um a 40 orifícios circulares e de mesmo tamanho. Em todos os três experimentos, as imagens foram processadas pelo software QUANT e as áreas do disco de metal, dos botões, dos diagramas de papel e de seus orifícios foram segmentadas e mensuradas. No primeiro experimento, as áreas foram segmentadas pelo procedimento de intervalo de coordenadas de cores. No segundo e terceiro experimentos, utilizou-se o procedimento de seleção de áreas do QUANT. As áreas também foram mensuradas com o uso do medidor de área da Li-cor[®], modelo LI – 3100. No primeiro experimento, o QUANT apresentou acurácia de 98,7% para

imagens com 200 dpi e acurácia superior a 99,7% para as imagens nas demais resoluções. No segundo experimento, O quant apresentou acurácia superior a 98% e precisão de 99,99%. No terceiro experimento, na estimativa das áreas dos orifícios, o QUANT apresentou acurácia de 98,4% e o medidor de área, 87%. Os resultados evidenciam que o QUANT possui alto potencial de uso na segmentação e mensuração de áreas em imagens digitais.

Palavra-chave: análise de imagens

ABSTRACT

The accuracy and precision of the software QUANT for mensuring areas of digital images were evaluated. The images were obtained through a scanner. In the first trial, images of a steel disk of 50 cm² were obtained in different positions on the scanner and with six resolutions (75 to 300 dpi). In the second trial, images of eight round buttons with known area (0,5 to 5,1 cm²) had resolutions from 75 to 300 dpi, and in the third trial, images at 100 and 300 dpi, of 40 paper diagrams each having from one to 40 rounded holes. In all trials, the images were processed by the software QUANT and the areas of the metal disk, buttons, diagrams, and of the holes were segmented and measured. In the first trial, the areas were segmented by the procedure of interval of coordinates of color. In the second and third trials, the procedure for selection of areas was used. The areas were also measured with the area meter Li-cor, model LI-3100. In the first trail, QUANT showed accuracy of 98.7% for images with 200 dpi and 99.7% for others. In the second trial, QUANT showed accuracy of 98%. In the third experiment, in the estimate of the areas of the holes, QUANT showed accuracy of 98.4% and the area meter, 87%. The results evidence that QUANT has high potential for segmentation and mensuration of areas in digital images.

Key word: image analysis.

INTRODUÇÃO

A quantificação da intensidade de doenças de plantas é indispensável a diversos estudos fitopatológicos, tais como o levantamento de doenças em uma região, a comparação de resistência genética de cultivares a doenças, a comparação da eficiência de fungicidas e suas doses ou de práticas de manejo no controle de doenças. Também é necessária à determinação do limiar de dano econômico de uma doença e do limiar de ação, ou seja, a tomada de decisão no manejo de doenças em lavouras comerciais (James, 1983), a qual consiste em determinar o momento de aplicação de medidas de controle (Silva & Jesus Junior, 2000; Zadoks, 2001; Shtienberg, 1995; Campbell & Madden, 1990), como é o caso do critério recomendado para controle de algumas doenças do trigo, na região Sul do Brasil (Reis, 1994).

Quantificar objetivamente a severidade de doenças com acurácia é uma tarefa difícil e que consome tempo. É impraticável contar e medir o tamanho de lesões individuais em grandes amostras. Para tornar essa estimativa rápida e prática, a quantificação da severidade de doenças em plantas (percentagem da área ou do volume lesionado do órgão vegetal) tem sido realizada, geralmente, por meio de estimativas visuais subjetivas, com o auxílio de escalas diagramáticas, que são representações ilustradas de uma série de plantas ou de seus órgãos, com diferentes níveis de severidade (Campbell & Madden, 1990; Amorim, 1995). Reduzidas acurácia e precisão na estimativa visual da severidade de doenças, mesmo por avaliadores experientes, têm sido relatadas por Smith et al. (1969), Sherwood et al. (1983), Lindow & Webb (1983), Forbes & Jeger (1986), Shokes et al. (1987), Beresford & Royle (1991), Carmo et al. (1991), Weber & Jorg (1991), Parker et al. (1995), Gigliotti & Canteri (1998). Diante dessas constatações, foram desenvolvidos alguns softwares

para treinar avaliadores de severidade de doenças, como o "Areagram" (Shane et al., 1985), o "Distrain" (Tomerlin & Howell, 1988), o "Disease.Pro" (Nutter & Worawitlikit, 1989), o "Estimate" (Weber & Jörg (1991), e o "Combro" (Giglioti & Canteri, 1998; Canteri & Giglioti, 1999). Embora o treinamento aumente a acurácia das avaliações, segundo Parker et al. (1993), há evidências que seus efeitos benéficos duram pouco tempo após o treinamento. Além disso, esses softwares abrangem apenas algumas doenças e as avaliações continuam subjetivas e variando entre avaliadores.

Para quantificar objetivamente a severidade de doenças, é necessário estimar a área foliar e a área lesionada da folha. A quantificação objetiva da área foliar tem sido realizada por diferentes métodos: a) por meio de equações de regressão linear em função de variáveis como largura e comprimento da folha (Barros & Maestri, 1973; Alfonsi et al., 1974; Gomide et al., 1976; Garçon et al., 2001); b) por meio de pesagens de cópia xerográfica ou heliográfica da folha (Silveira, 1972); e c) com o uso de medidores eletrônicos de área foliar (Blanco et al., 1991; Urchei et al., 2000; Aguiar Netto et al., 2000).

A área das lesões têm sido estimada com o uso de transparência milimetrada colocada sobre a folha lesionada (Fernandes, 1988) ou obtendo-se cópia xerográfica da folha e mensurando a área lesionada com o uso do planímetro ou por meio de pesagens (Sherwood et al., 1983). A dimensão da lesão e sua expansão são considerados importantes componentes epidemiológicos (Berger et al., 1997) e têm sido estimado pela mensuração do comprimento (C) e largura (L) da lesão e usando a fórmula para obtenção da área da elipse (A): $A = C \times L / 4$. A mensuração tem sido feita com régua, paquímetro (Emge et al., 1975; Subbarao & Michailides, 1995) ou com ocular micrométrica (Shaner, 1983). Beresford & Royle (1991), estimaram a área de 270 urédias de *Puccinia hordei* em cevada, a partir de seu comprimento e largura. A área média variou de $2,05 \times 10^{-2}$ a $4,29 \times 10^{-2}$ mm². A área lesionada foi estimada multiplicando o número de urédias na folha pela área média das urédias. Desta maneira, quantificar objetivamente a severidade de doenças com acurácia é uma tarefa difícil e que consome tempo.

Alguns pesquisadores, com fins de elaboração de escalas, começaram a usar imagens digitais para mensurar a severidade em diagramas (Stonehouse, 1994; Falloon et al., 1995) ou em folhas doentes (Bacchi et al., 1992; Oliveira et al., 2001).

Sistemas de análise de imagens digitais tem sido usado para quantificar a intensidade de algumas doenças (Lindow, 1983; Lindow & Webb, 1983; Sah & Fehrmann, 1992; Kokko et al. 1993, 1995, 2000; Kampmann & Hansen, 1994; Todd, & Kommedahl, 1994; Hood & Shew, 1996; Chungu et al., 1997; Tucker & Chakraborty, 1997, 2001; Martin & Rybicki, 1998; Ahmad et al., 1999; Niemira et al., 1999; Biernacki

& Bruton, 2001; Olmstead & Lang, 2001; Maruti et al., 2002; Pei et al., 2002; Berner & Paxson, 2003; Díaz-Lago et al., 2003; Miller et al., 2003).

O software QUANT[®] está sendo desenvolvido desde 2000, com o objetivo principal de quantificar severidade de doenças, a partir de imagens obtidas com scanner ou câmeras digitais (Vale et al., 2001, 2003). O objetivo deste estudo foi avaliar a acurácia e precisão do QUANT na estimativa de áreas de objetos com áreas conhecidas e com tamanhos semelhantes ao de folhas de algumas espécies vegetais e ao de lesões de muitas doenças.

MATERIAL E MÉTODOS

Três experimentos foram conduzidos em 2003, no Laboratório de Epidemiologia e Controle da Universidade Federal de Viçosa, para avaliar a acurácia e precisão do software QUANT na estimativa de áreas em imagens digitais. Todas as imagens foram obtidas no mesmo digitalizador de imagem, tipo mesa (scanner) HP®, modelo Scanjet 3C. Foi utilizada uma caixa de isopor forrada de papel cartão, de cor preto fosco, colocada em cima da área de aquisição de imagem do scanner, para que o fundo da imagem digitalizada fosse de cor preto, evitando assim a interferência de sombreamento nas bordas do disco. As imagens foram gravadas como arquivo do tipo matricial (Windows Bitmap), não-comprimido e processadas em um computador com processador AMD K6, com 128 MB de memória RAM, 32 bits, com monitor Samsung® modelo SyncMaster 750 ST, com configuração de tela de 1024 x 768 pixels, 32 bits. As análises de regressão linear simples foram feitas com o software “Statistica for Windows 5.5” (Statsoft, 2000).

Neste estudo, a acurácia foi considerada como o complemento do erro da estimativa (valor estimado menos valor real). A precisão relaciona-se à variação associada ao erro. Quanto menor a variabilidade do erro, maior a precisão.

Experimento 1 – Acurácia do QUANT na estimativa da área de um disco de 50 cm²

Imagens de um disco de metal de 50 cm² (padrão de área do aparelho medidor de área Li-cor®, modelo LI – 3100) foram digitalizadas em um scanner, em seis diferentes resoluções: 75, 100, 150, 200, 250 e 300 dpi, e em seis posições no

scanner (Figura 1), obtendo-se 36 imagens. O tamanho do disco foi escolhido por ser equivalente ao tamanho da folha de muitas espécies vegetais.

Essas imagens foram importadas pelo software QUANT e processadas para estimar a área do disco. Foram usados dois procedimentos do QUANT:

a) Seleção de cor por intervalo de coordenadas de cores: O "fundo" da imagem (toda a área da imagem exceto o disco de metal) apresentava cor preto padrão (coordenadas R = G = B = 0). Amostrou-se uma pequena seção de área do fundo da imagem e incluiu-se a cor branco padrão (R = G = B = 255) em substituição à cor preta do fundo. A seguir, reduziu-se a imagem para duas cores apenas. Assim, com exceção da cor branca do fundo, todas as demais foram substituídas por uma única cor. O fundo permaneceu branco e o disco adquiriu uma única outra cor. A seguir, com o comando resultado, o QUANT forneceu a área ocupada com cada uma das duas cores.

b) Seleção de cor por redução do número de cores: Todas as cores da imagem foram reduzidas para 16 ou 64 cores. Depois, utilizando-se a paleta de cores, essas cores foram substituídas por apenas duas. Para as imagens com 16 cores, com exceção da cor preta, as outras 15 cores foram substituídas por uma única cor. Para as imagens com 64 cores, com exceção da cor preto padrão e de uma outra cor mais próxima (que foi substituída pelo preto padrão), as outras 62 cores foram substituídas por uma única cor (Figura 2). A seguir, com o comando resultado, o QUANT forneceu a área ocupada com cada uma das duas cores.

A acurácia das estimativas foi calculada da seguinte forma:

$$\text{acurácia (\%)} = 100 - 100 \times (| \text{área estimada} - \text{área real} |) / \text{área real}$$

Como não houve repetições das estimativas, não foi calculada a precisão das estimativas das áreas.

Experimento 2 – Acurácia e precisão do QUANT na estimativa de pequenas áreas

Com o objetivo de avaliar a acurácia do QUANT na mensuração de pequenas áreas, foram obtidos oito botões redondos com diâmetros variando de 0,76 a 2,55 cm. Foram feitas quatro mensurações de diâmetro em cada botão, com o uso de um micrômetro Mitutoyo® modelo 103 (resolução de 0,01 mm). As áreas dos botões (0,46 a 5,12 cm²) equivalem às áreas de lesões de muitas doenças.

Considerou-se como área padrão de cada botão, aquela estimada a partir do seu diâmetro médio usando-se a equação da área de um círculo:

$$\text{área padrão} = \pi d^2 / 4, \text{ onde } d \text{ é o diâmetro médio do botão.}$$

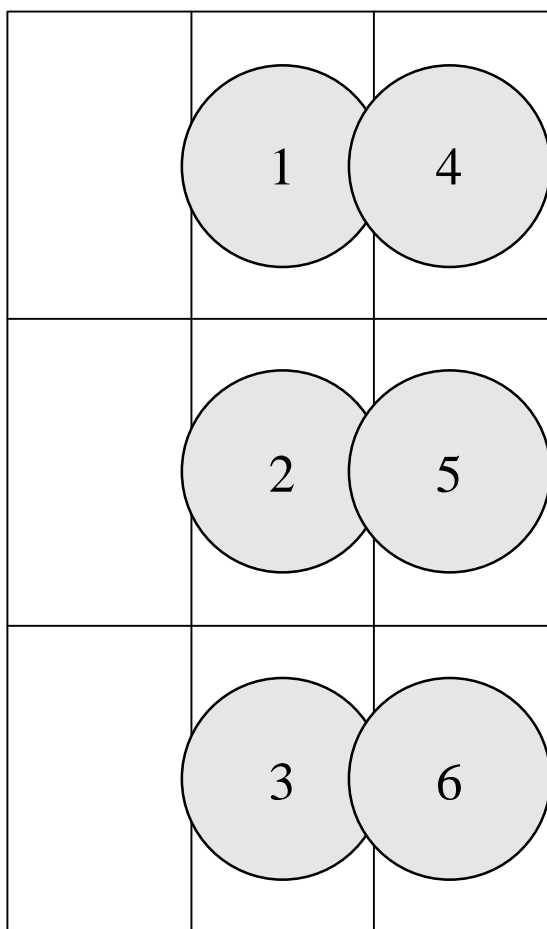


Figura 1. Posições no scanner nas quais foram obtidas imagens digitalizadas do disco padrão de área (escala 1:3).

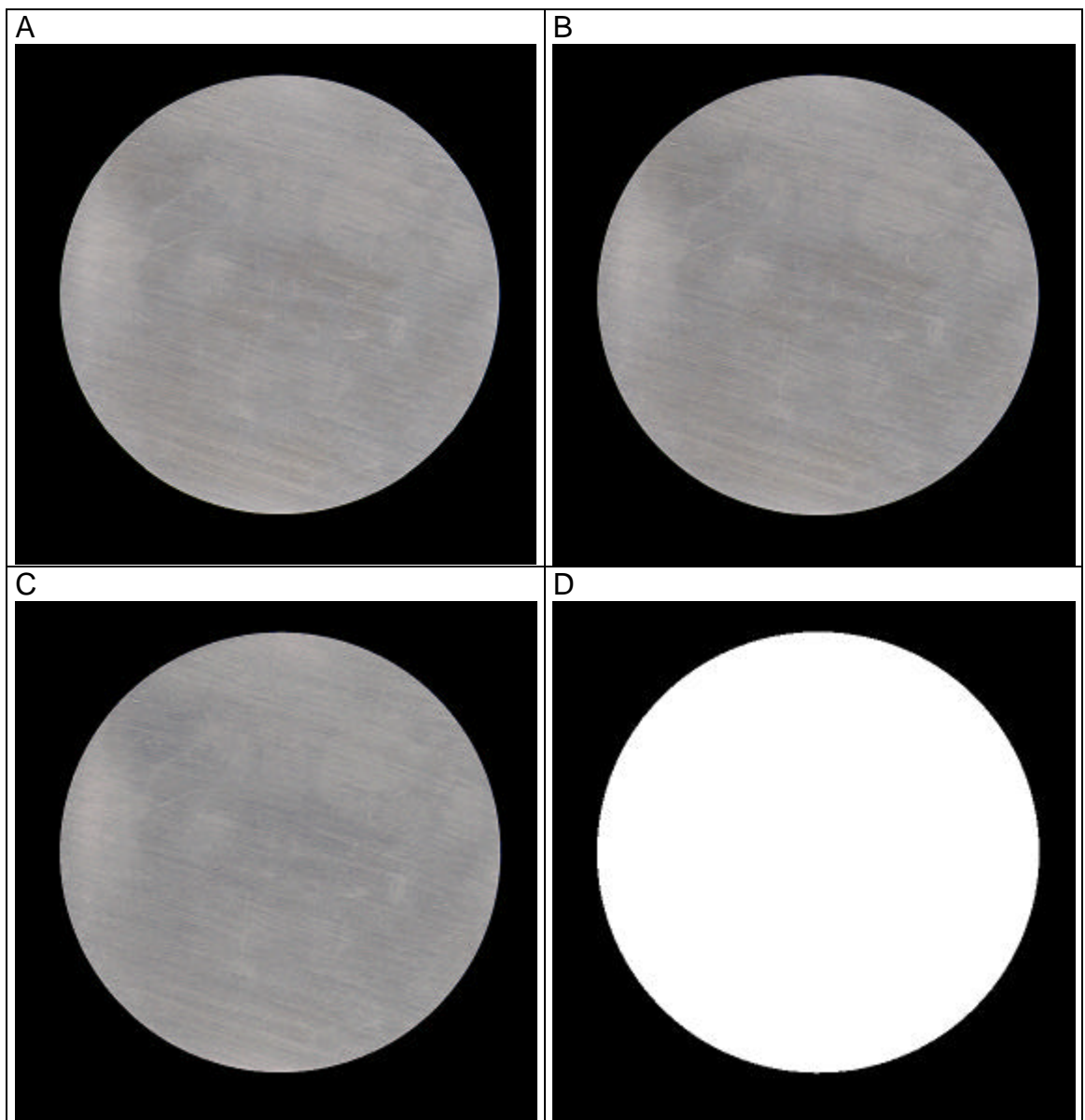


Figura 2. A. Imagem digitalizada a 150 dpi de um disco de metal (50 cm²) (19738 cores RGB). B. Redução para 64 cores C. Redução para 16 cores D. Imagem processada pelo QUANT, com duas cores.

Essas estimativas de área foram comparadas com estimativas obtidas com o uso do medidor de área da Li-cor®, modelo LI-3100 e com as obtidas com o uso do QUANT. Foram feitas dez mensurações da área de cada botão no medidor de área, para tanto, os dois ou quatro pequenos orifícios no interior dos botões foram vedados com fita adesiva opaca.

Imagens do conjunto de botões dispostos entre duas lâminas de vidro liso transparente (2,11 mm de espessura) foram obtidas e digitalizadas em arquivo formato Windows Bitmap, em scanner HP® modelo Scanjet 3C, em diferentes resoluções: 75, 100, 150, 200, 250 e 300 dpi. Foram obtidas quatro diferentes imagens do conjunto de botões, em cada resolução, totalizando 24 imagens. Uma caixa de isopor forrada de papel cartão de cor preto fosco foi colocada em cima da área de aquisição de imagem do scanner, para que o "fundo" da imagem digitalizada fosse de cor preto, evitando assim a interferência de sombreamento nas bordas dos botões. Também foram obtidas quatro outras imagens do conjunto de botões, a 100 dpi, diretamente sobre o visor do scanner, sem as lâminas de vidro. Isto foi feito para avaliar se as lâminas de vidro influenciam as estimativas das áreas, pois para a obtenção de imagens digitais de folhas de plantas, recomenda-se que estas sejam colocadas entre as lâminas de vidro, sobre o scanner, para ficarem o mais planas possível, sem dobras.

A partir de cada imagem digitalizada, foi estimada a área de cada botão com o uso do QUANT. Inicialmente, cada imagem original (Figura 3A) teve seu contraste modificado, utilizando-se o procedimento "contraste raiz" do QUANT, o qual aumenta o brilho da imagem (Figura 3B). A seguir, em cada nova imagem contrastada obtida, utilizando-se a ferramenta de seleção de área ("varinha mágica") selecionou-se a área completa de cada botão (incluindo a área de seus orifícios internos) e obteve-se automaticamente o valor da respectiva área (Figura 3C). Com essa ferramenta, ao clicar sobre um pixel da imagem do botão, o QUANT seleciona esse pixel e todos os pixels contíguos cujas coordenadas RGB de cores estejam dentro de uma gama de valores próximo aos do pixel inicialmente selecionado, a qual é definida pelo valor da "tolerância" pré-estabelecida pelo usuário do QUANT.

Clica-se com o mouse sobre um pixel P_{ij} da imagem, o qual será selecionado. Apenas os oito pixels vizinhos serão comparados com o pixel selecionado, considerando um valor de tolerância entre 0 e 255, pré-determinado. Isto permitirá selecionar simultaneamente pixels vizinhos com coordenadas de cores semelhantes. Quando se clica sobre um pixel, P_{ij} , simultaneamente cada um dos oito pixels vizinhos $P_{i'j'}$ ($i' = 1, 2, \dots, m$; $j' = 1, 2, \dots, n$; $i' \neq i$ ou $j' \neq j$; $i' = i \pm 1$ e $j' = j \pm 1$) são comparados com esse pixel inicialmente selecionado:

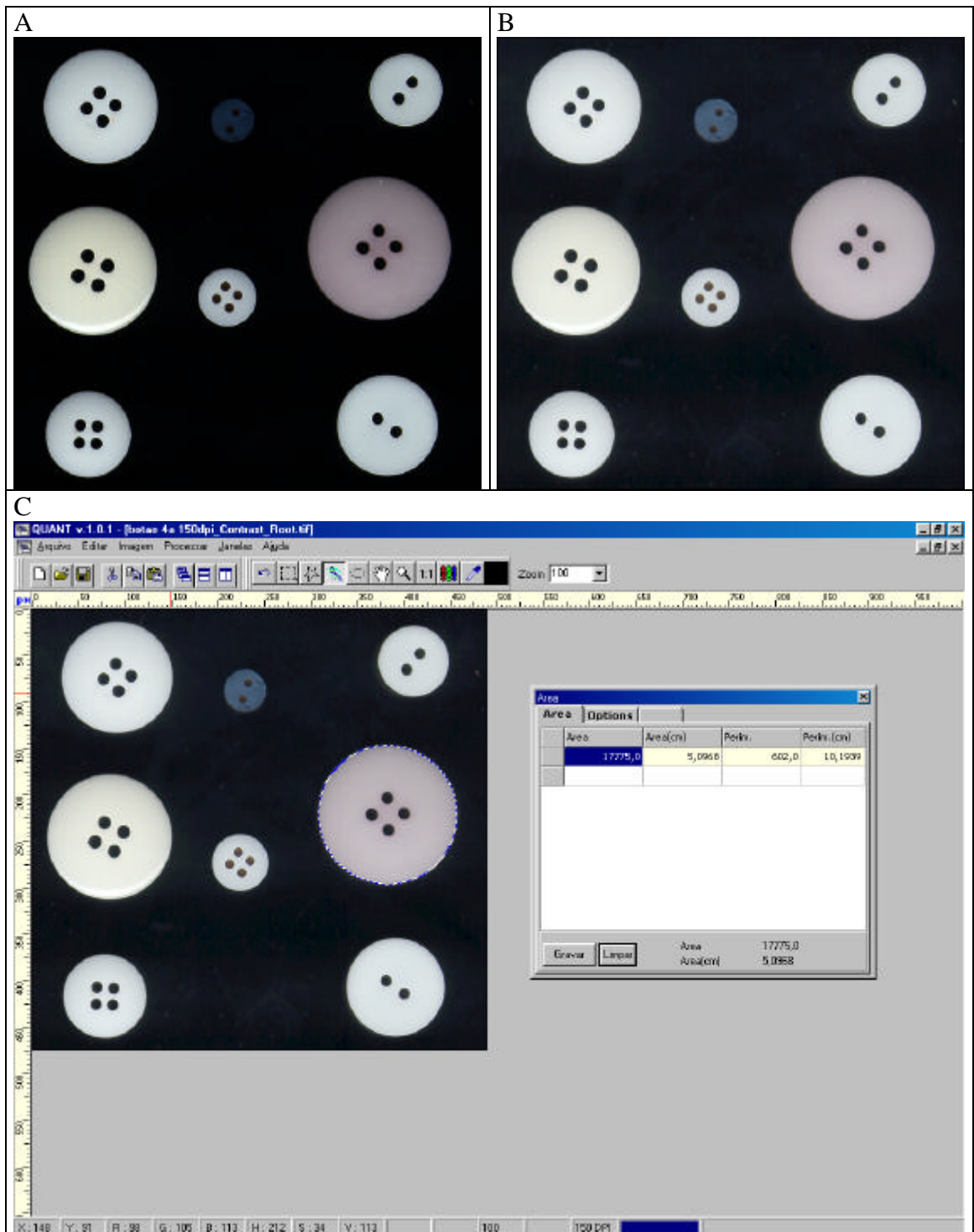


Figura 3. Imagem digital, a 150 dpi, de oito botões (A). Imagem após o uso do procedimento contraste raiz (B). Tela do QUANT apresentando a seleção da área de um botão e o valor de sua área, na imagem apresentada em B, com o uso da "varinha mágica de seleção" (C).

Se máximo $(R_{ij} - R_{ij'}; G_{ij} - G_{ij'}; B_{ij} - B_{ij'}) \leq$ valor da tolerância, então o pixel vizinho $P_{ij'}$ também é selecionado. O QUANT considera que os valores de R, G e B variam entre zero e 255.

Cada novo pixel incluído na seleção tem os seus pixels vizinhos comparados com o primeiro pixel selecionado P_{ij} , segundo o critério acima. Desta maneira, uma área de pixels contíguos pode ser selecionada e as cores de seus pixels alterada para uma única cor.

Nos estudos apresentados nesse capítulo, os valores de tolerância foram ajustados por meio de tentativas, até que a área selecionada fosse considerada adequada pelo usuário do QUANT, por meio de sua visualização. O QUANT, então, fornece o valor da área selecionada.

Para verificar a acurácia e precisão das estimativas de áreas realizadas com o uso do QUANT, foi utilizada a análise de regressão linear simples (Campbell & Madden, 1990). Inicialmente utilizou-se o modelo completo: $Y = \beta_0 + \beta_1 X + \varepsilon$, onde Y são os valores de áreas dos botões estimadas pelo QUANT e X, os valores padrão, estimados com a equação do círculo, a partir do diâmetro mensurado com micrômetro. Quando β_0 não diferiu estatisticamente de zero ($P > 0,05$) e os dados obtidos demonstravam claramente que a reta estimada tendia a passar pela origem ($Y = X = 0$), efetuou-se nova análise de regressão linear simples, através da origem, segundo o modelo: $Y = \beta_1 X + \varepsilon$ (Neter et al., 1996). Utilizou-se o teste t para testar a hipótese $\beta_1 = 1$. O valor estimado de β_1 é um indicativo de acurácia e o valor do coeficiente de determinação, r^2 , representa a precisão. Isto permite que a acurácia seja representada por somente um parâmetro da equação da reta. As análises de regressão linear foram feitas com o software "Statistica for Windows 5.5" (Statsoft, 2000).

Experimento 3 – Acurácia e precisão do QUANT na estimativa de áreas em diagramas de papel

Em papel couchê, 90 g.m^{-2} , foram recortadas, segundo um molde de folha de cafeeiro, com cerca de 50 cm^2 , 40 diagramas. Com o uso de um furador de papel, foram feitos de um a 40 orifícios circulares iguais nos diagramas. Para evitar rebarbas nas bordas, o diagrama de papel couchê foi furado sobre papel cartão. O diâmetro do pino do furador de papel era de 5,43 mm (medido com micrômetro Mitutoyo® modelo 103, com resolução de 0,01 mm). Portanto, a área de cada furo era $0,2316 \text{ cm}^2$.

A área de cada diagrama de papel foi estimada com o uso do medidor de área Li-cor® modelo LI-3100. Foi obtida a média de três leituras de área em cada diagrama,

antes e após a realização dos orifícios. Por diferença entre as médias, estimou-se a área dos orifícios.

Imagens de cada diagrama foram obtidas e digitalizadas em arquivo formato Windows Bitmap, em scanner HP® modelo Scanjet 3C, em duas resoluções: 100 e 300 dpi. Uma caixa de isopor forrada de papel cartão de cor preto fosco foi colocada em cima da área de aquisição de imagem do scanner, para que o "fundo" da imagem digitalizada fosse de cor preto, evitando assim a interferência de sombreamento nas bordas dos diagramas.

As imagens foram processadas com o QUANT. A partir da imagem negativa da imagem original (Figura 4), usando varinha de seleção, selecionou-se o diagrama, incluindo os orifícios (Figura 5). Utilizou-se valor de tolerância próximo a 100, o que permitiu selecionar toda a área do diagrama de papel. Automaticamente, obteve-se o valor da área total do diagrama. Após desmarcar a seleção do diagrama, selecionou-se a área de cada furo com a varinha de seleção. Na borda de cada furo, havia uma nítida camada de um pixel de espessura, a qual foi incluída na seleção como área do furo. Para os orifícios, utilizou-se valor de tolerância próximo a 200. Após, trocaram-se as cores da área selecionada para uma única cor, neste caso, cinza (optou-se por este valor de cinza: $R = G = B = 128$) (Figura 6). Após selecionar e alterar a cor das áreas de todos os orifícios do diagrama, usando-se o procedimento de intervalo de cores, trocaram-se todas as demais cores cujas coordenadas eram diferentes das coordenadas da cor das áreas dos orifícios para, por exemplo, branco padrão ($R = G = B = 255$). Com isso, a imagem passou a ter duas cores apenas (Figura 7). O procedimento "resultado" forneceu o valor das áreas ocupadas por ambas as cores. Assim, foi estimado o valor das áreas dos orifícios. Repetiu-se esse procedimento para todas as 40 imagens de diagramas.

Para verificar a acurácia e precisão das estimativas de áreas realizadas com o uso do QUANT, foi utilizada a análise de regressão linear simples (Campbell & Madden, 1990). Inicialmente utilizou-se o modelo completo: $Y = \beta_0 + \beta_1 X + \varepsilon$, onde Y são os valores de áreas dos estimados pelo QUANT e X , os valores padrão, estimados com a equação do círculo, a partir do diâmetro mensurado com micrômetro. Quando β_0 não diferiu estatisticamente de zero ($P > 0,05$) e os dados obtidos demonstravam claramente que a reta estimada tendia a passar pela origem ($Y = X = 0$), efetuou-se nova análise de regressão linear simples, através da origem, segundo o modelo: $Y = \beta_1 X + \varepsilon$ (Neter et al., 1996). Utilizou-se o teste t para testar a hipótese $\beta_1 = 1$. O valor estimado de β_1 é um indicativo de acurácia e o valor do coeficiente de determinação, r^2 , representa a precisão. Isto permite que a acurácia seja representada

por somente um parâmetro da equação da reta. Também foram feitas regressões considerando os valores de Y como as áreas estimadas com o medidor de área Li-cor modelo LI-3100. Neste caso, o valor estimado de β_1 é um indicativo da concordância entre as mensurações. As análises de regressão linear foram feitas com o software “Statistica for Windows 5.5” (Statsoft, 2000).

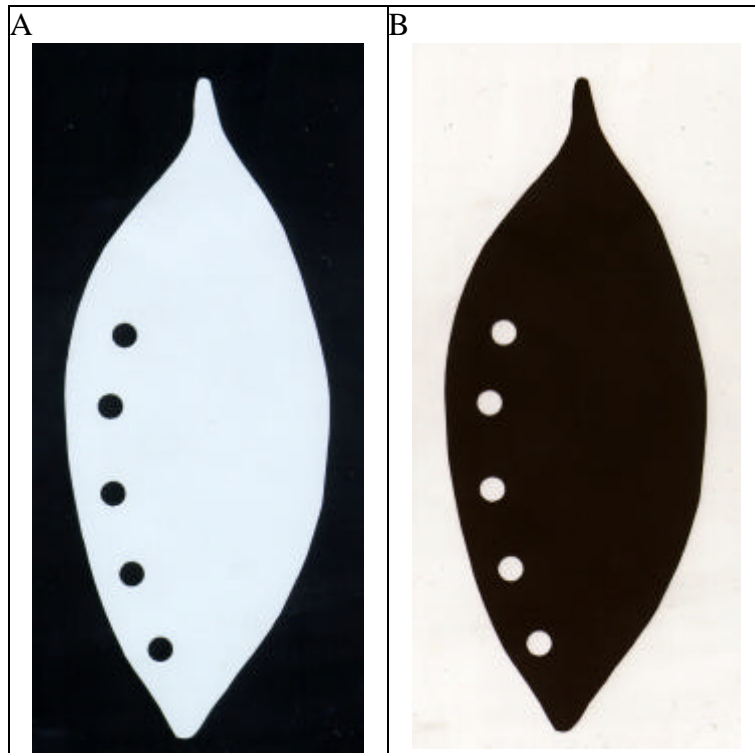


Figura 4. Imagem de um diagrama em papel couchê, a 300 dpi, com cinco orifícios (A) e o seu negativo (B). Ambas imagens possuem 22.835 cores no sistema RGB.

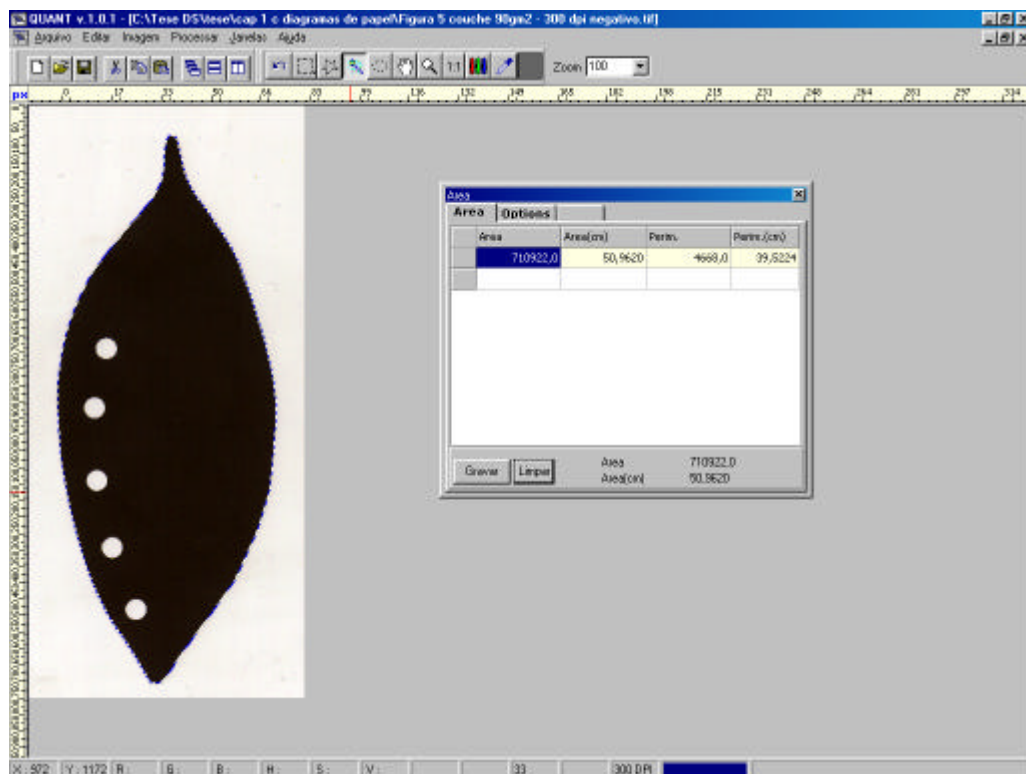


Figura 5. Tela do software QUANT. Negativo da imagem de um diagrama de papel com cinco orifícios. A área do diagrama foi selecionada com a "varinha mágica de seleção" e é indicada na janela central.

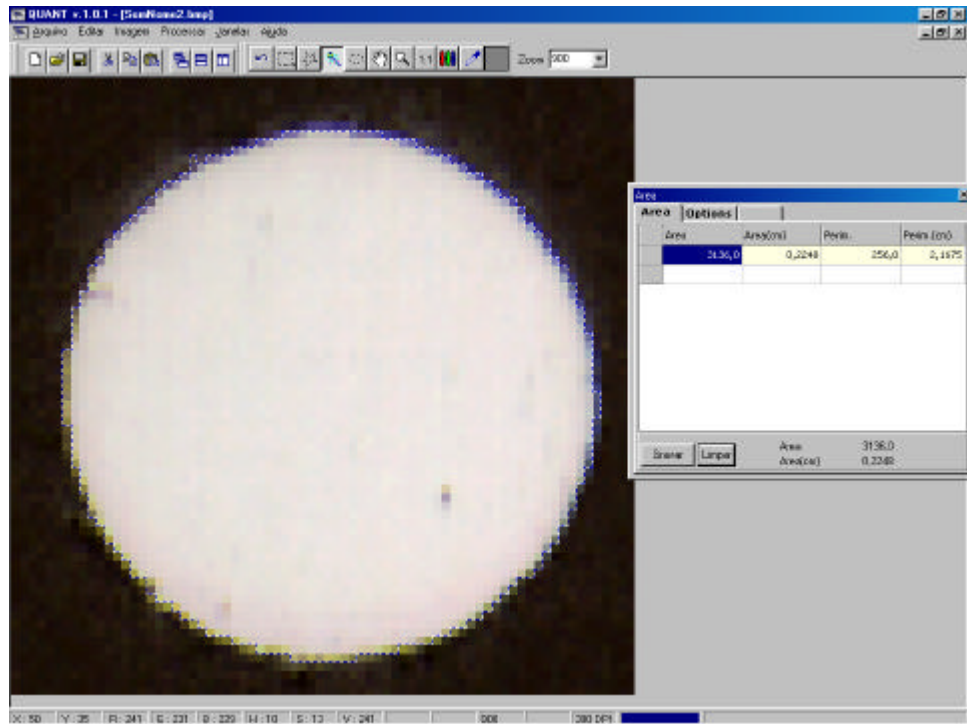


Figura 6. Tela do software QUANT. Negativo da imagem de um diagrama de papel. Detalhe da seleção da área de um furo com a "varinha mágica de seleção". o valor da área é indicada na janela central.

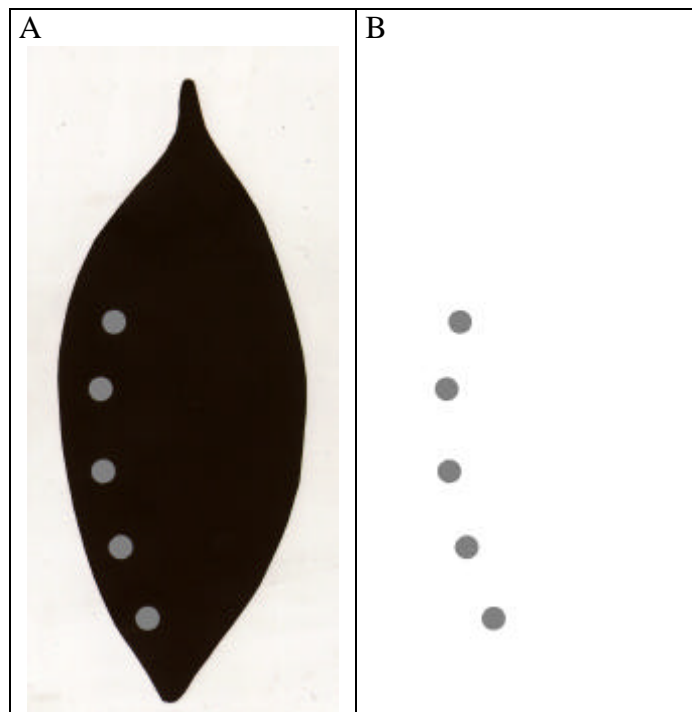


Figura 7. Negativo da imagem de um diagrama foliar em papel couchê, a 300 dpi, cujos orifícios tiveram suas cores alteradas para cinza (R=G=B=128) (A) e após todas as demais cores foram alteradas para branco (R=G=B=255) (B).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento 1 – Acurácia do QUANT na estimativa da área de um disco de 50 cm²

A resolução das imagens foi conferida verificando-se o número de pixels equivalente ao diâmetro horizontal do disco, estando todas as resoluções corretas.

Embora haja apenas uma estimativa de área com o QUANT, para cada posição do disco no digitalizador de imagem e para cada resolução, são apresentadas médias de acurácia, para cada posição, considerando as diferentes resoluções como repetições e vice-versa. Mas, não foram realizados testes estatísticos de comparação de médias (Tabela 1). Os erros na estimativa da área do disco padrão com o uso da ferramenta de seleção de áreas por intervalo de coordenadas foram todos abaixo de 1,4%. As estimativas da área do disco apresentaram acurácia média variando de 99,64 a 99,72%, dependendo da posição do disco, sobre o digitalizador de imagem, na obtenção da imagem digital (Tabela 1). No entanto, houve uma maior variação na acurácia em relação à resolução da imagem digital. Imagens digitalizadas a 200 dpi, em quaisquer das seis posições do scanner, propiciaram acurácia de 98,66 a 98,77%. Imagens com as demais resoluções apresentaram acurácia de 99,71 a 100%, sendo que a resolução de 75 dpi propiciou acurácia média de 99,97% (Tabela 1, Figura 8).

Utilizando o procedimento de Seleção de cor por redução do número de cores, as estimativas da área do disco apresentaram acurácia cerca de 0,2% menor que as obtidas com o método anterior e com o mesmo comportamento em relação às resoluções das imagens (Figura 9).

Tabela 1. Acurácias na estimativa da área pelo software QUANT, usando o procedimento de intervalo de coordenadas de cores, em imagens digitalizadas em seis posições¹ no scanner e a seis diferentes resoluções, de um disco de metal de 50 cm² (vide figura 1)

Posição	Acurácia média (%) ²	Resolução (dpi)	Acurácia média (%) ³
1	99,70 (98,74 - 99,97)	75	99,97 (99,94 - 100,00)
2	99,69 (98,73 - 99,97)	100	99,80 (99,71 - 99,85)
3	99,72 (98,77 - 99,98)	150	99,86 (99,82 - 99,90)
4	99,64 (98,70 - 99,95)	200	98,72 (98,66 - 98,77)
5	99,68 (98,70 - 100,00)	250	99,86 (99,81 - 99,91)
6	99,65 (98,66 - 99,94)	300	99,88 (99,84 - 99,92)

¹ Vide Figura 1. ² obtidas das médias de seis resoluções (min. – máx.). ³ obtidas das acurácias das seis posições (min. -máx.).

A maioria das estimativas realizadas com o QUANT subestimou a área real do disco. Isto pode ser devido a duas causas: a) o disco é uma círculo e o pixel da imagem digital é um quadrado. Portanto, há um erro teórico associado à mensuração da área do círculo imediatamente próxima à circunferência; b) Ao se digitalizar as imagens do disco de metal, houve a formação de um gradiente de cores na região da circunferência, com largura de um a três pixels. Optou-se por não incluir esses pixels na área selecionada e mensurada pelo QUANT.

Experimento 2 – Acurácia e precisão do QUANT na estimativa de pequenas áreas

Todos os oito botões tendiam para a forma de círculo, com mínima variação no seu diâmetro, mensurado em quatro posições (erro-padrão $\leq 0,04$ mm) (Tabela 2). Assim, neste estudo, as suas áreas foram estimadas a partir do seu diâmetro médio, considerando-os círculos perfeitos e esses valores foram considerados o padrão de área (real) para cada botão.

Considerando o conjunto de estimativas de área dos oito botões, o medidor de área apresentou acurácia de 98% e o QUANT, acurácia de 98 a 99%, dependendo da resolução da imagem. Esses métodos apresentaram precisão de 99,99%. A acurácia é representada pela estimativa do parâmetro β_1 e a precisão é representada pelo coeficiente de determinação da equação de regressão linear simples, r^2 (Figura 10).

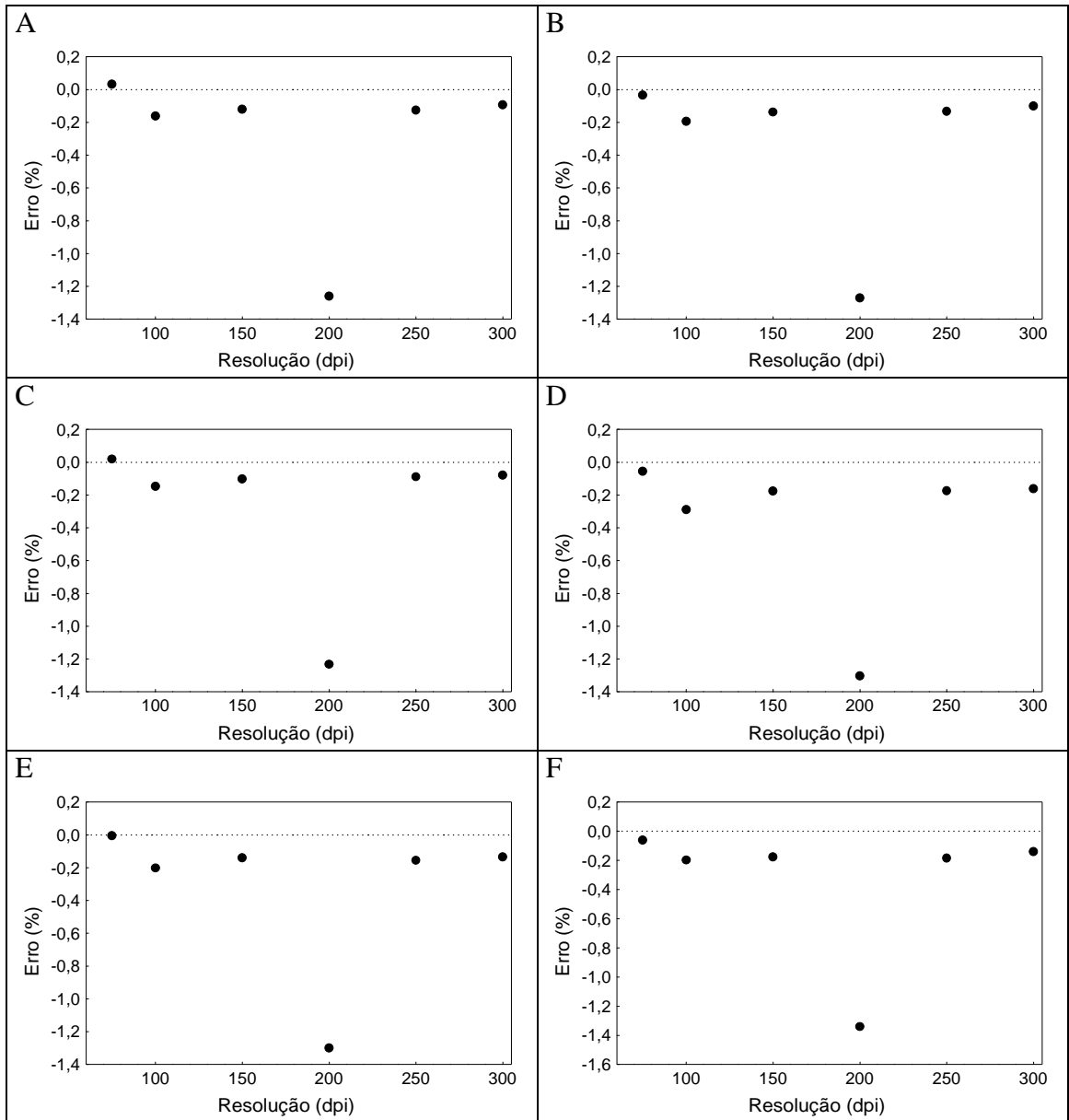


Figura 8. Erros (%) na estimativa da área pelo software QUANT, usando o procedimento de intervalo de coordenadas de cores, em imagens digitalizadas, em seis resoluções e em seis posições no scanner, de um disco de metal de 50 cm². A – F, posições 1 a 6, respectivamente (vide figura 1). Erro = valor estimado – valor real.

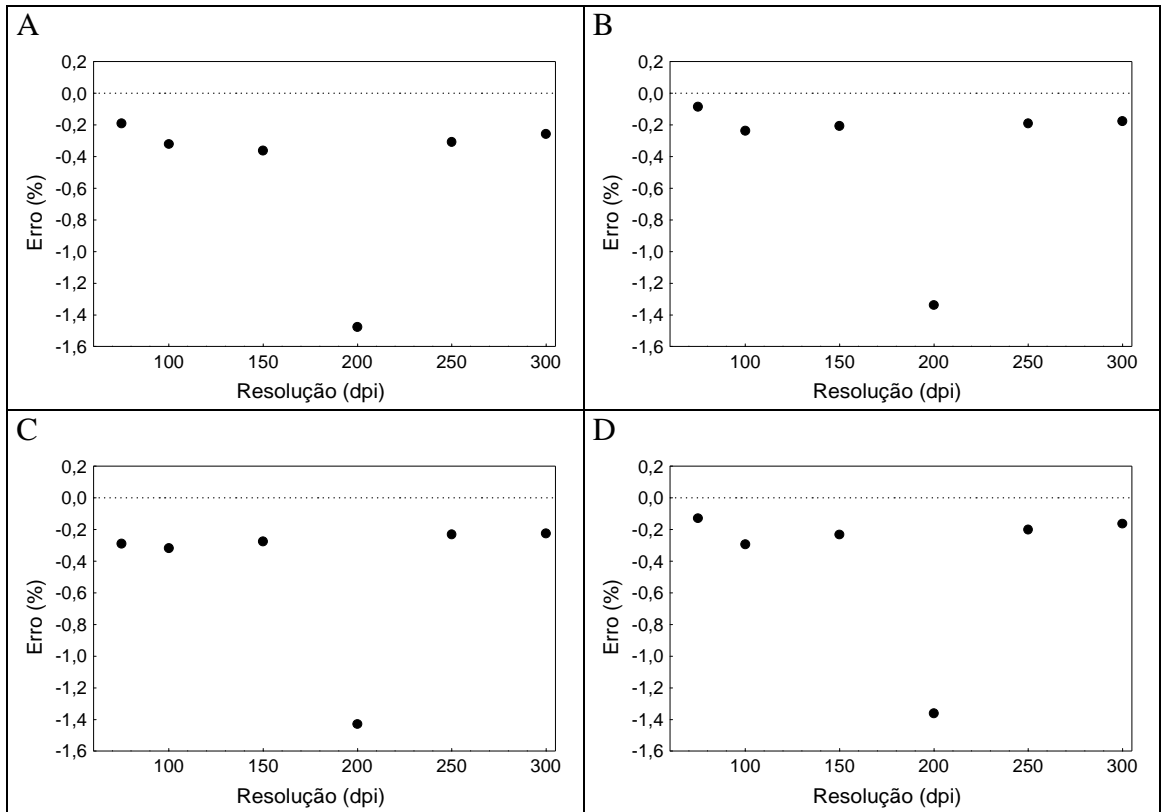


Figura 9. Erros (%) na estimativa da área pelo software QUANT, usando o procedimento de redução de cores em imagens digitalizadas, em seis resoluções e em duas posições no scanner, de um disco de metal de 50 cm². A e C, redução para 16 cores; B e D, redução para 64 cores (vide texto), A e B, posição 1, C e D, posição 2 (vide figura 1). Erro = valor estimado – valor real.

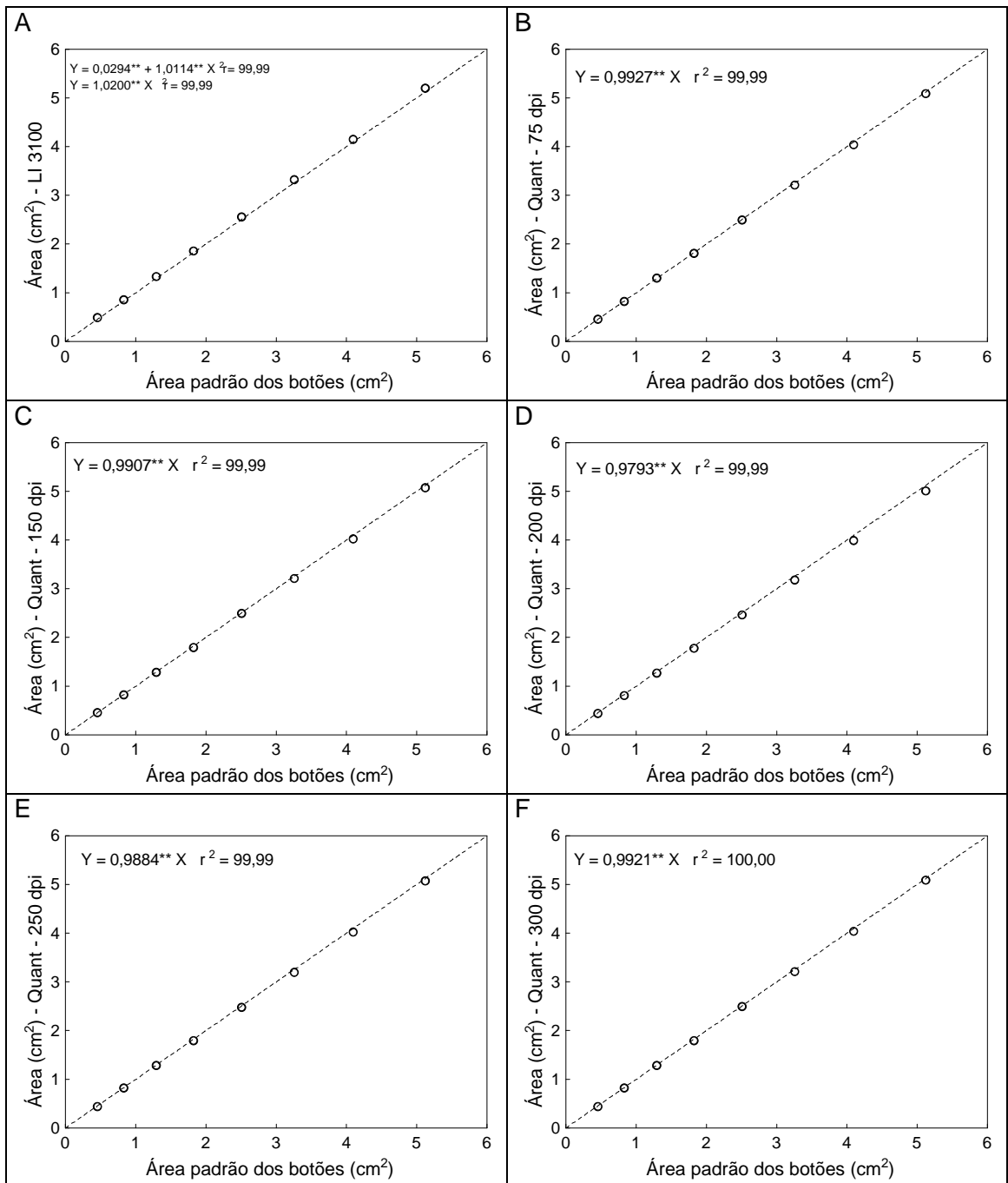


Figura 10. Comparação entre as áreas-padrão dos botões e as estimativas com o uso do medidor de área Li-cor LI-3100 (A) e do QUANT em imagens digitais com resolução de 75 a 300 dpi (B-F) Regressão através da origem. Linha pontilhada: $Y = X$, sendo Y a ordenada e X, a abscissa. Hipóteses testadas: $\beta_0 = 0$; $\beta_1 = 1$. ** $P < 0,01$.

Tabela 2: Comparação entre as áreas (cm²) estimadas pelo QUANT em imagens digitalizadas, a 100 dpi, de oito botões entre duas lâminas de vidro¹ ou não

Botão	Diâmetro ² (d)	Área Padrão ³	Botões entre lâminas de vidro (A)	Botões sobre o visor do scanner (B)	Diferença (cm ²) (A) – (B)	Teste t ⁵	P ⁶	Diferença (%) (A – B) / B
1	2,552 ± 0,004	5,1151	5,0769 ± 0,0108 ⁴	5,0919 ± 0,0061 ⁴	-0,0150	-1,209	0,272	-0,29%
2	2,284 ± 0,003	4,0972	4,0353 ± 0,0021	4,0492 ± 0,0015	-0,0139	-5,402	0,002	-0,34%
3	2,035 ± 0,002	3,2525	3,2126 ± 0,0035	3,2115 ± 0,0027	0,0011	0,257	0,806	0,03%
4	1,787 ± 0,001	2,5081	2,4918 ± 0,0018	2,4978 ± 0,0027	-0,0060	-1,841	0,115	-0,24%
5	1,522 ± 0,002	1,8194	1,8002 ± 0,0016	1,8024 ± 0,0037	-0,0022	-0,561	0,595	-0,12%
6	1,280 ± 0,000	1,2868	1,2940 ± 0,0023	1,2897 ± 0,0020	0,0043	1,419	0,206	0,33%
7	1,027 ± 0,001	0,8284	0,8300 ± 0,0031	0,8271 ± 0,0006	0,0029	0,929	0,417	0,35%
8	0,762 ± 0,001	0,4560	0,4565 ± 0,0032	0,4584 ± 0,0034	-0,0019	-0,420	0,689	-0,41%

¹ Lâminas de vidro liso transparente (2,11 mm de espessura).

² Média (cm) de quatro mensurações (em posições diferentes) com micrômetro Mitutoyo® modelo 103-137 ± o erro-padrão da média;

³ área = $\pi d^2 / 4$;

⁴ Média de quatro mensurações ± erro-padrão da média.

⁵ Hipótese testada: A – B = 0.

⁶ Probabilidade

Verificou-se que também nesse experimento, imagens digitalizadas a 200 dpi, tenderam a proporcionaram menor acurácia nas estimativas das áreas.

O fato da obtenção das imagens digitais dos botões entre duas lâminas de vidro liso não alterou o valor da estimativa de sua área com o QUANT, quando comparados a imagens obtidas de botões diretamente sobre o visor do scanner. As diferenças nas estimativas com os dois tipos de imagem variou de 0,001 a 0,015 cm² (0,03 a 0,41% em relação às áreas de imagens obtidas de botões diretamente sobre o visor). Somente para o botão número 2, essa diferença foi estatisticamente significativa, fato devido à alta precisão das estimativas destas duas médias (Tabela 2).

A estimativa das áreas dos botões foi mais acurada e precisa com o uso do QUANT que as do medidor de área da Li-cor LI-3100. Quanto menor a área do botão, maior foi o erro percentual do medidor de área e maior o coeficiente de variação (c.v.) de suas estimativas (Figura 11). A resolução do medidor da Li-cor foi de 1 mm², que é equivalente a 25 dpi. Pelo fato das áreas mensuradas serem circulares e do pixel ser quadrado, há um erro na mensuração das bordas. Teoricamente, quanto menor o diâmetro e quanto menor a resolução, maior o erro. Isto talvez explique a diminuição da acurácia do medidor de área Li-cor, com a diminuição da área do botão.

Experimento 3 - Acurácia e precisão do QUANT na estimativa de áreas em diagramas de papel

A estimativa de áreas com o uso do QUANT em imagens com resolução de 100 ou de 300 dpi, apresentaram alta concordância entre si. Baseando-se na estimativa do parâmetro β_1 , da equação de regressão linear simples através da origem, houve 99,5% de concordância nas mensurações das áreas total dos orifícios de cada diagrama e 99,94% de concordância nas mensurações das áreas dos diagramas das imagens de 100 ou 300 dpi. As diferenças entre as duas resoluções de imagens utilizadas quanto às estimativas de áreas dos orifícios variaram de 0,00 a 0,16 cm² (0,02 a 2,40%) e quanto às áreas dos diagramas variaram de 0,00 a 0,13 cm² (0,00 a 0,25%) (Figura 12). Devido a isso, nas análises seguintes foram consideradas somente as estimativas de áreas de imagens com 100 dpi.

Em comparação com as áreas-padrão (real) dos orifícios, as estimativas do QUANT apresentaram 98,37% de acurácia e 99,98% de precisão (Figura 13A). O erro absoluto máximo foi 0,19 cm² (Figura 13C) e o erro percentual máximo foi de 3% (Figura 13E). Já as estimativas feitas com o medidor de área LI-3100 foram menos acuradas (86,58%) (Figura 13B). Seus erros foram maiores que os do QUANT. Os maiores erros absolutos e percentuais foram 1,55 cm² e 85,82%, respectivamente

(Figuras 13D e 13E). Houve uma tendência de aumento do erro das estimativas das áreas dos orifícios com o aumento do número de orifícios (Figura 13D). Isso pode ser devido ao fato que o pixel de leitura do medidor de área LI-3100 é quadrado e os orifícios são circulares. Segundo o fabricante, com a resolução de 1 mm², o LI-3100 pode apresentar erros de 2, 5 ou 7% ao mensurar objetos de 5, 1 ou 0,5 cm², respectivamente (Li-Cor, 1996).

Quando comparadas entre si, as estimativas de áreas com o uso do QUANT e com o medidor de área, não foram concordantes (Figura 14). Houve diferenças de até 0,53 cm² (1,06%) com relação às áreas dos diagramas (Figuras 14D e 14F) e de até 1,41 cm² (85,62%) com relação às áreas dos orifícios (Figuras 14C e 14E).

Considerando os três experimentos, o QUANT foi avaliado na mensuração de áreas de tamanho próximo ao de folhas de muitas espécies vegetais e ao de lesões de muitas doenças. À exceção do diagrama, com formato de folha, as demais áreas mensuradas tinham forma circular, pois muitas doenças apresentam lesões arredondadas. A acurácia das estimativas das áreas tendeu a variar mais em função da resolução que da posição do objeto no digitalizador de imagens. A resolução de 200 dpi tendeu a propiciar menor acurácia das estimativas. Imagens nas demais resoluções propiciaram melhores acurácias. Os resultados sugerem que imagens com as menores resoluções podem ser usadas para processamento no QUANT, pois o número de pixels e, conseqüentemente, o tamanho do arquivo (número de bytes) de uma imagem, por exemplo, a 100 dpi é 1/9 em relação à mesma imagem digitalizada a 300 dpi. Isto torna a digitalização e o processamento mais rápidos e demanda menos espaço para arquivar as imagens.

Na estimativa de áreas maiores (cerca de 50 cm²), o QUANT apresentou acurácia superior a 99,80% para todas as resoluções das imagens do disco-padrão, à exceção de 200 dpi. No caso das áreas dos diagramas de papel, as estimativas foram semelhantes àquelas feitas com o LI-3100, com diferença máxima de 1,1%. Rossiello et al. (1995) obtiveram acurácia maior que 99,17% ao estimarem áreas de 242 a 1227 cm² com o medidor de área Li-cor modelo LI 3000.

Na estimativa de pequenas áreas (botões e orifícios dos diagramas) a acurácia do medidor de área LI-3100 foi inferior à do QUANT e diminuiu com a redução da área. O QUANT apresentou maior acurácia (98,37%) das áreas dos orifícios dos diagramas de papel que o LI-3100 (86,58%). Não houve o objetivo de comparar o QUANT com o medidor de área LI-3100, pois as resoluções utilizadas foram diferentes. A da LI-3100 equivaleu a 25 dpi. Suas mensurações são utilizadas como referências apenas. Ademais, o principal uso do QUANT, em Fitopatologia, é

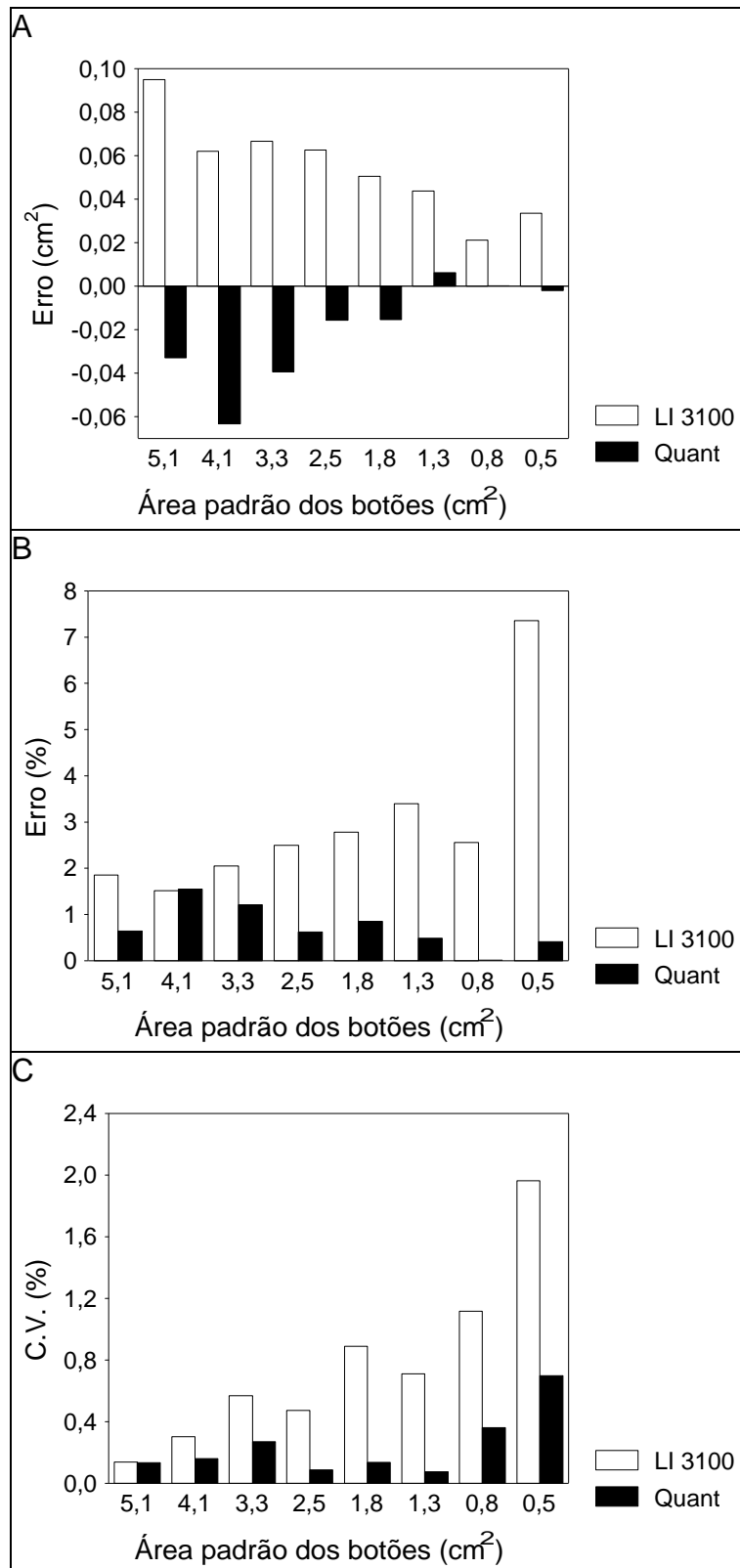


Figura 11. Erros e coeficientes de variação (%) das estimativas da área de oito botões, com o uso do medidor de área Li-cor LI-3100 e do QUANT, em imagens digitais a 150 dpi. Erro (cm²) = valor estimado – valor padrão.

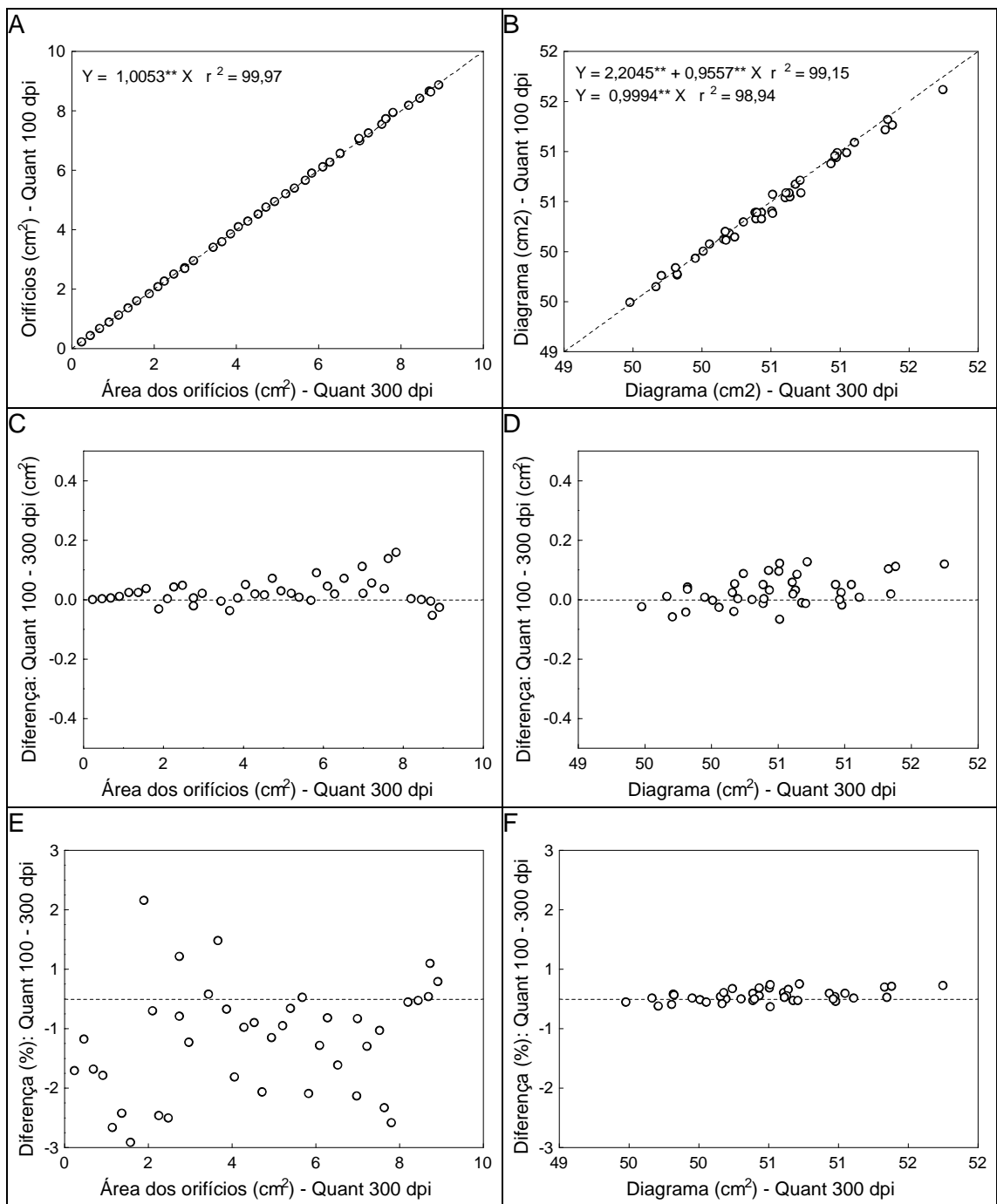


Figura 12 – Comparação entre as estimativas de áreas com o uso do QUANT em imagens digitais com resolução de 100 (Quant 100 dpi) ou 300 dpi (Quant 300 dpi): área dos orifícios (A, C, E) e área dos diagramas de papel (B, D, F). Regressão através da origem. Linha pontilhada: $Y = X$ (A, B), sendo Y a ordenada e X, a abscissa. Hipóteses testadas: $\beta_0 = 0$; $\beta_1 = 1$. $** P < 0,01$.

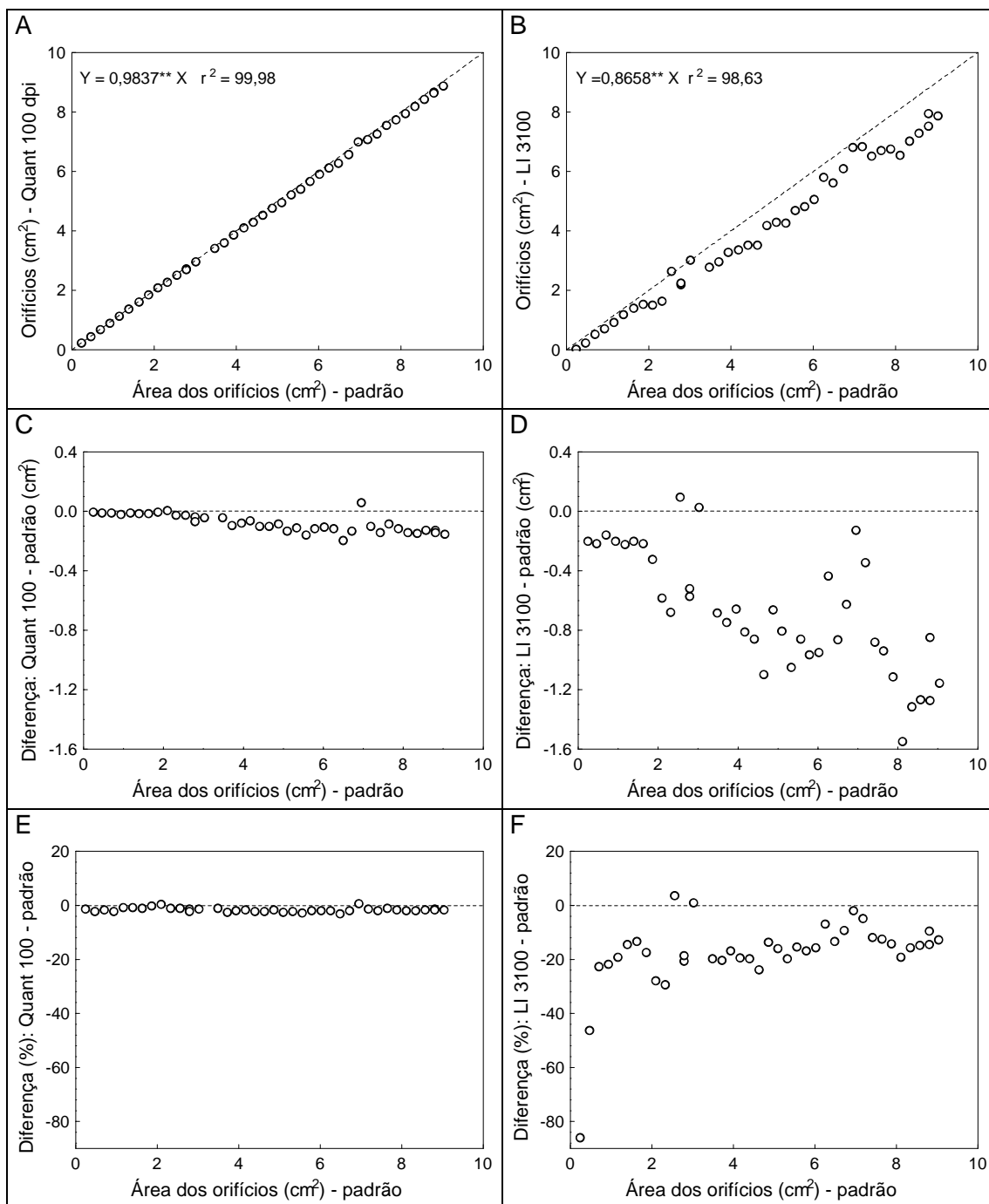


Figura 13 - Comparação entre as áreas-padrão (calculadas a partir do diâmetro dos orifícios) e as estimativas de áreas dos orifícios dos diagramas de papel com o uso do QUANT em imagens digitais com resolução de 100 dpi (Quant 100 dpi) (A, C, E) e entre as áreas-padrão e as estimativas obtidas no medidor de área Li-cor modelo LI-3100 (B, D, F). Regressão através da origem. Linha pontilhada: $Y = X$ (A, B), sendo Y a ordenada e X, a abscissa. Hipótese testada: $\beta_1 = 1$. ** $P < 0,01$.

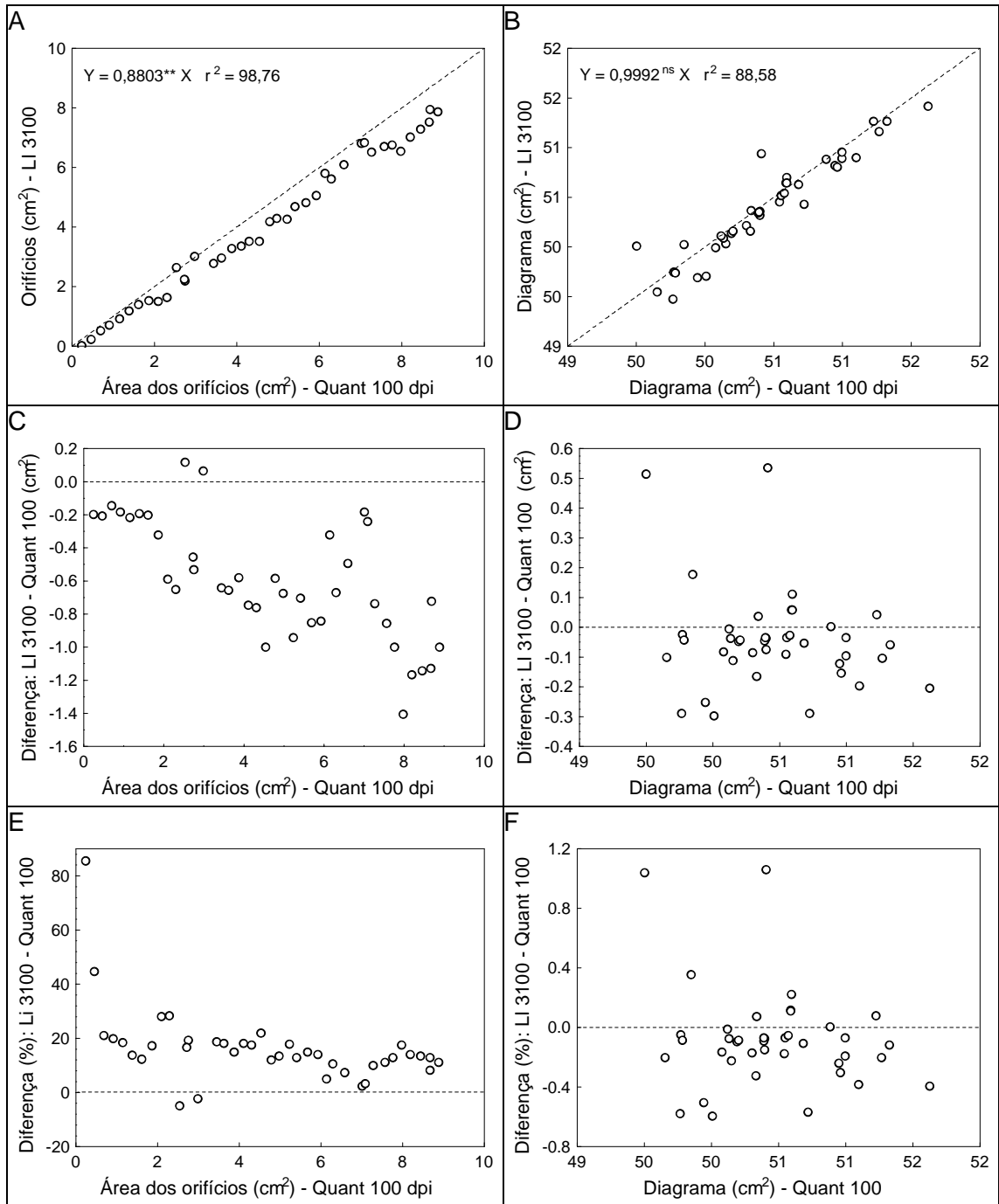


Figura 14 - Comparação entre as estimativas de áreas com o uso do QUANT em imagens digitais com resolução de 100 dpi (Quant 100 dpi) e com o medidor de área Li-cor modelo LI-3100: área dos orifícios (A, C, E) e área dos diagramas de papel (B, D, F). Regressão através da origem. Linha pontilhada: $Y = X$ (A, B), sendo Y a ordenada e X, a abscissa. Hipótese testada: $\beta_1 = 1$. ****** $P < 0,01$; **^{ns}** $P > 0,05$.

mensurar as áreas lesionadas de folhas de plantas, o que o LI-3100 não pode fazer diretamente. Os resultados indicam que o QUANT pode ser usado como padrão de mensuração de pequenas áreas. Além disso, o uso do QUANT necessita apenas de um microcomputador e um digitalizador de imagem, sendo de menor custo que o medidor de área. Além disso, as imagens digitalizadas podem ser armazenadas.

Deve-se acrescentar que o uso do QUANT pode ser dividido em três partes: a) a digitalização da imagem, b) a melhoria do contraste da imagem (opcional), e c) a seleção dos objetos de interesse na imagem. A mensuração das áreas em si é um mero processo de somatório de pixels selecionados. Cada uma dessas três partes pode interferir na estimativa das áreas. A parte que mais pode interferir é a seleção de objetos (segmentação da imagem) feitas pelo usuário do QUANT.

O QUANT apresentou acurácia de estimativas de áreas muito superior as acurácias obtidas em avaliações visuais de severidade de doença, apresentando-se com alto potencial de uso em fitopatometria, para mensurar área foliar e área lesionada.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DA INTENSIDADE DE ÁREA CONSUMIDA POR INSETOS EM FOLHAS DE PIMENTÃO COM O USO DO SOFTWARE QUANT®

RESUMO

Foram avaliadas a acurácia e a precisão do software QUANT na mensuração da área foliar total, da área desfolhada (consumida) e da severidade da desfolha (percentagem da área foliar desfolhada) por besouros crisomelídeos, em 99 folhas de pimentão (*Capsicum annuum*), usando imagens digitais, com resolução de 100 e 300 dpi. Também foram feitas mensurações com o medidor de área Li-cor® modelo LI-3100, por meio de estimativa visual por seis avaliadores. A área desfolhada também foi estimada por dois avaliadores observando-se as imagens digitais obtidas com papel milimetrado como fundo, por meio de contagem direta de cada quadrado de 1mm² de área. A resolução da imagem não afetou as estimativas de área pelo QUANT. As estimativas de área com o uso do QUANT e com o LI-3100 apresentaram concordância de 97,8%, 77,0 e 80,8%, para área foliar, área desfolhada e severidade, respectivamente. Compararam-se as mensurações de área desfolhada do QUANT e do LI-3100 com mensurações realizadas por dois avaliadores, por meio de contagem de quadrículas em papel milimetrado. O QUANT apresentou maior acurácia (89,0 a 93,1%) e precisão (97,0%) que o medidor de área foliar, o qual apresentou acurácia de 86 a 88% e precisão de 77%. Todos os seis avaliadores visuais superestimaram a

severidade. Apenas um avaliador apresentou alta acurácia (92%). A precisão dos avaliadores variou de 22,3 a 92,1%. Propõe-se que o QUANT seja adotado como método padrão para mensurar área foliar e área foliar injuriada (consumida) por insetos.

Palavra-chave: herbivoria

ABSTRACT

It was evaluated the accuracy and precision of the software QUANT in the mensuration of the foliar area, defoliated area for beetles and of the severity (percentage of the eaten foliar area), in 99 leaves of green pepper (*Capsicum annum*), using digital images, at 100 and 300 dpi. Mensurations with the meter area Li-cor model LI-3100 and through visual estimate of six evaluators were accomplished too. The defoliated area was also measured by two evaluators counting on graph paper squared 1 mm. The image resolution didn't affect the mensurations by QUANT. The mensurations by QUANT and by LI-3100 showed agreement of 97.8%, 77.0 and 80.8%, for foliar area, defoliated area and severity, respectively. The mensurations of defoliated area by Quant and by LI-3100 were compared with mensurations accomplished by two evaluators, through counting on graph paper squared 1 mm. QUANT presented accuracy > 89 % and precision 97%. The LI-3100 showed accuracy > 86% and precision 77%. All the six visual evaluators overestimated the severity. Just an evaluator showed high accuracy (92%). The evaluators' precision varied from 22 to 92%. It is proposed that QUANT should be adopted as standard method to measure foliar area and defoliated (eaten) foliar area.

Key word: herbivory

INTRODUÇÃO

Alguns insetos herbívoros, ao se alimentarem, consomem o limbo foliar de plantas. A quantificação da intensidade dessa injúria, doravante denominada desfolha (percentagem da área foliar consumida), é indispensável a alguns estudos entomológicos e tem sido realizada, geralmente, por meio de estimativas visuais subjetivas (Domiciano & Santos, 1994; Lorenção et al., 2000) com ou sem o auxílio de escalas de notas, ou por meio de aparelhos medidores de áreas. Recentemente, alguns autores têm realizado essas mensurações com o uso de imagens digitais (WILCKEN et al., 1998; Furlan et al., 1999; Alchanatis et al., 2000).

Os problemas nos métodos utilizados para quantificar desfolha por insetos são os mesmos daqueles usados para quantificar severidade de doença: a) a falta de padronização dos métodos, não permitindo a comparação de resultados obtidos em diferentes estudos; b) reduzidas acurácia e precisão na estimativa visual.

O software QUANT[®] (Vale et al., 2001, 2003) foi desenvolvido com o propósito de quantificar áreas em imagens digitais. Inicialmente, está sendo testado na mensuração de intensidade de doenças e de intensidade de lesões ou injúrias em folhas de plantas que muitas vezes ocorrem concomitantemente. Espera-se com o uso do QUANT obter estimativas mais acuradas e precisas.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a acurácia e precisão do QUANT na determinação da intensidade de desfolha causadas pela alimentação de insetos, utilizando como exemplo a cultura do pimentão (*Capsicum annuum* L.).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em 2003, no Laboratório de Epidemiologia e Controle da Universidade Federal de Viçosa, para avaliar a acurácia e precisão do software QUANT na estimativa de severidade de desfolha (área foliar consumida) por insetos com o uso de imagens digitais.

Coletaram-se 99 folhas de pimentão com desfolha (orifícios) no limbo, causadas pela alimentação de besouros crisomelídeos. Para evitar desidratação, logo após sua coleta, as folhas foram colocadas entre papéis umedecidos com água fresca e dentro de sacos de polietileno fechados, e transportado dentro de caixa de isopor para o laboratório, onde foram colocadas em geladeira (Liberato et al., 1996). Logo a seguir, grupos de dez a 15 folhas foram retirados da geladeira e enxugados em papel toalha. Em seguida, imagens de cada folha disposta entre duas lâminas de vidro liso transparente (2,11 mm de espessura), para que ficassem planas, foram obtidas em digitalizador de imagem tipo mesa (scanner), HP® modelo Scanjet 3C, em duas diferentes resoluções: 100 e 300 dpi (pixels por polegada), e armazenadas em arquivo do tipo matricial formato Windows Bitmap, não-comprimido, Foi utilizada uma caixa de isopor forrada de papel cartão de cor preto fosco, colocada em cima da área de aquisição de imagem do scanner, para evitar que a iluminação do ambiente interferisse e para que o fundo da imagem digitalizada fosse de cor preto (Figura 1A). Também foram obtidas imagens digitalizadas, a 300 dpi, utilizando como "fundo" da imagem, uma folha de papel milimetrado (Figura 1B). Foi utilizado um computador com processador Pentium III, 450 MHz, com 128 MB de memória RAM, com monitor

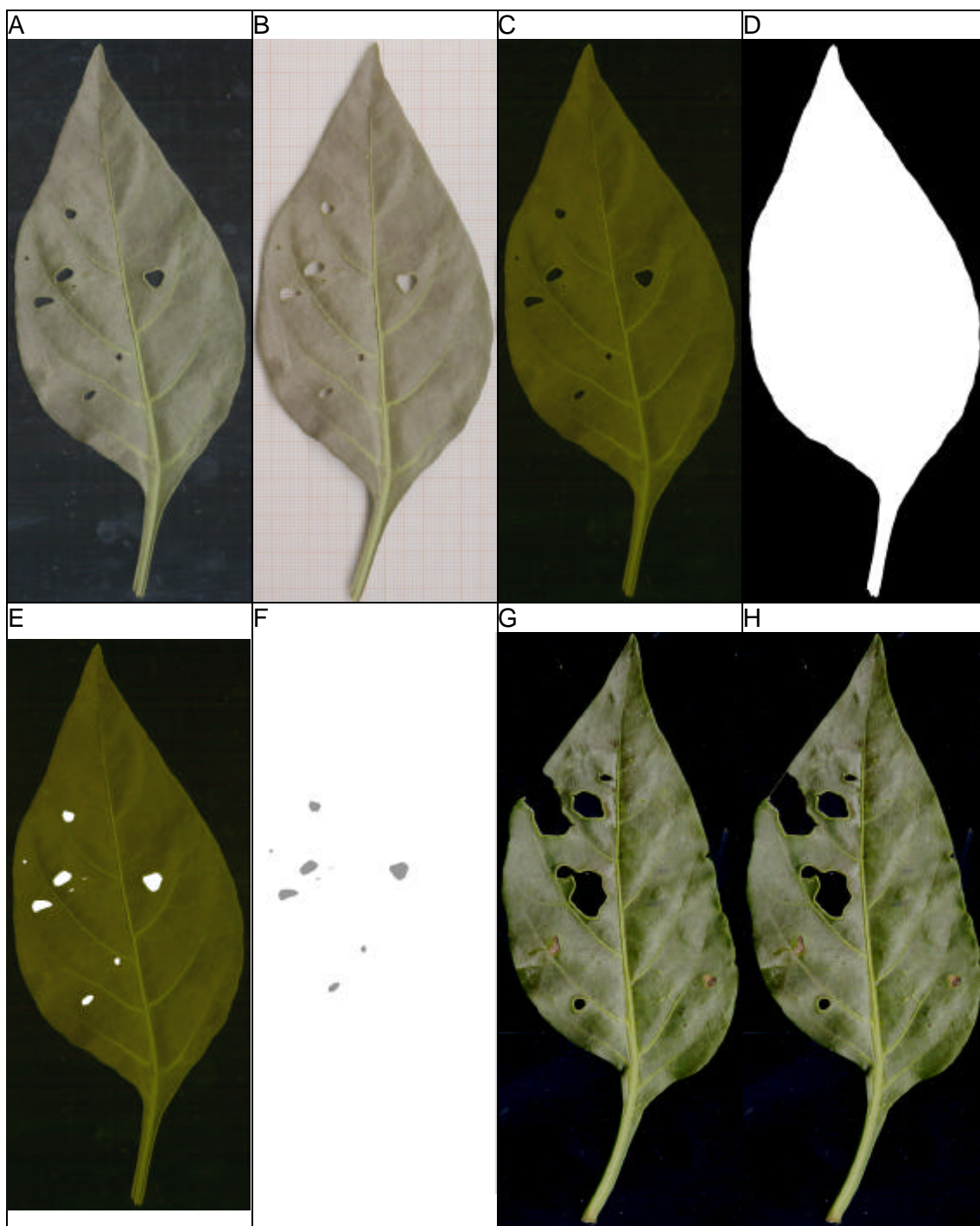


Figura 1. Folha de pimentão com injúria causada por inseto (300 dpi) (A) e com fundo de papel milimetrado (B). Imagem A após uso do filtro excluir brilho (C). Imagem processada para estimativa de área foliar (D). Alteração das cores da área injuriada da imagem B para branco ($R=G=B=255$) (E) ou para cinza ($R=G=B=150$) e demais cores sendo alteradas para branco (F). Folha com injúria na borda (G), com uma "ponte" para separar a área injuriada do "fundo" da imagem (H). Para detalhes, vide texto.

Waitec[®] modelo MPSV-1720, 16", true color (32 bits), com configuração de tela de 1024 x 768 pixels. Após, as folhas foram recolocadas na geladeira, entre papel umedecido, dentro de sacos plásticos fechados.

Neste estudo, o termo área foliar refere-se à soma da área "intacta" do limbo foliar com a área desfolhada (consumida). Cada folha teve sua área estimada com o uso do medidor de área Li-cor[®] modelo LI-3100 na resolução de 1 mm², equivalente a 25 dpi. Foram feitas três leituras de área em cada folha. Foram mensuradas a área intacta do limbo e a área foliar. Na estimativa dessa última, colocou-se fita adesiva opaca sobre a área injuriada do limbo foliar. Por diferença, estimou-se a área injuriada (Lowman, 1984). Para evitar desidratação das folhas, repetiu-se o mesmo cuidado adotado durante a digitalização das imagens. Todos os processamentos das folhas frescas foram feitos durante algumas horas da tarde do dia da coleta. As folhas não apresentaram sintomas visíveis de desidratação, o que poderia afetar as estimativas de área.

A intensidade da desfolha (percentagem da área foliar consumida), foi estimada visualmente por seis avaliadores, observando imagens digitais, a 300 dpi, de folhas individuais na tela do computador. A área consumida também foi estimada por dois avaliadores observando-se as imagens digitais obtidas com papel milimetrado como fundo, por meio de contagem direta de cada quadrado de 1mm² de área. Preferiu-se utilizar imagens digitais ao invés de estimar a área com a folha fresca sobre papel milimetrado para que as estimativas de áreas pudessem ser feitas calma e cuidadosamente.

Essas imagens foram importadas pelo software QUANT e processadas. Inicialmente, cada imagem original teve seu contraste modificado (melhorado), utilizando-se o procedimento "contraste raiz". Para algumas folhas o procedimento utilizado foi o filtro excluir brilho (Figura 1C). A seguir, em cada nova imagem obtida, utilizando-se o procedimento de seleção de área ("varinha mágica") selecionou-se a área completa de cada folha (incluindo a área injuriada) e obteve-se automaticamente a respectiva área. A área foliar selecionada teve suas cores alteradas para branco padrão (R = G = B = 255) e, usando o procedimento de intervalo de cores, todas as demais cores diferentes do branco foram alteradas para preto padrão (R = G = B = 0). A imagem resultante, com duas cores, foi arquivada (Figuras 1D e 2). Com esse procedimento, ao clicar sobre um pixel da imagem do botão, o software seleciona esse pixel e todos os pixels vizinhos contíguos cujas coordenadas RGB de cores estejam dentro de uma gama de valores, a qual é definida pela "tolerância" pré-estabelecida. Esse processamento da imagem é denominado segmentação por crescimento de área. Escolheu-se um valor de tolerância, no qual a seleção incluísse a folha completa.

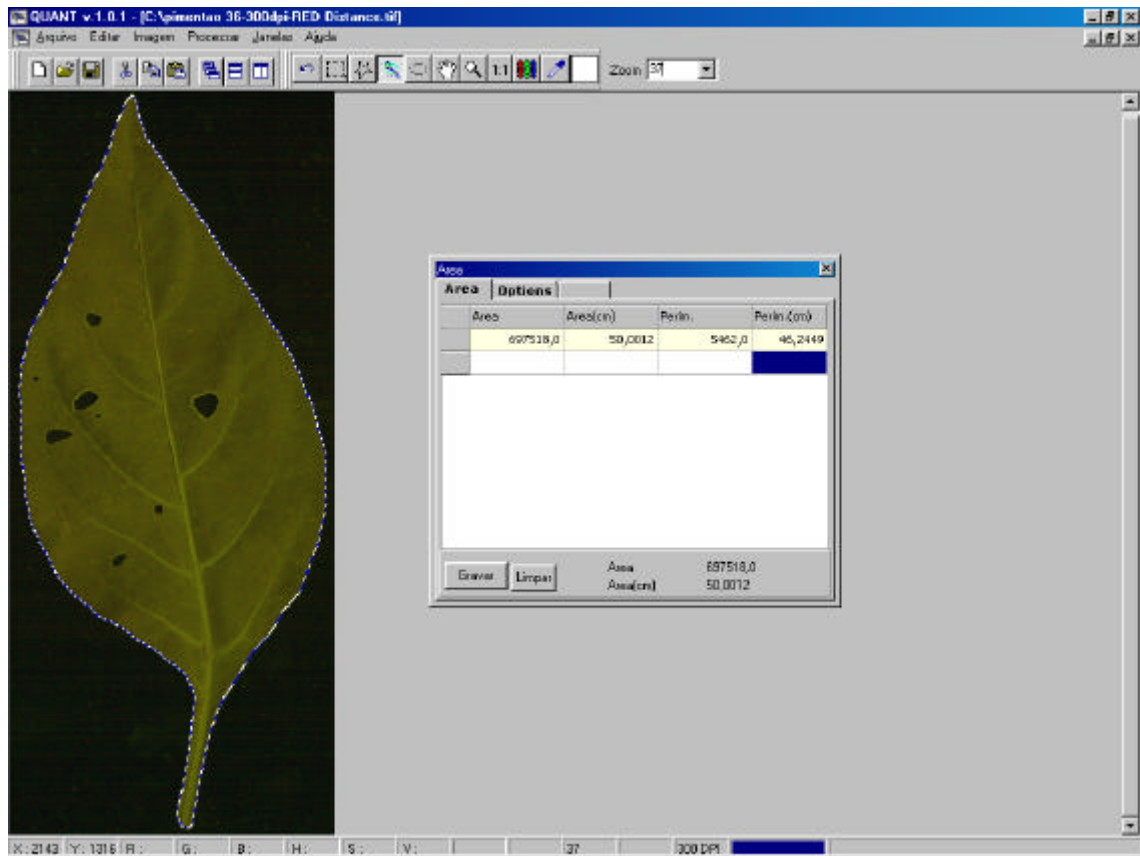


Figura 2. Tela do QUANT apresentando seleção da área foliar total com a "varinha mágica" e a estimativa da área na janela ao centro.

Utilizou-se valor de tolerância que permitisse a seleção adequada da área foliar total. Esse mesmo procedimento foi usado para estimar a área de cada lesão. Usando varinha de seleção, selecionou-se a área de cada injúria (Figura 3) e trocou sua cor para cinza. Usando o procedimento de intervalo de cores, trocou-se todas as demais cores para branco (Figuras 1E, 1F e 2). Estimaram-se as áreas ocupadas por ambas.

Para folhas com injúrias na borda (Figura 1G), foi preciso, antes da seleção de áreas, "construir uma ponte" unindo as bordas da folha. Utilizando-se o mouse, foram selecionadas duas fileiras de pixels onde se supunha ter sido a margem da folha, as quais teve sua cor alterada para uma semelhante às das folha (Figura 1H). Então, selecionaram-se a área foliar total e a área daquela injúria, com a "varinha mágica".

Para cada folha, estimaram-se a área foliar total, a área desfolhada (consumida) e a severidade da desfolha (percentagem da área foliar desfolhada) por esses diferentes métodos. A acurácia é o complemento do erro da estimativa, normalmente sendo expressa em percentagem. O erro é o valor estimado menos o valor real. A precisão relaciona-se à variação associada ao erro. Quanto menor a variabilidade do erro, maior a precisão. Como não há um método padrão para mensurar a área injuriada, selecionou-se, neste estudo, o método de contagem de quadrículas em papel milimetrado como o padrão. Para a variável área foliar todas, as mensurações realizadas com o medidor de área LI-3100 foram consideradas padrão.

Para verificar a acurácia e precisão das estimativas de áreas de um método, foi utilizada a análise de regressão linear simples (Campbell & Madden, 1990). Inicialmente utilizou-se o modelo completo: $Y = \beta_0 + \beta_1 X + \varepsilon$, onde Y são os valores de áreas dos botões estimadas pelo QUANT, X , os valores padrão, estimados com a equação do círculo, a partir do diâmetro mensurado com micrômetro e ε , o erro associado ao modelo. Quando β_0 não diferiu estatisticamente de zero ($P > 0,05$) e os dados obtidos demonstravam claramente que a reta estimada tendia a passar pela origem ($Y = X = 0$), efetuou-se nova análise de regressão linear simples, através da origem, segundo o modelo: $Y = \beta_1 X + \varepsilon$ (Neter et al., 1996). Utilizou-se o teste t para testar a hipótese $\beta_1 = 1$. Quando X são as mensurações realizadas com o método padrão, o valor estimado de β_1 é um indicativo de acurácia e o valor do coeficiente de determinação, r^2 , representa a precisão das mensurações do outro método considerado na análise. Isto permite que a acurácia seja representada por somente um parâmetro da equação da reta. Quando X não representa as mensurações do método padrão, o valor estimado de β_1 é um indicativo da concordância entre as mensurações. As análises de regressão linear foram feitas com o software "Statistica for Windows 5.5" (Statsoft, 2000).

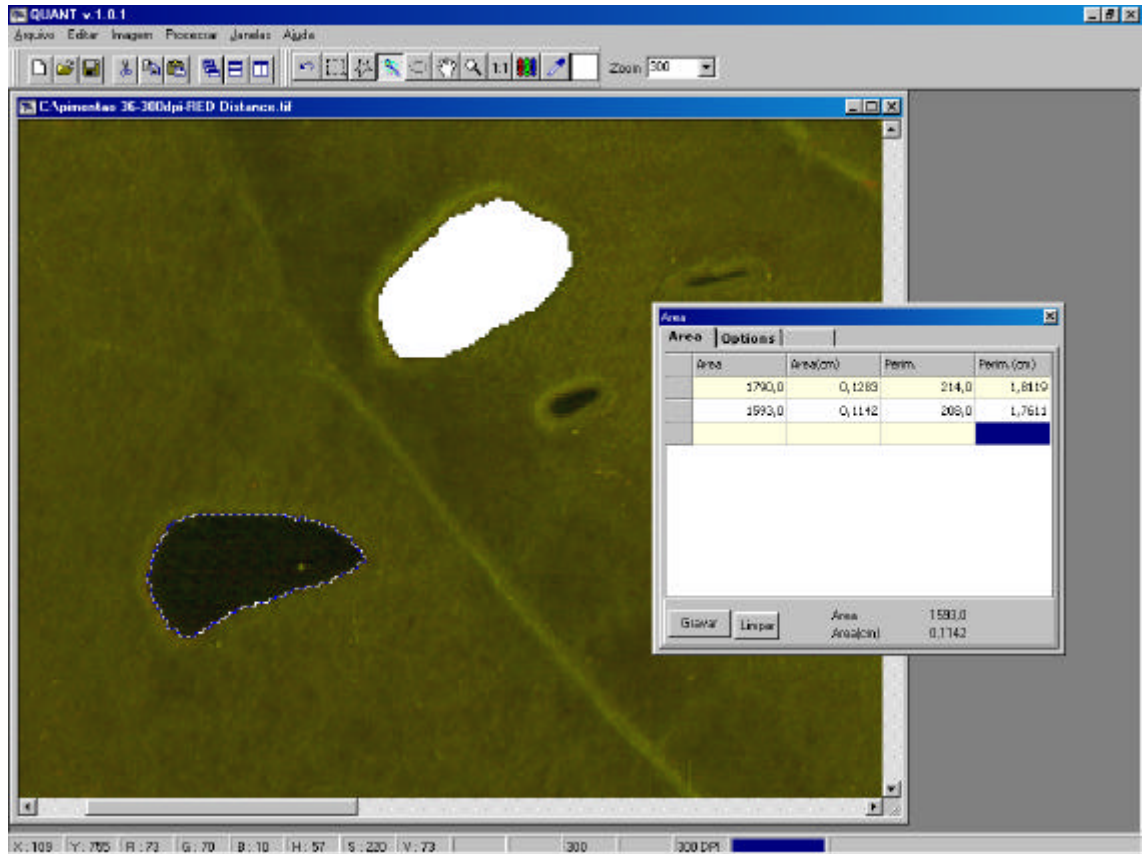


Figura 3. Tela do QUANT apresentando detalhe de uma folha de pimentão com seleção de uma área injuriada cujas cores foram alteradas para branco (acima) e de uma segunda injuria (abaixo) com a "varinha mágica" e a estimativa das respectivas áreas na janela ao centro.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A resolução da imagem não afetou as estimativas de área pelo QUANT. As estimativas de área foliar foram exatamente iguais para a imagem da mesma folha, digitalizada a 100 ou 300 dpi. Com relação a área desfolhada (consumida) a concordância entre as mensurações foi de 99,7%, como indicado pela estimativa do parâmetro r_1 da equação de regressão. Conseqüentemente, a concordância entre as mensurações da severidade de desfolha também foi 99,7% (Figuras 4A, 4C e 4E). Devido a isso, nas análises seguintes foram consideradas somente as estimativas de áreas de imagens com 100 dpi. O uso de imagens de menor resolução torna a digitalização e o processamento mais rápidos e demanda menos espaço para arquivar as imagens. O tamanho do arquivo de uma imagem a 100 dpi é 1/9 em relação à mesma imagem digitalizada a 300 dpi.

Quando comparadas entre si, as estimativas de área foliar com o uso do QUANT e com o medidor de área foliar, foram semelhantes, com concordância de 97,8% entre as mensurações dos dois métodos (Figura 4B). Mas com relação às estimativas de área desfolhada e severidade, a concordância foi apenas de 77,0 e 80,8%, respectivamente (Figuras 4D e 4F). Diante desses resultados, surge a questão: qual dos dois métodos é mais acurado na estimativa da área desfolhada e, conseqüentemente, da severidade?

Para esclarecer essa questão, dois avaliadores quantificaram a área desfolhada por meio de contagem de quadrículas em papel milimetrado. As mensurações dos dois avaliadores apresentaram 95,6% de concordância entre si (Figura 5), indicando a

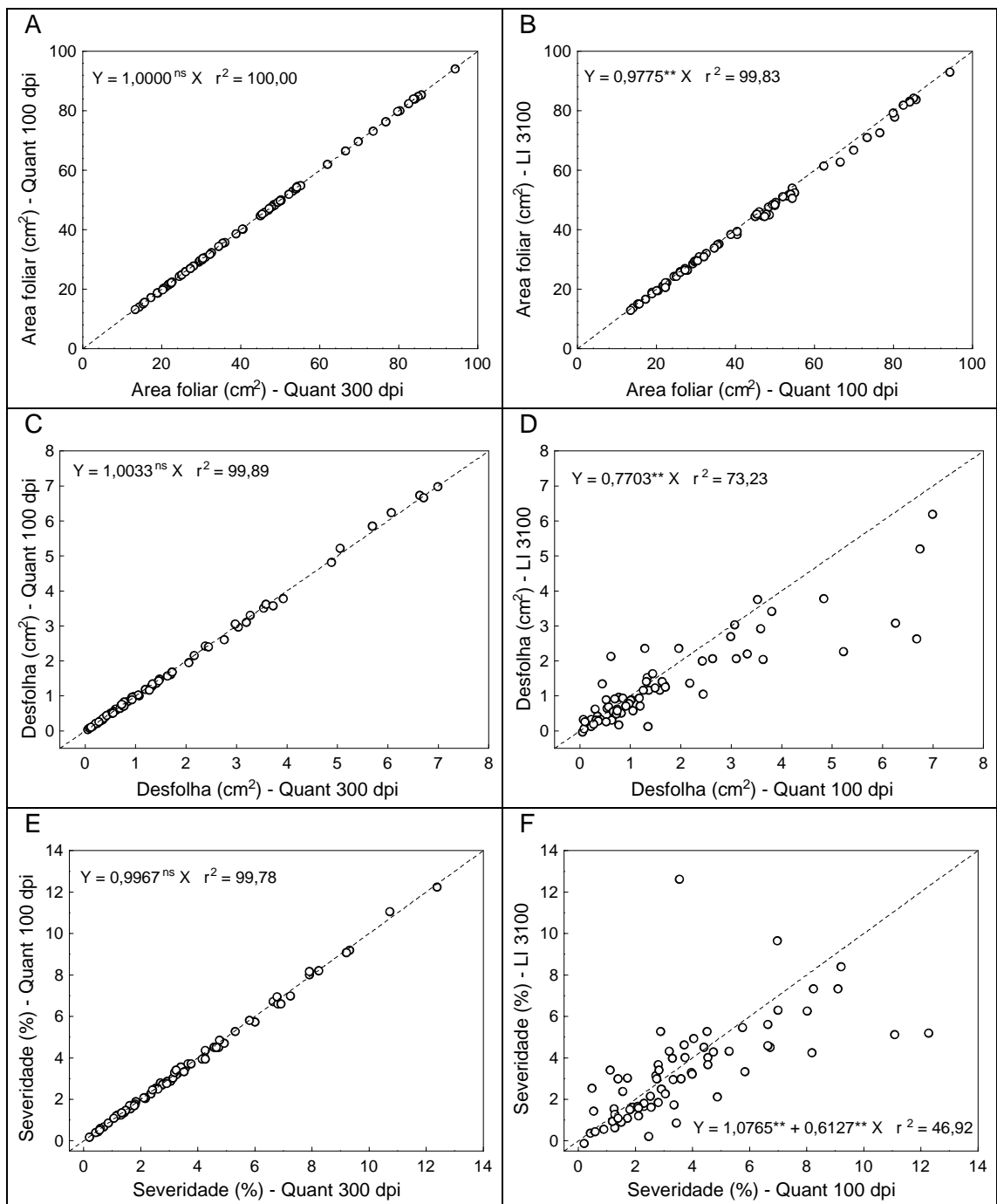


Figura 4. Comparação entre as estimativas de áreas foliar total e área desfolhada e severidade com o uso do QUANT, em imagens digitais com resolução de 100 (Quant 100 dpi) ou 300 dpi (Quant 300 dpi), e do medidor de área foliar Li-Cor Modelo LI-3100. Regressão através da origem. Linha pontilhada: $Y = X$, sendo Y a ordenada e X, a abscissa. Hipóteses testadas: $\beta_0 = 0$; $\beta_1 = 1$. ** $P < 0,01$; ^{ns} $P > 0,05$.

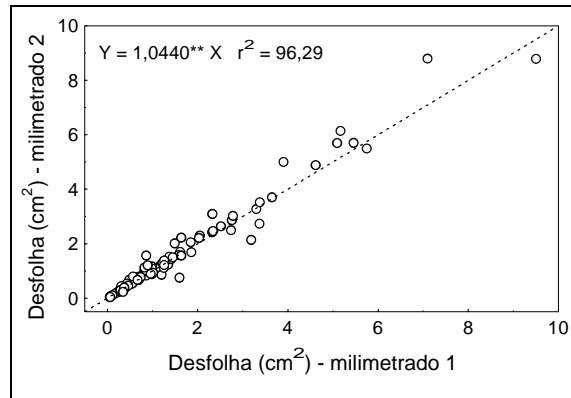


Figura 5. Comparação entre as estimativas de área desfolhada por meio de contagem de quadrículas em papel milimetrado entre dois avaliadores. Regressão através da origem. Linha pontilhada: $Y = X$, sendo Y a ordenada e X , a abscissa. Hipótese testada: $\beta_1 = 1$. ** $P < 0,01$.

reprodutibilidade deste método. Este método apresenta uma dificuldade própria: ocorre uma pequena área de sombra em parte da borda interna da injúria, o que dificulta a estimativa de área (Figura 1B), sendo que essa dificuldade aumenta com a diminuição da área da injúria. Outro problema é que as quadrículas (1 mm^2) do papel milimetrado da borda da injúria não se apresentam por inteiro, sendo necessário estimar sua área visível.

Devido aos resultados obtidos no capítulo anterior, onde o medidor de área foliar apresentou acurácia de 87% ao mensurar as áreas de orifícios em diagramas de papel, o método do papel milimetrado foi considerado o método padrão para estimativa de desfolha, neste estudo. Suas mensurações foram comparadas com as estimativas feitas com o QUANT e com o medidor de área foliar. Baseando-se no valor estimado de β_1 da equação de regressão linear, que é um indicativo de acurácia, e no valor do coeficiente de determinação, r^2 , que representa a precisão, constatou-se que o QUANT apresentou maior acurácia (89,0 a 93,1%) e precisão (97,0%) (Figuras 6A e 6B) que o medidor de área foliar (Figuras 6C e 6D). No capítulo 2, constatou-se que a acurácia do medidor de área diminui com a diminuição do tamanho da área a ser estimada, sendo menor que a do QUANT. E na amostra de folhas de pimentão, havia muitas injúrias pequenas (Figuras 1A, 2 e 3). Segundo o fabricante, com a resolução de 1 mm^2 , o medidor de área LI-3100 pode apresentar erro de 2, 5 e 7% ao mensurar

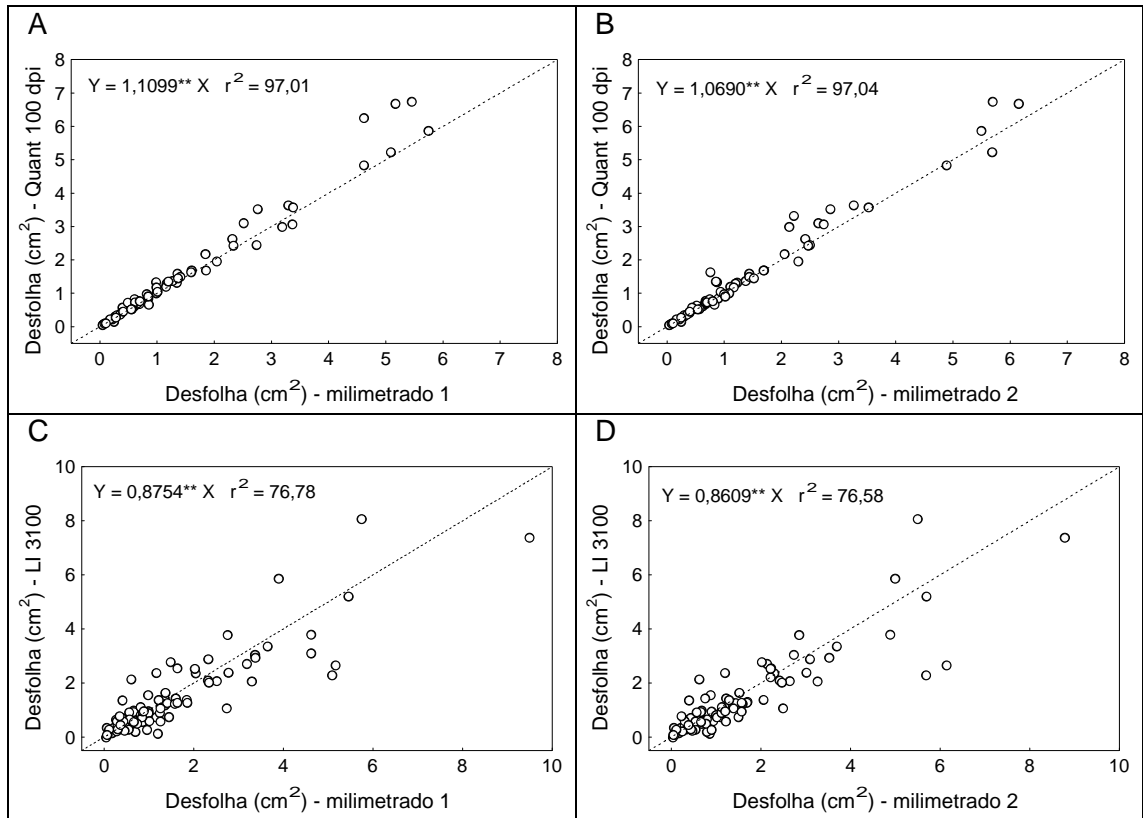


Figura 6. Comparação entre as estimativas de área desfolhada por meio de contagem de quadrículas em papel milimetrado por dois avaliadores e com o uso do QUANT em imagens digitais com resolução de 100 dpi (Quant 100 dpi) (A, B) ou do medidor de área foliar Li-Cor Modelo LI-3100 (C, D). Regressão através da origem. Linha pontilhada: $Y = X$, sendo Y a ordenada e X, a abscissa. Hipótese testada $\beta_1 = 1$. ** $P < 0,01$.

objetos de 5, 1 e 0,5 cm², respectivamente (Li-Cor, 1996). No presente estudo, ocorre um fato que contribui para a diminuição da acurácia do medidor de área. Enquanto o QUANT processa imagens de folhas digitalizadas entre lâminas de vidro, ou seja, imagens de folhas planas, isso não é possível no medidor de área foliar, onde as folhas são transportadas soltas sobre correia de plástico transparente. Pequenas dobras na folha ou alteração na posição podem afetar as estimativas de área.

Algumas poucas folhas da amostra apresentavam bordas muito injuriadas, sendo difícil determinar onde era o limite da margem original da folha (Figura 7). Isto diminui a acurácia das estimativas por quaisquer dos métodos utilizados. Para exemplificar, a eliminação de três folhas deste tipo, cujas estimativas na comparação do QUANT com o método do papel milimetrado (avaliador 1) cujas estimativas da área injuriada apresentaram maior erro (Figura 6A), proporcionou aumento da acurácia de 89 para 96% (Figura 8).

Diante desses resultados, o QUANT pode ser adotado como método padrão para mensurar área foliar e área foliar injuriada (consumida) por insetos. O QUANT apresenta vantagens adicionais, quais sejam poder avaliar simultaneamente a severidade de injúrias causadas por diferentes insetos e também a severidade de doenças foliares; e permitir identificar as folhas que não apresentavam o limbo plano durante o processo de digitalização de sua imagem.

Comparando as estimativas visuais de severidade por seis avaliadores com as estimativas do QUANT, considerado doravante o método padrão, todos os avaliadores superestimaram a severidade (Figura 9). Apenas o avaliador número quatro apresentou alta acurácia (92%). A precisão dos avaliadores variou de 22,3 a 92,1% (Figura 9). Embora esse método seja rápido, ele é inadequado para estimativa de áreas injuriadas, devido a sua baixa precisão e acurácia.

Furlan et al. (1999) estimou área foliar total e consumida por herbívoros a partir de imagens obtidas com uma câmera de vídeo e um software para análise de área foliar. Alchanatis et al. (2000) avaliaram desfolha causada por larvas de inseto in vitro com imagens digitais, em tempo real, utilizando uma câmera com CCD monocromático, adaptada a computador pelo processo de limiarização das imagens. Porém os autores desses dois estudos não apresentaram informações sobre a acurácia do método utilizado.

WILCKEN et al. (1998) mensuraram a área foliar consumida por insetos com o uso de imagens digitalizadas em código binário (preto e branco) a 400 dpi em um digitalizador de imagens portátil. A imagem foi analisada pelo software PCXAREA (Lier et al., 1993). Compararam a acurácia deste método na estimativa de áreas de folíolos



Figura 7. Folhas de pimentão (300 dpi) com intensa injúria nas bordas (A,B, C).
Imagem C com área das injurias selecionadas (D).

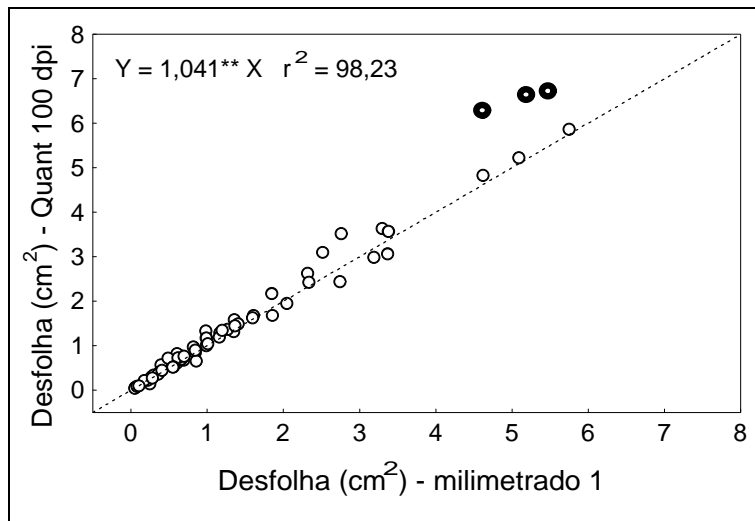


Figura 8. Comparação entre as estimativas de área desfolhada por meio de contagem de quadrículas em papel milimetrado pelo avaliador 1 (milimetrado 1) e com o uso do QUANT em imagens digitais com resolução de 100 dpi (Quant 100 dpi). Os três pontos pretos não foram considerados nesta análise e correspondem a três folhas com alta intensidade de injúria nas bordas (Figura 7). Regressão através da origem. Linha pontilhada: $Y = X$, sendo Y a ordenada e X, a abscissa. Hipótese testada $\beta_1 = 1$. ** $P < 0,01$ (compare com Figura 6A).

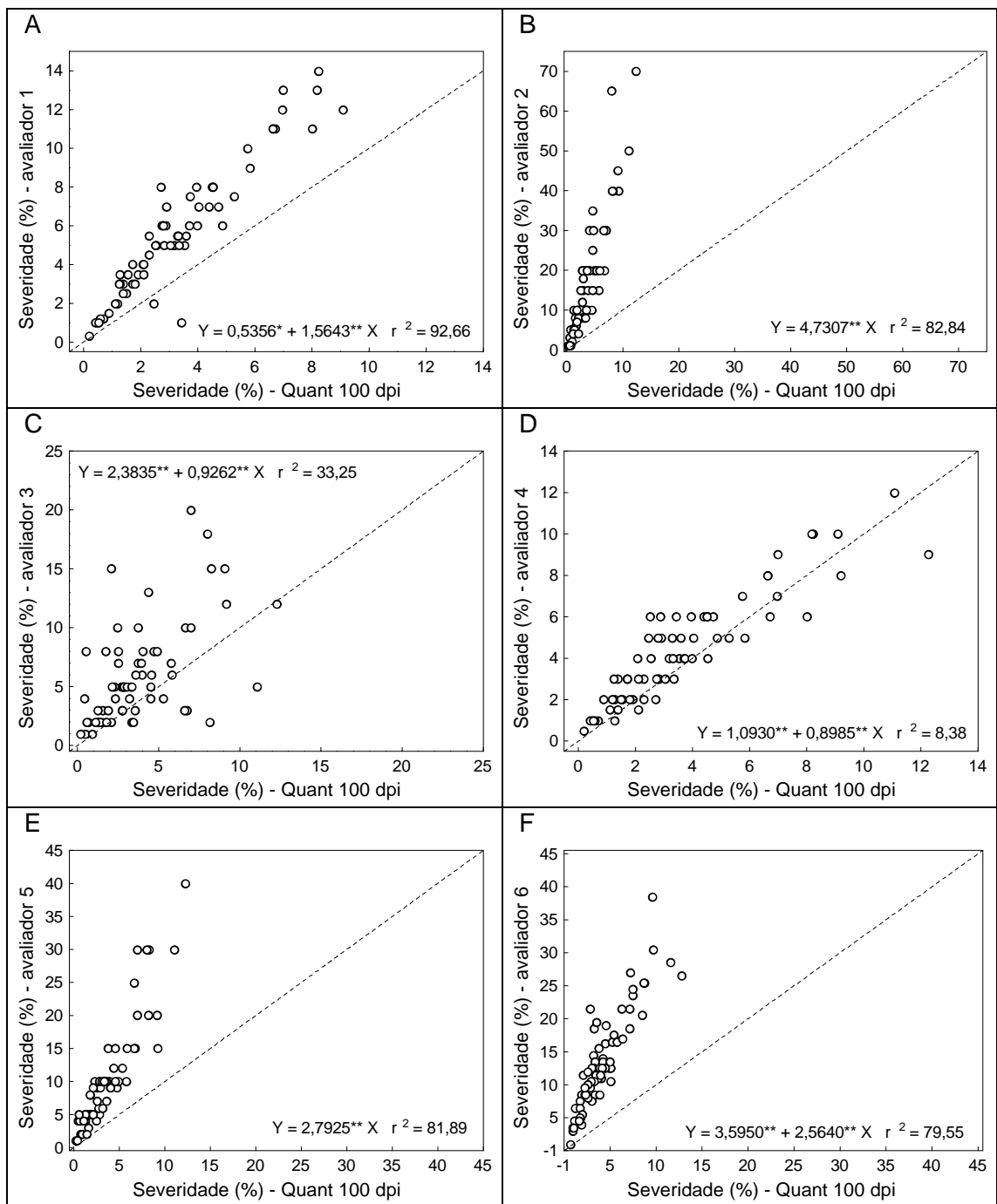


Figura 9. Comparação entre as estimativas visuais de severidade de desfolha de seis avaliadores e com o uso do QUANT em imagens digitais com resolução de 100 dpi (Quant 100 dpi). Linha pontilhada: $Y = X$, sendo Y a ordenada e X, a abscissa. Hipóteses testadas: $\beta_0 = 0$; $\beta_1 = 1$. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

e discos de folhas de soja, de 18 a 27 cm² com dois outros métodos: a) desenho do folíolo de soja em papel sulfite antes e depois de serem oferecidos às lagartas e posterior medição da área com uso de planímetro. O método de imagens digitais, em comparação com o planímetro apresentou 96,9% de acurácia média e c.v. de 18,7 a 23,4%; b) desenho dos discos de soja em papel sulfite antes e depois de serem oferecidas às lagartas, recortando-os e pesando-os em balança de precisão e estimando as áreas a partir dos pesos. O método de imagens digitais, em comparação com o método da pesagem apresentou 95,4% de acurácia média e c.v. de 9%. A redução no tempo de avaliação foi de mais de 87%, usando o método das imagens digitais em relação aos outros dois.

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que as estimativas visuais de severidade apresentam baixa acurácia e precisão. Não sendo um método recomendável para avaliar desfolha. O método de contagem da área injuriada com o uso de papel milimetrado tem duas limitações: baixa resolução, pois o tamanho de sua menor quadrícula é 1 mm²; e está sujeito a subjetividade do avaliador ao mensurar as quadrículas na borda da injúria. O medidor de área foliar LI-3100 tem a limitação de aumento do erro com a diminuição da área a ser mensurada. Além disso, é necessário fazer duas mensurações: uma da área foliar intacta e a outra da área foliar total. Para tanto, é necessário colocar fita adesiva opaca sobre cada orifício (injúria) da folha. A área desfolhada é obtida pela subtração das duas mensurações. Assim, um erro em uma das mensurações influencia duas variáveis. Assim, é recomendável que se façam três leituras de cada variável, para cada folha, no LI-3100. Portanto, as mensurações demandam tempo e devem ser realizadas em um curto espaço de tempo após a coleta das folhas, pois sua desidratação pode afetar os resultados. Posteriormente, não há como conferir (refazer) alguma mensuração. Diante dos resultados obtidos, o QUANT pode ser adotado como método padrão para mensurar área foliar e área foliar injuriada (consumida) por insetos.

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO DA INTENSIDADE DE MANCHA DE CERCOSPORA EM FOLHAS DE CAFEIEIRO COM O USO DO SOFTWARE QUANT

RESUMO

Foram avaliadas a acurácia e a precisão de diferentes procedimentos do software QUANT na mensuração da área foliar total, da área lesionada e da severidade da mancha parda (*Cercospora coffeicola*) em 58 folhas de cafeeiro (*Coffea arabica*), usando imagens digitais, com resolução de 150 dpi. A severidade foi estimada visualmente por cinco avaliadores. A área lesionada foi mensurada com o medidor de área Li-cor[®] modelo LI-3100 e por meio de contagem direta observando-se as imagens digitais obtidas com papel milimetrado como fundo. Para tanto, as lesões foram previamente retiradas da folha com o auxílio de um bisturi. As estimativas de áreas com o procedimento de seleção de áreas com a varinha mágica foi arbitrariamente considerado o padrão do QUANT. Essas estimativas de área foliar apresentaram 99,3% de concordância com as do LI-3100. Nas estimativas das áreas lesionadas, quando comparados com o método do papel milimetrado, o QUANT apresentou acurácia de 97,9% e o LI 3100, de 83,7%. Imagens com contraste previamente alterado, segundo três protocolos, tiveram as áreas foliares estimadas por meio de três procedimentos do QUANT, que quando comparados com o procedimento padrão, apresentaram acurácia de 98,6 a 100% e precisão de 99,99%. Com relação à

área lesionada, os procedimentos de limiar preto e branco, função discriminante e redução para 32 cores, apresentaram alta acurácia (96,6 a 99,6%) e precisão ($\geq 99,3\%$). Nas estimativas de severidade o procedimento de redução para 32 cores apresentou acurácia superior a 99%, enquanto as funções discriminantes e o intervalo de coordenadas de cores apresentaram acurácia inferior. As estimativas de severidade do QUANT (padrão) não apresentaram boa concordância com as do medidor de área foliar LI-3100. Dos cinco avaliadores que estimaram visualmente a severidade de doença, somente um apresentou acurácia (97%) e precisão (94%) elevadas. Quatro usuários do QUANT estimaram área foliar em 16 folhas, usando o procedimento de seleção de área com a varinha mágica, obtendo acurácia superior a 99%. Três usuários estimaram área lesionada usando este procedimento, e também o procedimento de limiarização, obtendo acurácia entre 96 e 98%. O QUANT disponibiliza vários algoritmos para melhorar o contraste da imagem, Com isso, mesmo os sintomas de doenças onde o sistema visual humano tem dificuldade de distinguir entre área foliar sadia e doente, podem ser quantificados com o uso do QUANT. Propõe-se que o QUANT seja adotado como padrão na mensuração de severidade de doenças de plantas.

Palavras-chaves: análise de imagens, fitopatometria.

ABSTRACT

It was evaluated the accuracy and precision of the different procedures of the software QUANT in the mensuration of the foliar area, diseased area and severity of *Cercospora* leaf spot (*Cercospora coffeicola*) in 58 leaves of coffee (*Coffea arabica*), using digital images at dpi. The severity was visually estimated by five evaluators. The diseased area was estimated with the meter of area Li-cor model LI-3100 and through direct counting being observed the digital images obtained with graph paper squared 1 mm as bottom. The lesions were previously removed of the leaf. The estimates of areas with the procedure selection of areas with the magic rod were arbitrarily considered the standard of QUANT. These estimates of foliar area showed 99.3% of agreement with the ones of the LI-3100. In the estimates of the diseased areas, when compared with the method of the graph paper squared 1 mm, QUANT showed accuracy of 97.9% and the LI-3100, 83.7%. Images with contrast previously challenged, according to three protocols, had the foliar areas estimated by three

procedures of QUANT, that when compared with the standard procedure, they presented accuracy from 98.6 to 100% and precision of 99,99%. The procedures of threshold, discriminant functions and reduction for 32 colours showed high accuracy (96.6 to 99.6%) and precision (99.3%) on the estimations of diseased area. Estimating severity, the procedure reduction for 32 colours showed higher accuracy (99%) than discriminant functions and the interval of colour coordinates. The standard estimates of severity by QUANT didn't show good agreement with the ones of the LI-3100. Among five visual evaluators, only one showed high accuracy (97%) and precision (94%). Four users of QUANT estimated foliar area in 16 leaves, using the procedure of area selection with the magic rod, obtaining accuracy > 99%. Three users estimated diseased area using this procedure, and also the threshold, obtaining accuracy between 96 and 98%. QUANT makes available several algorithms to improve the contrast of the image, which allow that, even the symptoms where the eye human system has difficulty of distinguishing among healthy and diseased foliar area, they can be quantified by QUANT. It is proposed that QUANT should be adopted as standard (golden method) in the mensuration of severity of plant diseases.

Key words: image analysis, phytopathometry.

INTRODUÇÃO

A fitopatometria (Large, 1966) é a estimacão da intensidade de doença presente em um determinado tempo em uma populao de plantas, sendo indispensável a diversos estudos fitopatológicos. A intensidade de doença pode ser mensurada como incidência, que é a percentagem de plantas doentes, ou de suas partes na populao; ou como severidade, que é a percentagem da área ou do volume do tecido vegetal coberta com sintomas. A incidência é usada para doenças que afetem toda a planta, como o caso das viroses sistmicas e das murchas vasculares, ou para aquelas em que uma única lesão impede a comercializao do produto, como a podridão dos frutos. A severidade é mais apropriada para medir doenças foliares (Bergamin Filho & Amorim, 1996).

Para tornar a estimativa de severidade rápida e prática, duas estratégias têm sido tradicionalmente utilizadas: as chaves descritivas, que são escalas de notas arbitrárias, e as escalas diagramáticas, que são representaoes ilustradas de uma série de plantas ou de seus órgãos, principalmente folhas, com diferentes níveis de severidade, que auxiliam o avaliador a estimar visualmente a severidade da doença (Campbell & Madden, 1990; Amorim, 1995). Contudo, reduzidas acurácia e precisão na estimacão visual da severidade de doenças, mesmo por avaliadores experientes, têm sido relatadas por Smith et al. (1969), Sherwood et al. (1983), Lindow & Webb (1983), Forbes & Jeger (1986), Shokes et al. (1987), Beresford & Royle (1991), Carmo et al. (1991), Weber & Jorg (1991), Parker et al. (1993, 1995), Giglioti & Canteri (1998), Martin & Rybicki (1998) e outros citados por Kranz (1988). Diante dessas constataoes, foram desenvolvidos alguns softwares para treinar avaliadores de

severidade de doenças, como o "Areagram" (Shane et al., 1985), o "Distrain" (Tomerlin & Howell, 1988), o "Disease.Pro" (Nutter & Worawitlikit, 1989), o "Estimate" (Weber & Jörg (1991), e o "Combro" (Giglioti & Canteri, 1998; Canteri & Giglioti, 1999). Embora o treinamento aumente a acurácia das avaliações, segundo Parker et al. (1993), há evidências que seus efeitos benéficos duram pouco tempo após o treinamento.

Para mensurar objetivamente a severidade de doenças foliares é necessário mensurar a área de cada folha e a área lesionada. Há diversos métodos para mensurar a área foliar: a) por meio de equações de regressão linear em função de variáveis como largura e comprimento da folha (Barros & Maestri, 1973; Alfonsi et al., 1974; Gomide et al., 1976; Garçon et al., 2001); b) por meio de pesagens de cópia xerográfica ou heliográfica da folha (Silveira, 1972); c) com o uso de medidores eletrônicos de área foliar (Blanco et al., 1991; Urchei et al., 2000; Aguiar Netto et al., 2000); d) uso do planímetro em fotografia comum da folha (Lindow & Webb, 1983); e) uso de imagens digitais (Leister et al., 1999); e f) uma combinação de imagens digitais com métodos analógicos (Martin & Rybicki, 1998), ou seja, colocando plástico ou papel transparente sobre a folha, realizando o desenho de suas bordas com uma caneta e, posteriormente quantificar a área foliar por meio da análise da imagem digitalizada do desenho. O realce das bordas também pode ser feito na fotografia comum da folha que posteriormente é digitalizada em um scanner, para análise.

Qual desses métodos é o mais adequado? A estimativa da área foliar por meio de equações de regressão, implica em um erro intrínseco associado ao modelo matemático. No segundo método, podem ocorrer erros durante a obtenção da cópia xerográfica, por ampliação ou redução, e na realização das pesagens, o que exige balança de alta resolução e papel com densidade homogênea. O planímetro tem baixa resolução e está sujeito a erros do operador. Além disso, alguns métodos implicam em destruição da amostra, tais como o método da cópia xerográfica e o do medidor eletrônico. O uso de equações lineares implica em manuseio da planta para mensurações de comprimento ou largura da folha. Quando forem mensuradas muitas folhas, haverá estresse em plantas herbáceas. Atualmente, a mensuração de área foliar, por meio do medidor eletrônico de área, provavelmente pode ser considerada o método padrão, devido a sua acurácia bem como à disponibilidade desses equipamentos em muitos laboratórios. Rossiello et al. (1995) obtiveram acurácia maior que 99,17% ao estimarem áreas previamente conhecidas de 242 a 1227 cm² com o medidor de área foliar Li-cor modelo LI 3000. Segundo o fabricante, com a resolução de 1 mm², o modelo LI 3100 pode apresentar erro de 1 e 2 % ao mensurar objetos planos de 10 e 5 cm², respectivamente (Li-cor, 1996).

A dimensão da lesão e sua expansão são consideradas importantes componentes epidemiológicos (Berger et al., 1997). A área das lesões têm sido mensurada por diversos métodos objetivos: a) com o uso de transparência milimetrada colocada sobre a folha lesionada (Fernandes, 1988); b) obtendo-se cópia xerográfica da folha e mensurando a área lesionada com o uso do planímetro ou por meio de pesagens (Sherwood et al., 1983); c) pela mensuração do comprimento (C) e largura (L) da lesão e usando a fórmula da elipse para obtenção da área (A): $A = C \times L / 4$. A mensuração tem sido feita com régua, paquímetro (Emge et al., 1975; Subbarao & Michailides, 1995) ou com ocular micrométrica (Shaner, 1983). Em alguns estudos, estima-se a área média de uma amostra de lesões e multiplica-se pelo número de lesões na folha (Beresford & Royle (1991); d) uso do planímetro em fotografia comum da folha (Lindow & Webb, 1983); e) a área da lesão desenhada em plástico transparente para depois se obter uma cópia em papel. As lesões foram então recortadas e medidas através de um medidor eletrônico de área foliar (Nogueirol et al., 2003); f) desenho das lesões em papel acetato colocado sobre fotografia comum da lesão. Os desenhos são digitalizados e usados para mensuração (Chungu et al., 1997); g) com o uso de imagens digitais, usando o planímetro virtual (ferramenta de seleção manual de áreas, comum em muitos softwares de processamento de imagens) para desenhar uma linha sobre a borda da lesão, com o mouse do computador (Tucker & Chakraborty, 1997, 2001; Oliveira et al., 2001; Pei et al., 2002); h) obtenção de duas imagens da mesma folha com câmera de vídeo digital com diferentes filtros (Sah & Fehrmann, 1992); i) utilizando o processo de limiarização de imagens digitais (Maruti et al., 2002; Berner & Paxson, 2003; Martin & Rybicki, 1998; Kampmann & Hansen, 1994); j) a lesão foi contornada com tinta de caneta na própria folha e, após a digitalização da imagem, utilizou-se a varinha mágica do software para selecionar e, automaticamente estimar, a área lesionada (Miller et al. 2003; Nogueirol et al., 2003). Em alguns estudos, este último método é usado para obtenção de estimativas de área consideradas padrão para comparação com as estimativas feitas por processo de limiarização de imagens digitais.

Quantificar a severidade de doenças com acurácia é uma tarefa difícil e que consome tempo. É impraticável contar e medir o tamanho de lesões individuais em grandes amostras. Alguns pesquisadores, com fins de elaboração de escalas, começaram a usar imagens digitais para mensurar a severidade em diagramas (Stonehouse, 1994; Falloon et al., 1995) ou em folhas doentes (Bacchi et al., 1992; Oliveira et al., 2001). Leister et al. (1999) avaliaram a área foliar de todas as folhas de *Arabidopsis thaliana* com o uso de imagens obtidas por câmera de vídeo acoplada a computador. Sistemas de análise de imagens digitais tem sido usado para quantificar

a intensidade de algumas doenças (Lindow, 1983; Lindow & Webb, 1983; Sah & Fehrmann, 1992; Kokko et al., 1993, 1995, 2000; Kampmann & Hansen, 1994; Todd, & Kommedahl, 1994; Hood & Shew, 1996; Chungu et al., 1997; Tucker & Chakraborty, 1997, 2001; Martin & Rybicki, 1998; Ahmad et al., 1999; Niemira et al., 1999; Biernacki & Bruton, 2001; Olmstead & Lang, 2001; Maruti et al., 2002; Pei et al., 2002; Berner & Paxson, 2003; Díaz-Lago et al., 2003; Miller et al., 2003).

O software Quant[®] está sendo desenvolvido desde 2000, para quantificar áreas em imagens digitais. Seu objetivo principal é quantificar severidade de doenças (Vale et al., 2001, 2003). Este estudo trata do desenvolvimento desse software e da avaliação de sua acurácia e precisão na estimativa de severidade de doenças e de injúrias causadas por inseto. O objetivo deste trabalho foi avaliar a acurácia e precisão do QUANT na determinação da severidade de doenças em folhas de plantas, utilizando como exemplo a mancha parda (*Cercospora coffeicola* Berk. & M.A. Curtis) do cafeeiro (*Coffea arabica* L.).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em 2003, no Laboratório de Epidemiologia e Controle da Universidade Federal de Viçosa, para avaliar a acurácia e precisão do software QUANT na estimativa de severidade de mancha parda causada pelo fungo *C. coffeicola* em folhas de cafeeiro, com o uso de imagens digitais.

Amostras de folhas: Coletaram-se 58 folhas de mudas de cafeeiro com mancha parda e que não apresentavam lesões de ferrugem (*Hemileia vastatrix* Berk. & Broome), nem injúrias por bicho mineiro (*Leucoptera coffeella*), nem áreas depreendidas naturalmente das lesões. Para evitar desidratação, logo após sua coleta, as folhas foram colocadas entre papel umedecido com água fresca e dentro de sacos de polietileno fechados, e transportadas dentro de caixa de isopor para o laboratório, onde foram colocadas em geladeira (Liberato et al., 1996). Logo a seguir, grupos de cinco a dez folhas foram retirados da geladeira e enxugados, com papel toalha, para manuseio. Após, as folhas foram recolocadas na geladeira, entre papel umedecido, dentro de sacos plásticos fechados. Esse cuidado foi adotado em todos os procedimentos de manuseio das folhas, que foram completados até o dia seguinte ao da coleta. Aparentemente, as folhas não apresentaram sintomas visíveis de desidratação, o que poderia afetar as estimativas de área.

Obtenção de imagens digitais: cada folha foi disposta entre duas lâminas de vidro liso transparente (2,11 mm de espessura), para que ficassem o mais planas possível, sobre um digitalizador de imagem tipo mesa (scanner) HP® modelo Scanjet 3C.

Imagens da face abaxial da folha foram obtidas e digitalizadas em arquivo do tipo matricial formato Windows Bitmap, não-comprimido, com resolução de 150 dpi (pixels por polegada). Foi utilizada uma caixa de isopor forrada de papel cartão de cor preto fosco, colocada em cima da área de aquisição de imagem do scanner, para que o fundo da imagem digitalizada fosse de cor preto, evitando assim a interferência de sombreamento nas bordas da folha. Utilizou-se um computador com processador Pentium III, 450 MHz, com 128 MB de memória RAM, com monitor Waitec® modelo MPSV-1720, 16", true color (32 bits), com configuração de tela de 1024 x 768 pixels. Neste estudo, o termo imagem refere-se à imagem digital.

Estimativas de área foliar sadia e lesionada por métodos tradicionais: Cada folha teve sua área estimada com o uso do medidor de área Li-cor® modelo LI-3100 na resolução de 1 mm². Foram feitas três leituras de área em cada folha. Neste estudo, o termo área foliar refere-se à soma da área do limbo foliar sadio com a área lesionada pela doença.

Sob lupa, as lesões de mancha parda foram retiradas das folhas, com o uso de um bisturi. Em seguida, foram obtidas duas imagens digitais de cada folha cortada, uma, segundo o mesmo processo das folhas intactas, e outra utilizando como "fundo" da imagem, uma folha de papel milimetrado (Figura 1). A área de cada folha cortada foi também estimada com o uso do medidor de área Li-cor, realizando-se três mensurações. Obteve-se a área lesionada de cada folha, por diferença entre as médias da área da folha intacta e da área da folha cortada.

As imagens das folhas intactas e das folhas cortadas foram comparadas. Descartaram-se 18 folhas cujos cortes das lesões não foram considerados adequados ou ocorreu dobras nas folhas durante a digitalização. A área lesionada de cada folha foi estimada observando-se imagens digitais, obtidas com papel milimetrado como fundo, por meio de contagem direta de cada quadrado de 1mm² de área (Figura 1C, 2). Preferiu-se utilizar imagens digitais ao invés de estimar a área com a folha fresca sobre papel milimetrado para as imagens arquivadas possibilitassem uma nova estimativa de área, caso necessário e para que as estimativas de áreas pudessem ser feitas calma e cuidadosamente.

A severidade da doença, percentagem da área foliar lesionada, foi estimada visualmente por cinco avaliadores, observando as imagens digitais de folhas individuais no monitor do computador.

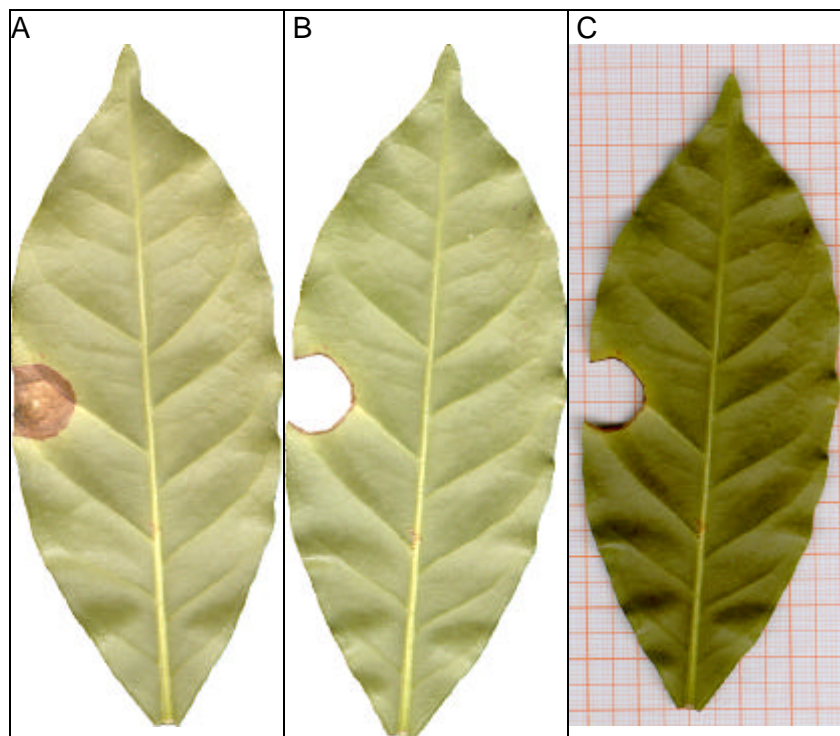


Figura 1. Folha de cafeeiro com mancha parda (A) e sem a lesão, retirada com um bisturi (B). Imagem (B) digitalizada com papel milimetrado como fundo (C).

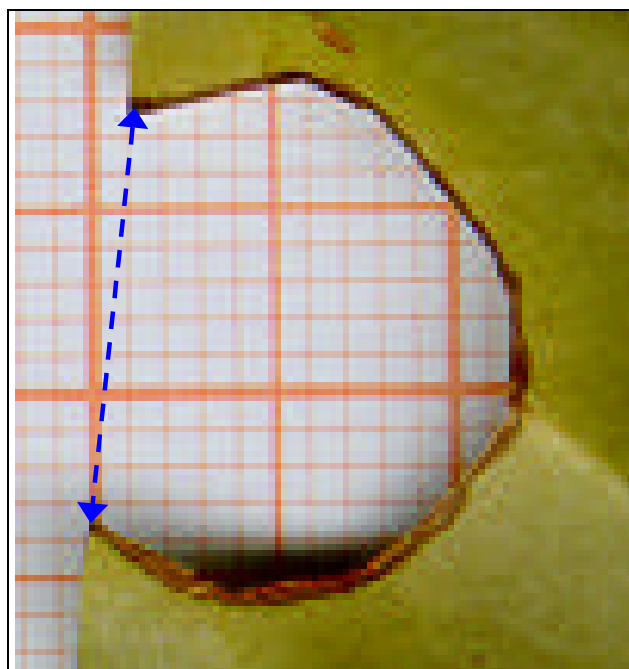


Figura 2. Detalhe da área da folha de cafeeiro (Figura 1C), de onde foi cortada a lesão de mancha parda. A área lesionada é estimada contando-se o número de quadrículas de 1mm^2 .

Melhoria do contraste das imagens originais: com o uso dos recursos do QUANT, tais como filtros, contrastes, negativo, canais de cores e operações matemáticas entre imagens, foram feitas diversas tentativas para melhorar o contraste entre área sadia e área lesionada e "fundo" das imagens, antes do processamento das imagens para estimativa de áreas. Alguns deles são apresentados na Figura 3 e Tabela 1.

Selecionaram-se três tipos de contrastes de imagem, apresentados nas figuras 3F, 3M e 3N, os quais foram denominados de protocolos p1, p2 e p3, respectivamente, e são descritos na Tabela 1 e representados nas Figuras 4 a 6. Os histogramas do brilho dessas imagens são apresentados na Figura 7. A observação dos histogramas indica que as melhores imagens para segmentação de áreas são as obtidas pelos protocolos p2 e p3.

Processamento das imagens digitais para estimativa de áreas com o QUANT: cada uma das 58 imagens originais foi processada pelo QUANT para originar três outras imagens de acordo com os protocolos p1, p2 e p3. A partir das imagens originais, das imagens p1, p2 e p3, e das imagens das folhas cortadas, totalizando 290 imagens, sendo cinco de cada folha, foram estimadas a área foliar e a área lesionada utilizando diferentes procedimentos de seleção de cor e de área do QUANT.

- **Imagens originais:** utilizando-se o procedimento de seleção de área ("varinha mágica") selecionou-se a área completa de cada folha (incluindo a área injuriada) e obteve-se automaticamente o valor (cm²) da respectiva área (Figura 8). Com esse procedimento, ao clicar sobre um pixel da imagem do botão, o software seleciona esse pixel e todos os pixels vizinhos contíguos cujas coordenadas RGB de cores estejam dentro de uma gama de valores, a qual é definida pela "tolerância" pré-estabelecida. Utilizaram-se valores de tolerância que permitissem a seleção adequada da área foliar total. Esses valores variaram de acordo com a folha. Esse procedimento foi realizado por dois avaliadores, sendo que as estimativas do segundo avaliador foram arbitrariamente consideradas como padrão do QUANT e utilizadas para comparar a acurácia dos demais procedimentos disponibilizados neste software.

- **Imagens de folhas cortadas:** O mesmo procedimento descrito acima foi usado para estimar a área de cada lesão. Usando varinha de seleção, selecionou-se a área onde anteriormente havia lesão da doença e que foi seccionada. Trocou-se sua cor para, por exemplo, azul (Figura 9). Usando o procedimento de intervalo de cores, trocaram-se todas as demais cores para, por exemplo, branco. Estimaram-se as áreas ocupadas por ambas.

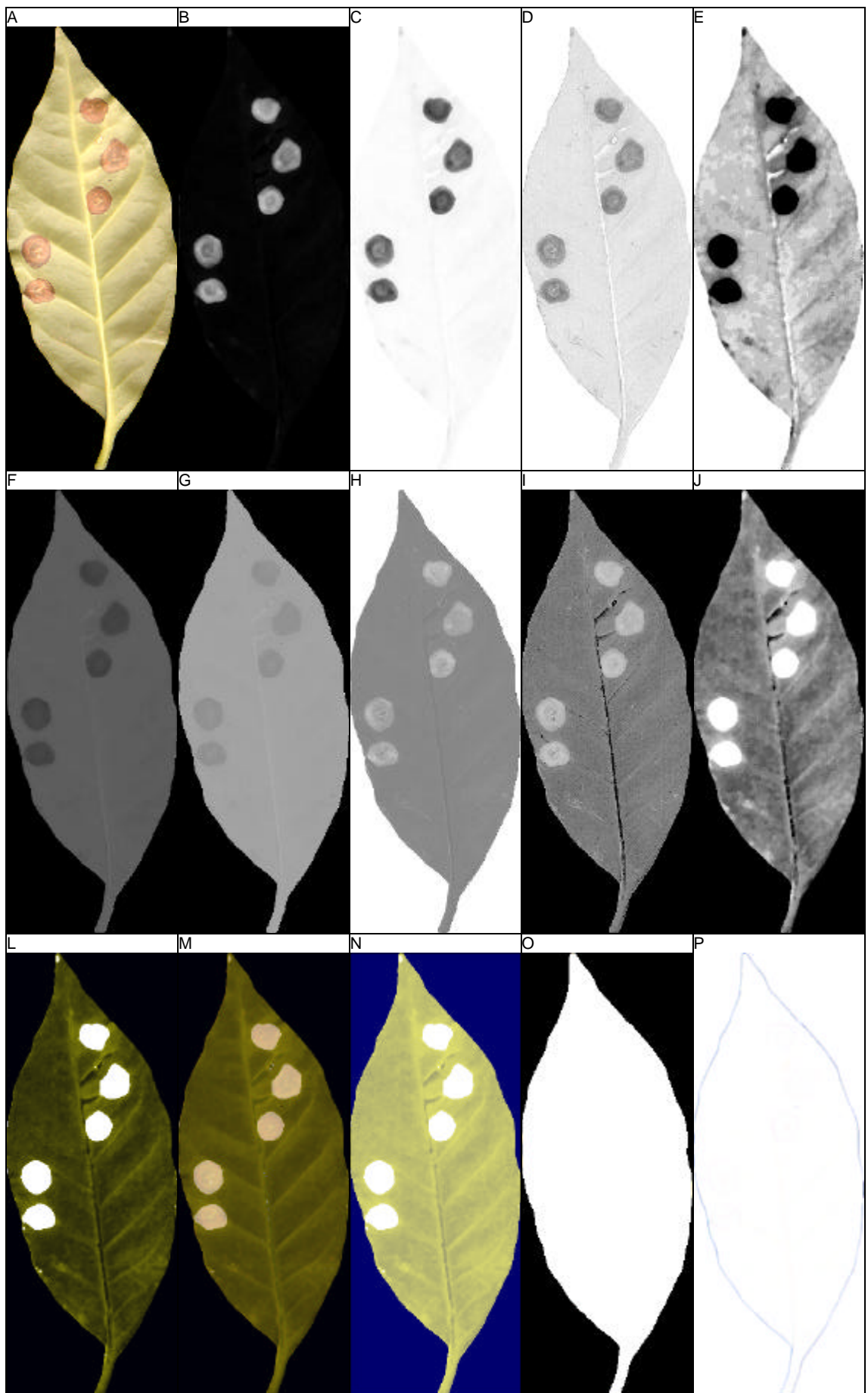


Figura 3. Imagem original (A) e derivadas com o uso do QUANT (B-P) (ver texto e Tabela 1)

TABELA 1 – Descrição da obtenção de algumas novas imagens com alteração do contraste com o uso do QUANT

Figura	Numero de cores ¹	Descrição das operações seqüenciais feitas na imagem original
3A	27.937	Original
3B	76	1. Canal magenta; 2. Negativo; 3-5. Contraste quadrado (3X)**; 6. Filtro mediana; 7. Negativo; 8-9. Contraste quadrado (2X).
3C	76	... 10. Canal black da imagem 3B.
3D	106	1. Canal magenta; Negativo; 3. Contraste quadrado.
3E	53	... 11-14. Contraste quadrado (2X) da imagem 3C.
3F (p1)*	102	1. Canal Hue; 2. contraste raiz; 3. filtro mediana.
3G	90	1. Negativo; 2. Canal Hue.
3H	129	1. Operações entre canais: G dividido por B.
3I	107	1. Canal magenta; 2. Contraste logaritmo.
3J	56	1. Canal magenta; 2. Negativo; 3-7. Contraste quadrado (5X); 8. Filtro mediana; 9. Negativo; 10-11. Contraste quadrado (2X)*
3L	225	Imagem I: 1. Negativo; 2. Canal ciano; 3. Filtro excluir brilho. Imagem II: 1. Canal magenta; 2. Negativo; 3-7. Contraste quadrado (5X); 8. Filtro mediana; 9. Canal black; 10-12. Contraste quadrado (3X); Imagem III: 1. Soma (com fator zero) das imagens I e II; 2. Filtro excluir brilho.
3M (p2)	2.636	Imagem I: 1. Filtro excluir brilho. Imagem II: 1. Canal magenta; 2. Negativo; 3-7. Contraste quadrado (5X); 8. Filtro mediana; 9. Canal black; 10-12. Contraste quadrado (3X); 13. Filtro excluir brilho. Imagem III: 1. Média (com fator zero) das imagens I e II.
3N (p3)	175	Imagem I: 1. Canal magenta; 2. Negativo; 3-7. Contraste quadrado (5X); 8. Filtro mediana; 9. Canal black; 10-12. Contraste quadrado (3X); Imagem II: 1. Negativo; 2. Canal ciano; 3. Filtro excluir brilho. Imagem III: 1. Soma (com fator zero) das imagens I e II; 2. Filtro excluir brilho. 3. Contraste logaritmo
3O	55	1. Filtro morfológico erosão red, com valor de limite = 80.
3P	2.070	1. Filtro variância; 2. Contraste quadrado; 3. Negativo.

¹ Sistema de cores RGB; * protocolo; ** número de repetições do procedimento.

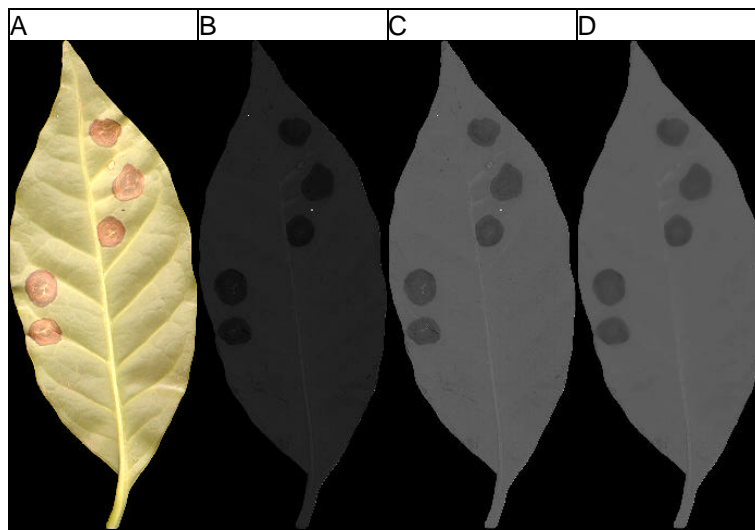


Figura 4. Operações seqüenciais para a obtenção das imagens do protocolo p-1. Imagem original (A); canal hue de A (B); contraste raiz de B (C). Filtro mediana de C (D).

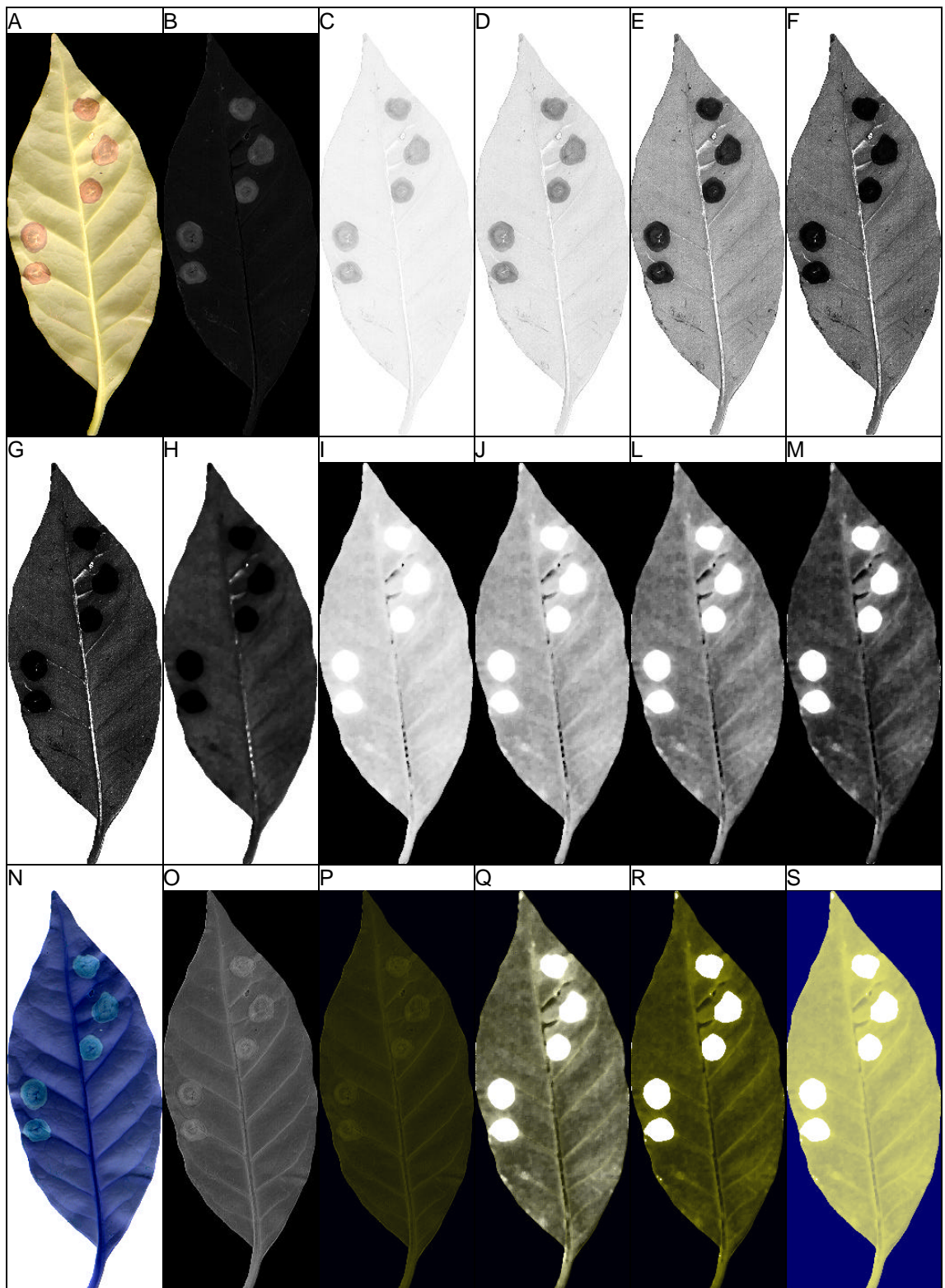


Figura 5. Operações seqüenciais para a obtenção das imagens do protocolo p-3. Imagem original (A), canal magenta (B), negativo (C), cinco repetições de contraste quadrado (D-G), filtro mediana (H), canal black (I), três repetições de contraste quadrado (J-M). Negativo de A (N), canal ciano (O), filtro excluir brilho (P). Soma de M e P (Q), filtro excluir brilho (R), contraste logaritmo (S) (vide tabela 1).

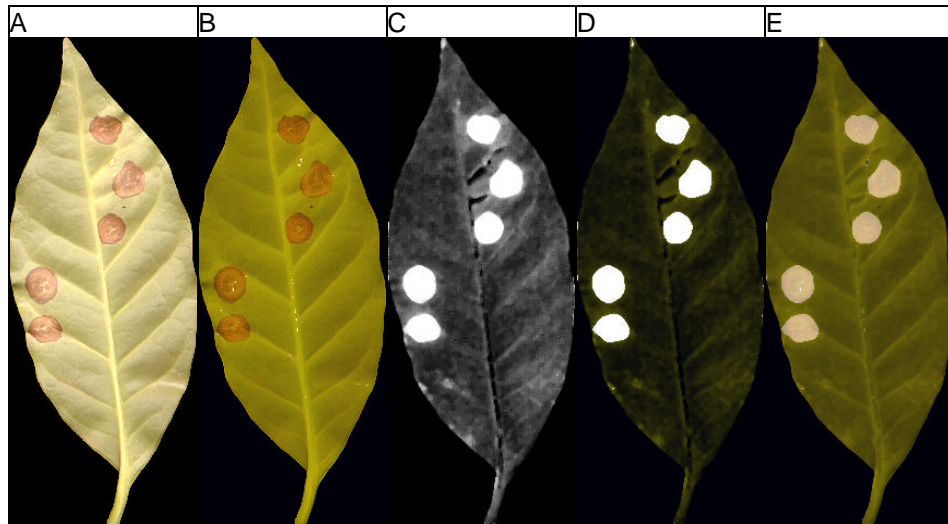


Figura 6. Resumo das operações seqüenciais para a obtenção das imagens do protocolo p-2. Imagem original (A), filtro excluir brilho (B). Figura 5M do protocolo 23 (C), filtro excluir brilho de C (D). Média de B e D (E) (vide tabela 1).

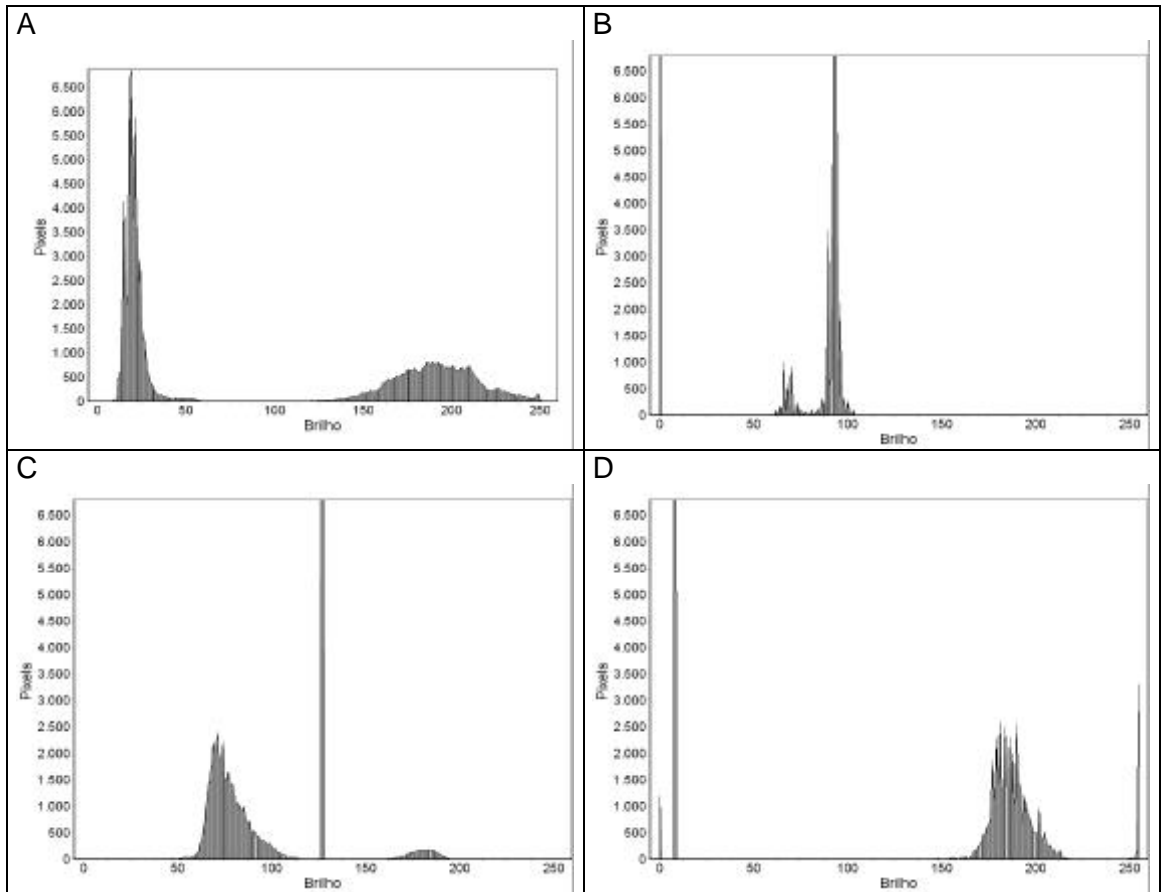


Figura 7. Histograma do brilho de uma imagem original (Figura 3A) (A) e da mesma imagem com melhoria de contraste segundo o protocolo p1 (Figura 4) (B), p2 (Figura 6) (C) e p3 (Figura 5) (D).

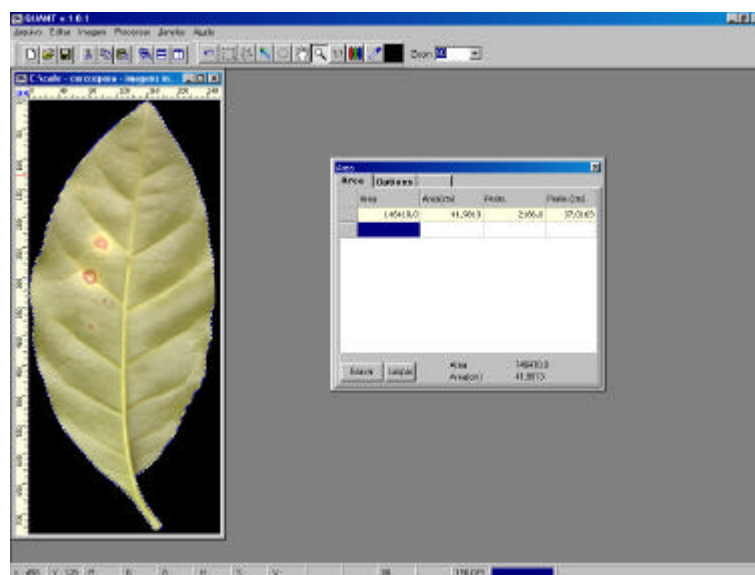


Figura 8. Tela do QUANT apresentando seleção da área foliar com a "varinha mágica" e a estimativa da área na janela ao centro.

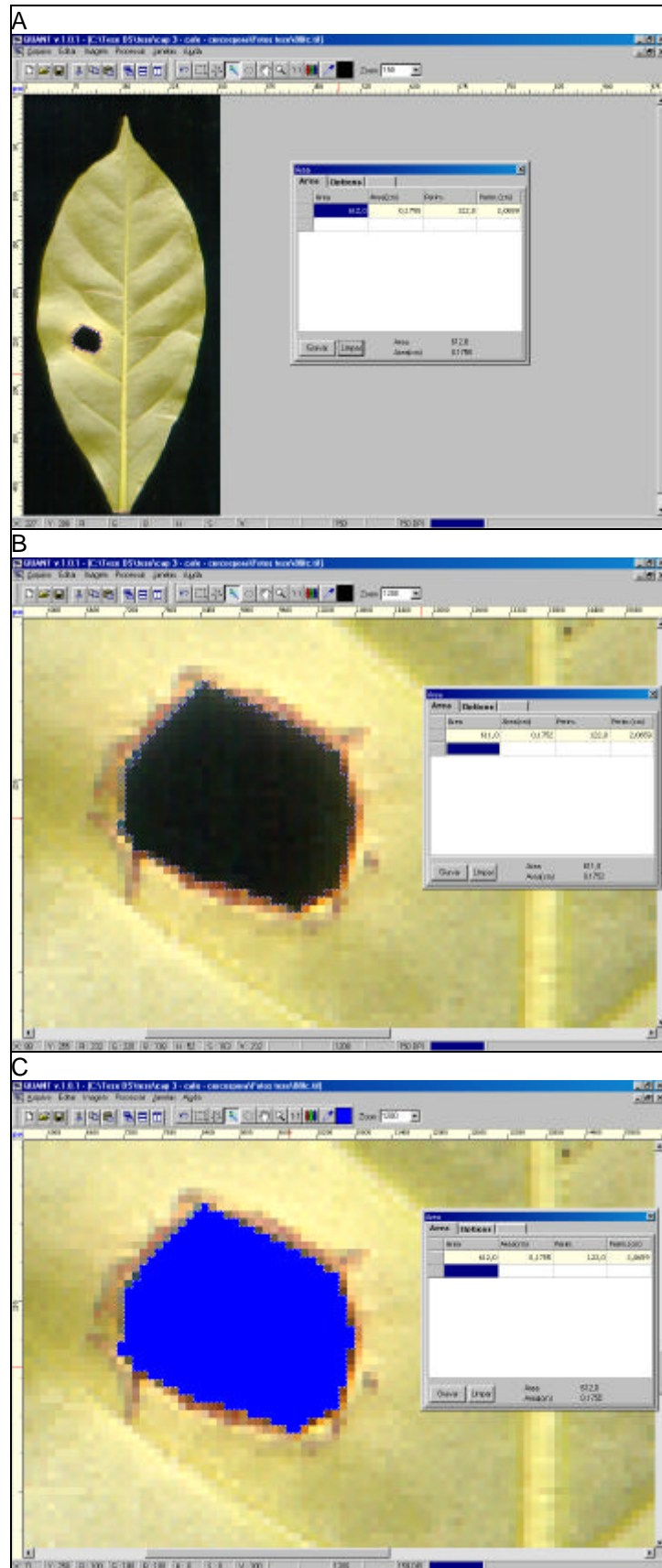


Figura 9. Tela do QUANT apresentando uma folha de cafeeiro com área da lesão seccionada e selecionada com a "varinha mágica" e a estimativa da área na janela ao centro (A). Detalhe da área selecionada (B), cuja cor foi alterada para azul (C).

No caso das folhas com lesões na borda (Figura 1B), foi necessário, antes da seleção de cores, "construir uma ponte" unindo as bordas da folha. Utilizando-se o mouse, foram selecionadas duas fileiras de pixels onde se supunha ter sido a margem da folha, as quais teve sua cor alterada para uma cor próxima a uma das cores da folha (Figura 10). Isso permitiu selecionar a área seccionada daquela lesão, com a "varinha mágica" de seleção. Quando a área seccionada da borda da folha era extensa, a área daquela lesão foi estimada na imagem original. Essas estimativas de área lesionada foram consideradas as estimativas padrão do QUANT e utilizadas para comparar a acurácia dos demais procedimentos deste software.

- Imagens do protocolo p1: utilizou-se a seleção de cores e estimativa das áreas por meio de funções discriminantes. Selecionaram-se dez imagens e de cada uma, foram obtidas três amostras, uma da área foliar sadia, uma da área lesionada e outra do fundo da imagem. De cada amostra com cerca de 500 pixels foram obtidas as coordenadas de cores RGB e HSV de cada pixel. Obteve-se então um arquivo com seis coordenadas de cores de cerca de 15 mil pixels. Com o uso do software "Statistica for Windows 5.5" (Statsoft, 2000) foram estimadas três funções discriminantes, uma para área foliar sadia, uma para área lesionada e outra para o fundo da imagem (Figura 11A, 11B e 11C).

- Imagens do protocolo p2:

a) procedimento "limiar preto e branco" (*threshold*): A imagem foi reduzida a duas cores, preto e branco. Utilizou-se valor limiar de 135, de modo que as lesões apresentaram-se brancas e o resto da imagem, preto.

Para cada pixel P_{ij} da imagem P , calcula-se um valor T_{ij} :

$$T_{ij} = (0,2 \times R_{ij} + 0,7 \times G_{ij} + 0,1 \times B_{ij}), \text{ sendo } 0 \leq T_{ij} \leq 255.$$

Na imagem resultante Q , o valor das coordenadas de cores para cada pixel Q_{ij} será:

se $T_{ij}(P_{ij}) \geq 135$, então Q_{ij} será um vetor $R^*_{ij} = G^*_{ij} = B^*_{ij} = 255$ (branco absoluto).

se $T_{ij}(P_{ij}) < 135$, então Q_{ij} será um vetor (1×3) onde $R^*_{ij} = G^*_{ij} = B^*_{ij} = 0$ (preto absoluto).

A imagem Q terá duas cores e o QUANT fornecerá a área ocupada por cada uma, sendo a área com a cor branca, a área lesionada. Neste procedimento, não foi estimada a área foliar (Figura 11D, 11E e 11F).

b) procedimento "redução do número de cores": os milhares de cores das imagens tipo p2 foram reduzidos a 32 cores, as quais são representadas em paletas em uma janela ao lado da imagem principal. Selecionando-se as paletas com as cores da área lesionada, alterou-se todas essas cores para uma única. Repetiu-se o

procedimento para área sadia e fundo da imagem. A imagem resultante apresentou três cores apenas e o QUANT forneceu os valores de áreas preenchidas com cada uma das três cores (Figura 11G, 11H e 11I).

- Imagens do protocolo p3:

a) procedimento "redução do número de cores": conforme citado para as imagens do protocolo p2 (Figura 12A, 12B e 12C).

b) procedimento "limiar preto e branco" (*threshold*): conforme citado para as imagens do protocolo p2, porém o valor limiar foi 255 (Figura 12C, 12D e 12E).

c) procedimento "seleção por intervalo de coordenadas de cores": Foram feitas as alterações de cor na seguinte ordem:

Para os pixels com RGB = [255, 255, 255], alterou-se para cor azul (RGB = [0, 0, 255]) (lesão);

Para os pixels com RGB = [0, 0, 110], então se alterou a cor para azul claro (RGB = [0, 255, 255]) (fundo);

Para os pixels com $0 \leq B \leq 254$, alteraram-se essas cores para cinza claro (RGB = [200, 200, 200]).

Como alguns poucos pixels não preenchiam nenhuma das três condições acima, suas cores não foram alteradas. Assim, utilizou-se, a seguir o procedimento redução para três cores (Figura 12G, 12H e 12I).

- Análises estatísticas: estimaram-se a área foliar, a área lesionada pela doença e a severidade da doença (percentagem da área foliar lesionada) pelos diferentes métodos citados. Para comparar dois métodos de estimativa de áreas, utilizou-se análise de regressão linear simples (Campbell & Madden, 1990). Inicialmente utilizou-se o modelo completo: $Y = \beta_0 + \beta_1 X + \varepsilon$, onde Y e X são os valores estimados pelos dois métodos e ε , o erro associado ao modelo. Quando β_0 não diferiu de zero ($P > 0,05$) e os dados obtidos demonstravam que a reta estimada tendia a passar pela origem ($Y = X = 0$), efetuou-se nova análise de regressão, através da origem, segundo o modelo: $Y = \beta_1 X + \varepsilon$ (Neter et al., 1996). Testou-se a hipótese $\beta_1 = 1$ com o teste t. Quando X são as mensurações realizadas com o método padrão, o valor estimado de β_1 , multiplicado por 100, é indicativo da acurácia e o r^2 , coeficiente de determinação, representa a precisão das mensurações do outro método. Isto permite que a acurácia seja representada por somente um parâmetro da equação da reta. Quando X não representa as mensurações do método padrão, o valor estimado de β_1 é um indicativo da concordância entre as mensurações. As análises de regressão linear foram feitas com o software "Statistica for Windows 5.5" (Statsoft, 2000).

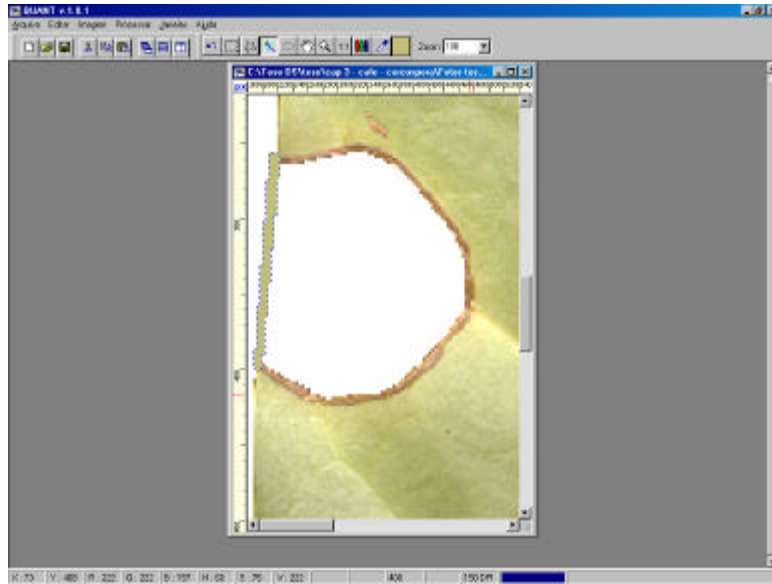


Figura 10. Detalhe da Figura 1B. Folha com lesão seccionada na borda, com uma "ponte" para separar a área seccionada do "fundo" da imagem (H).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As estimativas da área foliar com o procedimento de seleção de área com a varinha mágica, utilizando imagens originais, feitas por dois usuários do QUANT foram praticamente iguais, uma indicação da reprodutibilidade do método (Figura 13A). Na estimativa da área foliar com o uso do QUANT, adotou-se o método de seleção de área com a "varinha mágica" para ser o padrão de comparação do software, pois este método apresentou acurácia de 98,37 a 99,90% ao mensurar objetos de 0,3 a 50 cm², em imagens com resolução de 100 ou 150 dpi (capítulo 2). As estimativas do segundo avaliador foram consideradas como padrão de área foliar. Baseando-se na estimativa do parâmetro β_1 , da equação de regressão linear simples, as estimativas padrão do QUANT apresentaram concordância de 99,32% com as estimativas feitas com o uso do medidor de área foliar Li-cor modelo LI-3100 (Figura 13B).

As funções discriminantes (FD) estimadas para a classificação dos pixels da imagem em um dentre três grupos foram:

FD 1 (fundo): $0 R - 1,09861$ [cor branco: R=G=B=255]

FD 2 (folha sadia): $8,059 R - 414,938$ [cor cinza claro: R=G=B=200]

FD 3 (lesão): $5,580 R - 199,461$ [cor cinza escuro: R=G=B=100]

Onde R é o valor da coordenada *red* (vermelho) no sistema de cores RGB. Não foram utilizados os dados das bandas G (verde) e B (azul) na estimativa das funções discriminantes, porque os dados dessas duas variáveis apresentam alta correlação linear simples com os dados da variável R, o que pode induzir a erros nas estimativas dos coeficientes das FDs.

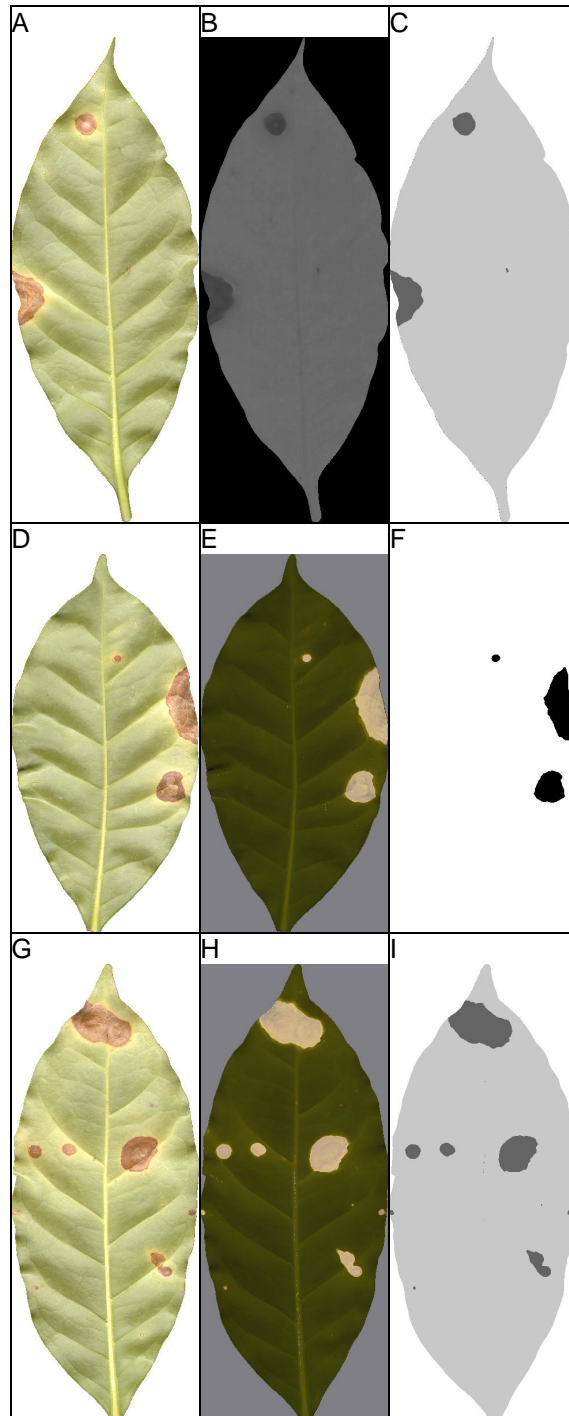


Figura 11. Imagens originais (A, D, G), após alteração do contraste pelo protocolo p1 (B) ou p2 (E, H) (vide texto). Imagens com duas ou três cores, resultado do processamento pelo QUANT a partir das imagens B, E, e H, segundo os procedimentos: função discriminante (C), limiar preto e branco (F) e redução de cores por paleta (I).

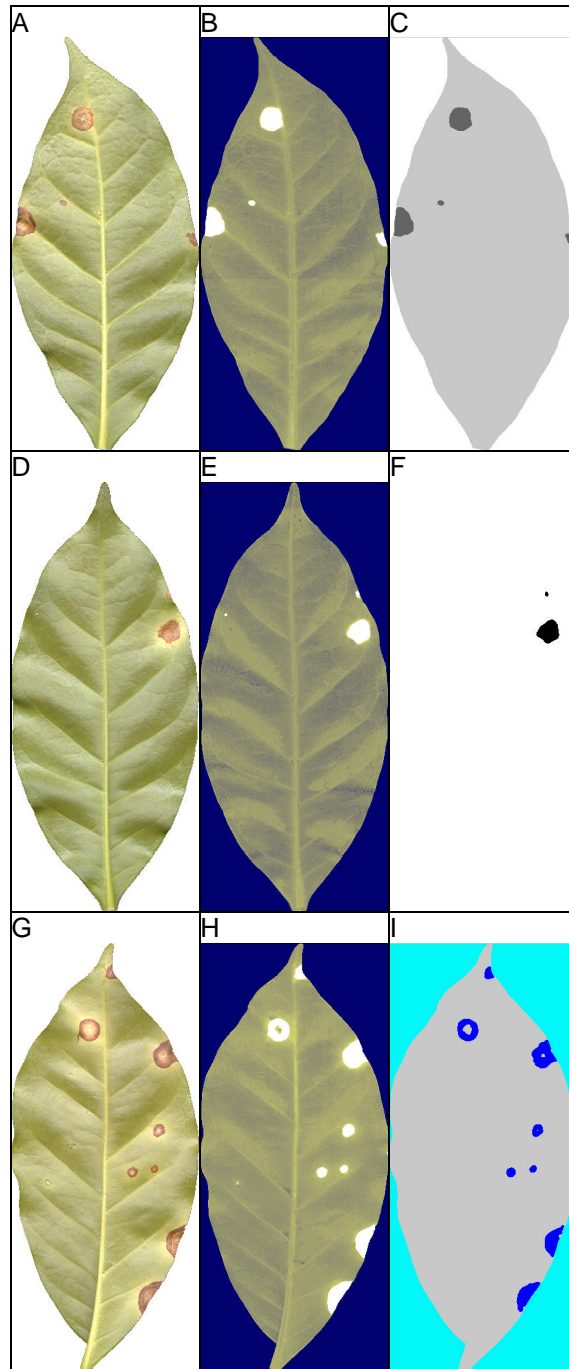


Figura 12. Imagens originais (A,D, G), após alteração do contraste pelo protocolo p3 (B, E, H) (vide texto). Imagens com três cores, resultado do processamento pelo QUANT a partir das imagens B, E, e H, segundo os procedimentos: redução de cores por paleta (C), limiar preto e branco (F) e seleção por intervalo de coordenadas de cores (I).

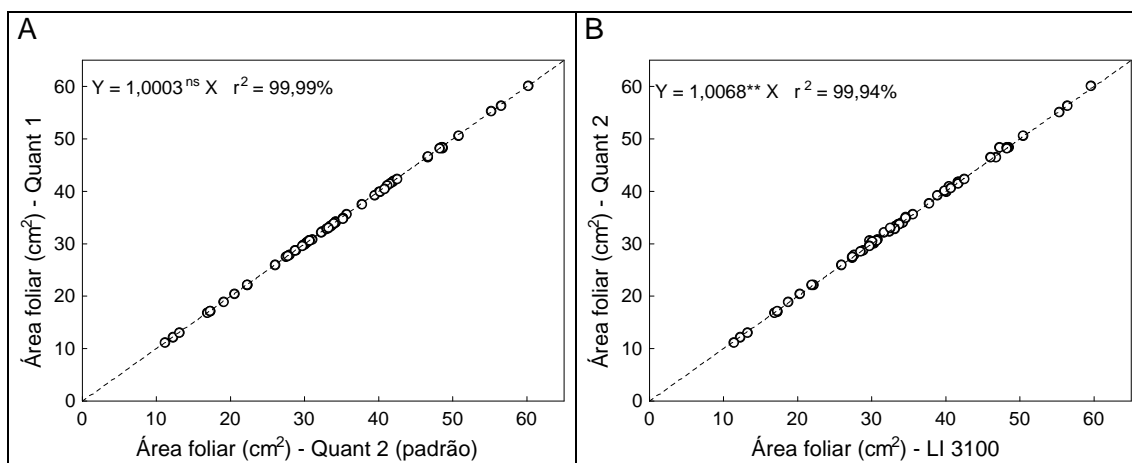


Figura 13. Comparação entre as estimativas de áreas foliar: estimativas de dois usuários do QUANT, em imagens originais a 150 dpi, com o uso da varinha mágica de seleção de área. As estimativas do segundo usuário foram consideradas o padrão do QUANT (A); estimativas padrão do QUANT e do medidor de área Li-cor, modelo LI 3100 (B). Regressão através da origem. Linha pontilhada: $Y = X$, sendo Y a ordenada e X, a abscissa. Hipótese testada $\beta_1 = 1$. ^{ns} $P > 0,05$; ^{**} $P < 0,01$.

O QUANT associa uma cor a cada FD (determinadas pelos usuários) e estima o valor de cada uma das FDs para cada pixel da imagem. Após, automaticamente, a cor do pixel é trocada pela cor da FD que possui maior valor. Nas imagens deste estudo, o tempo desse processamento foi inferior a um segundo. Essas FDs quando testadas em pixels diferentes daqueles que forneceram os dados para sua estimação, apresentaram 100% de classificação correta (Tabela 2). Ahmad et al. (1999) utilizaram funções discriminantes para identificar sementes de soja com relação a tipos de lesões apresentadas por diferentes patógenos e verificaram que a cor não descreveu as diferenças entre sintomas. No presente estudo, o uso de análise discriminante foi considerado adequado para discriminar áreas entre o fundo da imagem, a área foliar sadia e a lesionada.

Cada um dos três procedimentos do QUANT utilizados para estimar a área foliar em imagens com contraste previamente alterado foram comparado com o método padrão do QUANT. As mensurações apresentaram alta concordância entre si (Figura 14). Com isso o usuário tem opção de escolher o procedimento do QUANT que considerar mais fácil e ágil.

Nas estimativas das áreas das lesões, quando comparados com o método do papel milimetrado, o QUANT apresentou acurácia e precisão superior àquelas obtidas com o medidor de área da Li-cor (Figura 15). Segundo o fabricante, com a resolução de 1 mm^2 , o LI 3100 pode apresentar erro de 2, 5 e 7% ao mensurar objetos de 5, 1 e $0,5 \text{ cm}^2$, respectivamente (Li-cor, 1996). O método de mensurar áreas em imagens digitais tendo como fundo papel milimetrado apresenta uma dificuldade própria: ocorre uma pequena área de sombra em parte da borda interna da injúria, o que dificulta a estimativa de área (Figura 2), sendo que essa dificuldade aumenta com a diminuição da área da injúria. Outro problema é que as quadrículas do papel milimetrado da borda da lesão não se apresentam por inteiro, sendo necessário estimar sua área visível. Como a menor quadrícula tem área de 1 mm^2 , esta é a resolução desse método.

Quatro procedimentos do QUANT, utilizados para estimar área lesionada em imagens com contraste previamente alterado, foram comparados com o método padrão do QUANT (Figura 16). Os procedimentos de limiar preto e branco para imagens contrastadas segundo o protocolo p2, função discriminante e redução para 32 cores, apresentaram alta acurácia (96,63 a 99,57%) e precisão ($\geq 99\%$). No entanto, os procedimentos de intervalo de coordenadas de cores e limiar preto e branco, a partir de imagens do protocolo p3, apresentaram acurácia inferior a 90% (Figura 16E e 16F). Usando o procedimento de redução de cores, o avaliador selecionou as cores a serem alteradas folha a folha. Nos outros procedimentos, padronizou-se a alteração de cores para todo o conjunto de folhas. Com isso, o método de limiarização com o protocolo p3 e a seleção de cores por intervalo de coordenadas de cores apresentaram menores acurácias.

As estimativas de severidade do QUANT (padrão) não apresentaram boa concordância com as do medidor de área foliar LI-3100 (Figura 17). Para algumas das folhas, com área lesionada inferior a $0,5 \text{ cm}^2$ (mensuradas com papel milimetrado), a estimativa da área lesionada com o LI-3100 foi negativa (Figura 15A). Isso ocorreu porque a área lesionada é estimada indiretamente, subtraindo-se a área foliar intacta (a qual é mensurada após a retirada das lesões) da área foliar total. Erros nas mensurações das duas variáveis podem ser cumulativos na estimativa da área lesionada. Foram feitas três mensurações de cada variável em cada folha. Geralmente há uma pequena variabilidade entre as leituras. Para minimizar os erros foram desconsideradas e refeitas as mensurações que apresentavam diferenças maiores

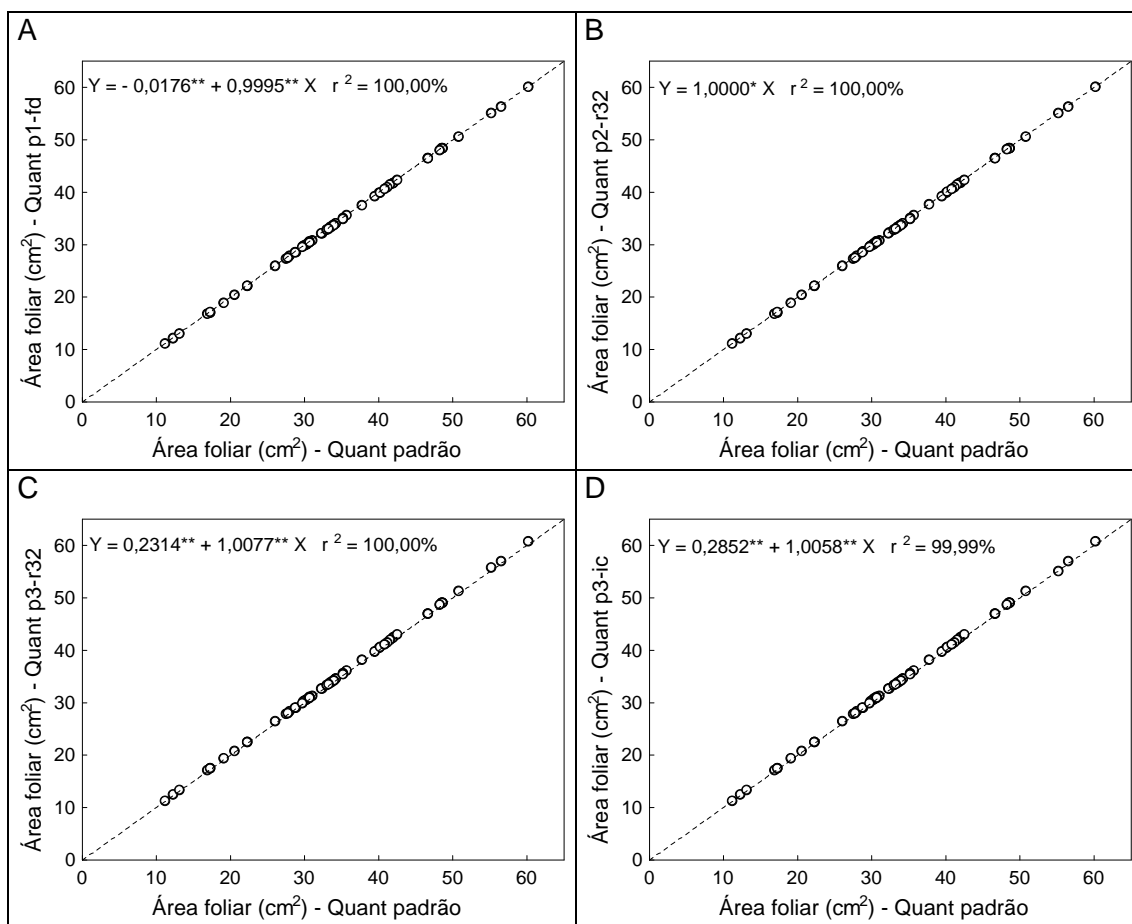


Figura 14. Comparação entre as estimativas de áreas foliar com o uso de diferentes procedimentos do QUANT, em relação ao procedimento seleção de área com a varinha mágica, considerado padrão (vide texto): funções discriminantes a partir de imagens do protocolo p1 (p1-fd) (A); redução para 32 cores, a partir de imagens do protocolo p2 (p2-r32) (B) ou p3 (p3-r32) (C); seleção por intervalo de cores (ic) (D). Imagens digitais com resolução de 150 dpi. Linha pontilhada: $Y = X$, sendo Y a ordenada e X, a abscissa. Hipóteses testadas: $\beta_0 = 0$; $\beta_1 = 1$. * $P < 0,05$. ** $P < 0,01$.

Tabela 2. Classificação* de amostras de pixels de dez imagens de folhas de cafeeiros com lesão de mancha parda, por meio de funções discriminantes.

Observado	Predito			
	Fundo da imagem	Folha sadia	Lesão	Classificação correta (%)
Fundo da imagem	4886	0	0	100
Folha sadia	0	4848	0	100
Lesão	0	0	4755	100
Total	4886	4848	4755	100

* As funções discriminantes foram testadas em pixels diferentes daqueles que forneceram os dados para sua estimação.

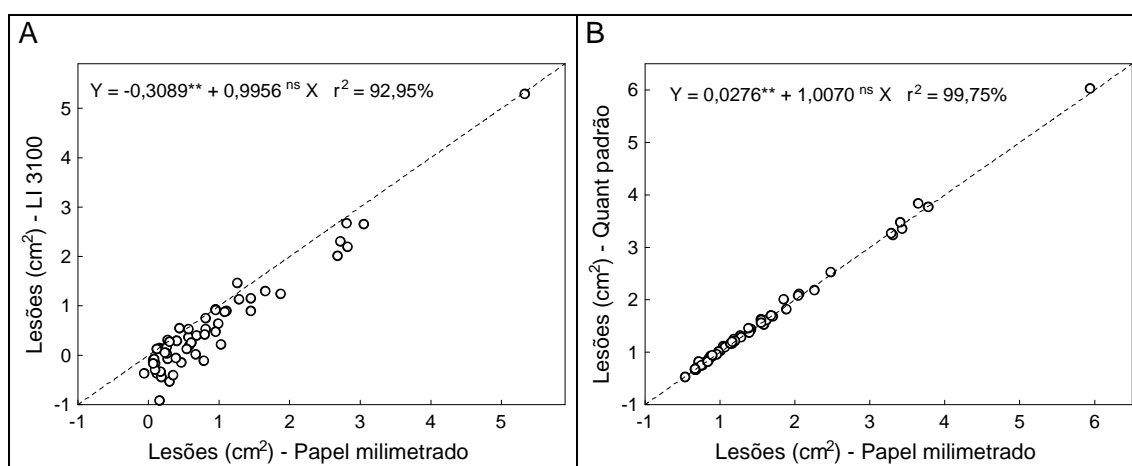


Figura 15. Comparação entre as estimativas de área lesionada por meio de contagem de quadrículas em papel milimetrado e com o uso do medidor de área foliar Li-corr Modelo LI 3100 (A) ou do QUANT em imagens digitais de folhas cujas lesões foram retiradas com bisturi (B). Linha pontilhada: $Y = X$, sendo Y a ordenada e X, a abscissa. Hipóteses testadas: $\beta_0 = 0$; $\beta_1 = 1$. ^{ns} $P > 0,05$. ^{**} $P < 0,01$.

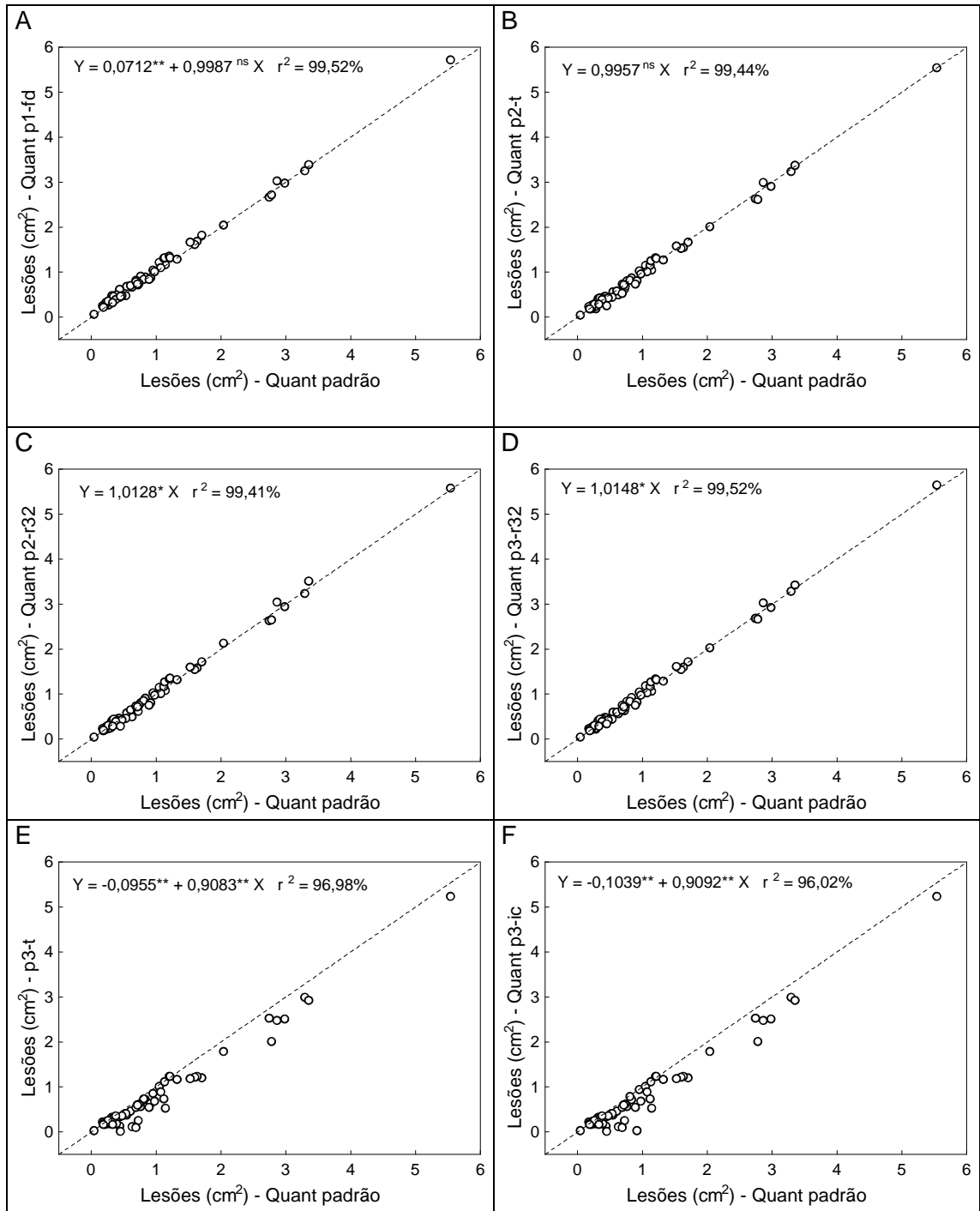


Figura 16. Comparação entre as estimativas de área lesionada com o uso de diferentes procedimentos do QUANT, em relação ao procedimento considerado padrão (vide texto): imagens do protocolo p1: funções discriminantes (p1-fd) (A); imagens do protocolo p2: limiar preto e branco (p2-t) (B); redução para 32 cores (p2-r32) (C). Imagens do protocolo p3: redução para 32 cores (p3-r32) (D); limiar preto e branco (p3-t) (E); intervalo de coordenadas de cores (p3-ic) (F). Imagens digitais com resolução de 150 dpi. Linha pontilhada: $Y = X$, sendo Y a ordenada e X, a abscissa. Hipóteses testadas: $\beta_0 = 0$; $\beta_1 = 1$. ^{ns} $P > 0,05$. * $P < 0,05$. ** $P < 0,01$.

que 0,3 cm² em relação às outras duas. Assim, tanto para área foliar total, quanto para a área foliar intacta foram obtidas médias de três mensurações. No presente estudo, ocorre um fato que contribui para a diminuição da acurácia do medidor de área. Enquanto o QUANT processa imagens de folhas digitalizadas entre lâminas de vidro, ou seja, imagens de folhas planas, isso não é possível no medidor de área foliar, onde as folhas são transportadas soltas sobre correia de plástico transparente. Pequenas dobras na folha ou alteração na posição podem afetar as estimativas de área.

Estimativas de severidade da doença por diferentes procedimentos do QUANT foram comparadas com o procedimento padrão do QUANT (Figura 18). O método de redução para 32 cores, a partir de imagens tipo p2 e p3, apresentou acurácia superior a 99% (Figura 18C e 18D), enquanto os métodos de função discriminante e intervalo de coordenadas de cores, apresentaram acurácia inferior (Figura 18A e 18B).

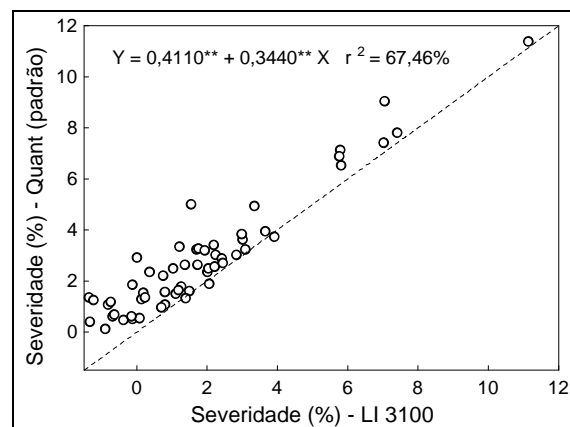


Figura 17. Comparação entre as estimativas de severidade com o uso do medidor de área foliar Li-cor Modelo LI 3100 e do QUANT em imagens digitais de folhas cujas lesões foram retiradas com bisturi. Regressão através da origem. Linha pontilhada: $Y = X$, sendo Y a ordenada e X, a abscissa. Hipótese testada $\beta_1 = 1$. ** $P < 0,01$.

Este é mais um estudo onde se verificou baixa acurácia das estimativas visuais de severidade. De cinco avaliadores que estimaram visualmente a severidade de doença, três superestimaram (Figuras 19A, 19C e 19D) e um apresentou acurácia (97%) e precisão (94%) elevadas (Figura 19B). Um avaliador novato subestimou em muito a severidade (Figura 20). O fato de este avaliador ter sido informado que os demais avaliadores haviam superestimado a severidade, talvez tenha influenciado em suas estimativas. Segundo Sherwood et al. (1983), em estimativas visuais de severidade, é comum o avaliador superestimar duas a três vezes o valor real. Isto é mais proeminente em baixos valores de severidade. Beresford & Royle (1991) constataram que para folhas de cevada com severidade de ferrugem os avaliadores superestimaram até 70 X, quando a severidade foi menor que 0,2%, e superestimaram oito a dez vezes, quando as folhas apresentaram 0,6 a 20% de severidade. Segundo Carmo et al. (1991), somente 10% dos avaliadores foram acurados e precisos. Parker et al. (1995) constataram que os avaliadores apresentaram precisão variando entre 8% e 95%. As estimativas de um mesmo avaliador em diferentes ocasiões não foram consistentes (Shokes et al., 1987; Nutter et al., 1993; Parker et al., 1995).

Para verificar a reprodutibilidade das mensurações feitas com o QUANT, quatro usuários quantificaram área foliar em 16 folhas, usando o procedimento de seleção de área com a varinha mágica, e três quantificaram área lesionada, usando o mesmo procedimento e também o procedimento de limiarização. Cada usuário escolheu livremente o valor de tolerância, para a varinha mágica, e o valor de limiar, para cada imagem de folha. As estimativas de área foliar apresentaram acurácia superior a 99% para os quatro usuários (Figura 21). As estimativas de área lesionada tiveram acurácia entre 96 e 98% (Figura 22). Uma grande vantagem o QUANT é permitir ao usuário verificar visualmente a adequabilidade da seleção de cada área, por meio da ferramenta “flash”, com a qual a imagem segmentada pisca continuamente sobre a imagem original.

Aparentemente, o método mais comum de processamento de imagens digitais para mensuração de lesões é a limiarização de imagens com 256 níveis de cinza (Kokko et al., 1993, 1995; Martin & Rybicki, 1998; Berner & Paxson 2003). Utilizando imagens coloridas, Chungu et al. (1997) não conseguiram separar áreas lesionadas, por *Fusarium graminearum*, em espigas de milho, das áreas sadias utilizando um analisador de imagens digitais.

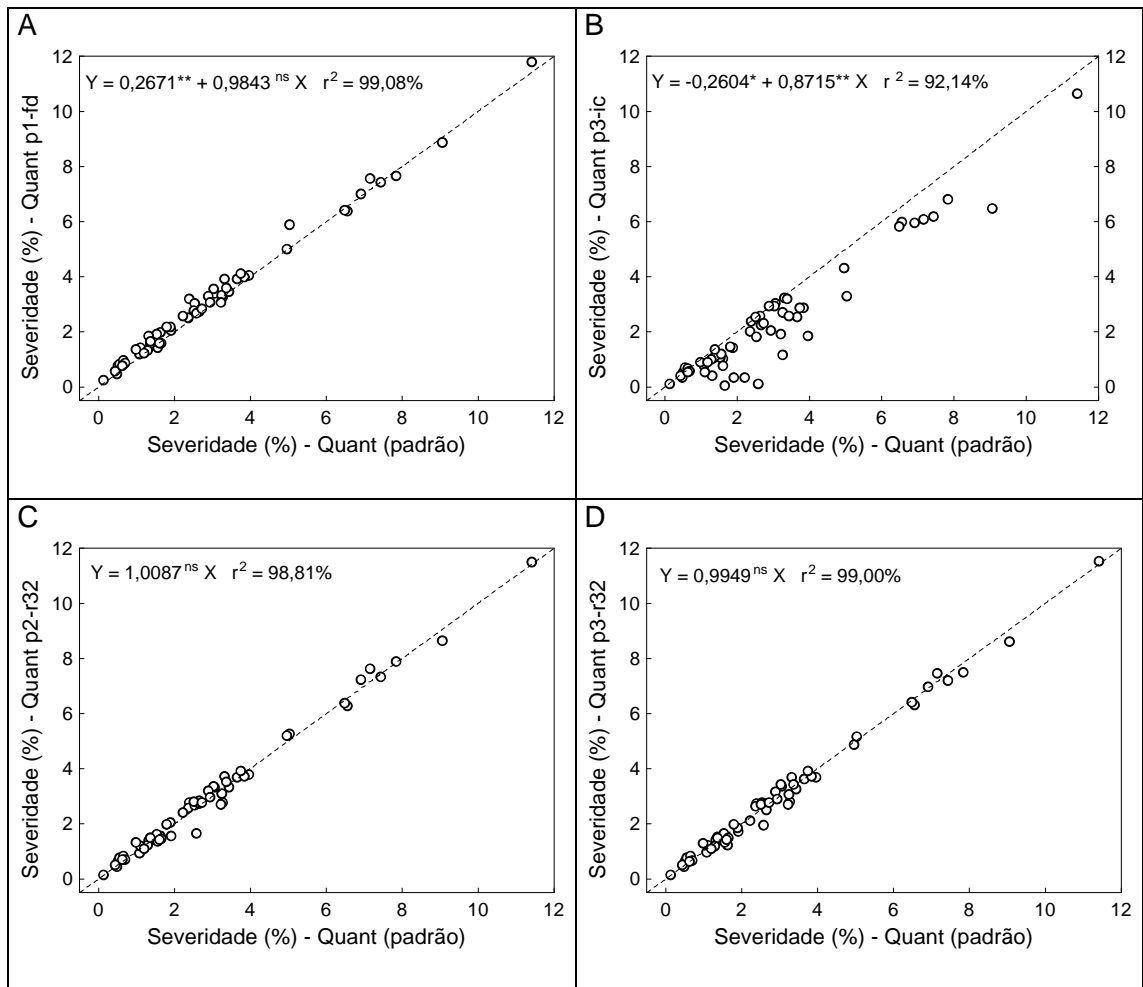


Figura 18. Comparação entre as estimativas de severidade com o uso de diferentes procedimentos do QUANT, em relação ao procedimento considerado padrão (vide texto): imagens do protocolo p1: funções discriminantes (p1-fd) (A); imagens do protocolo p2: redução para 32 cores (p2-r32) (C). Imagens do protocolo p3: intervalo de coordenadas de cores (p3-ic) (B). redução para 32 cores (p3-r32) (D). Imagens digitais com resolução de 150 dpi. Linha pontilhada: $Y = X$, sendo Y a ordenada e X, a abscissa. Hipóteses testadas: $\beta_0 = 0$; $\beta_1 = 1$. ^{ns} $P > 0,05$; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

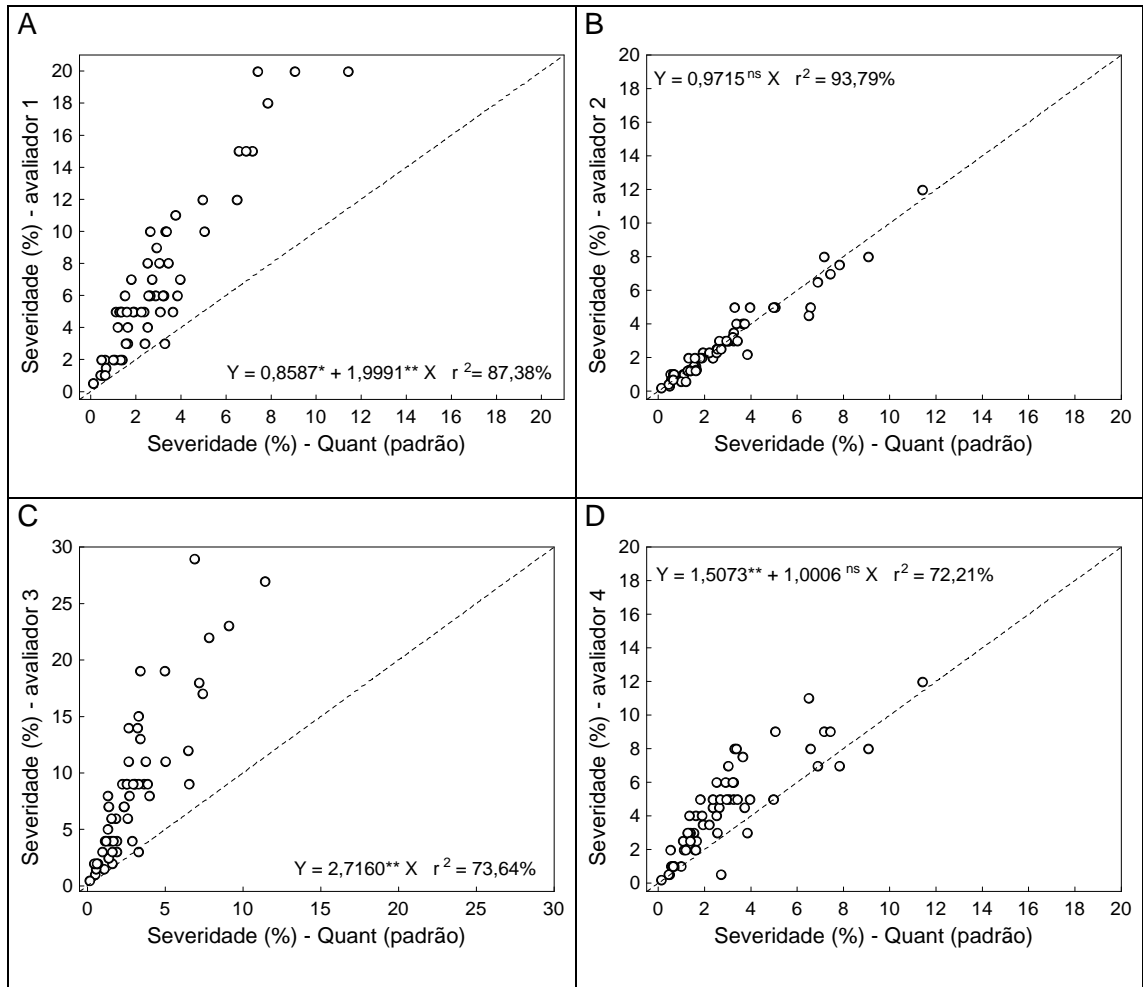


Figura 19. Comparação entre estimativas visuais de severidade de quatro avaliadores e com o uso do QUANT em imagens digitais com resolução de 150 dpi. Linha pontilhada: $Y = X$, sendo Y a ordenada e X, a abscissa. Hipóteses testadas: $\beta_0 = 0$; $\beta_1 = 1$. ^{ns} $P > 0,05$; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

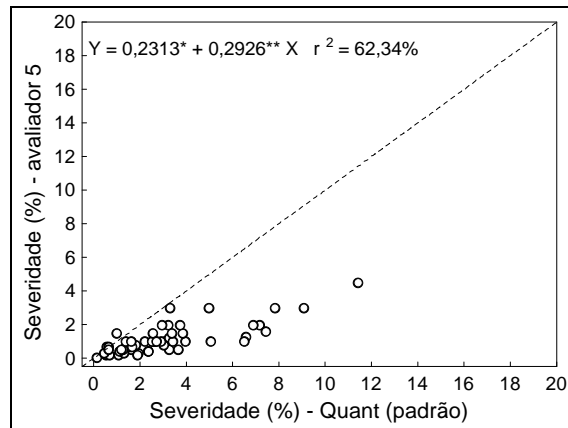


Figura 20. Comparação entre as estimativas de severidade de doença com o uso do QUANT em imagens com resolução de 150 dpi e estimativas visuais de um avaliador inexperiente que tomou conhecimento prévio que os demais avaliadores (Figura 19) tinham todos superestimado a severidade. Linha pontilhada: $Y = X$, sendo Y a ordenada e X, a abscissa. Hipóteses testadas: $\beta_0 = 0$; $\beta_1 = 1$. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

Contudo, Olmstead & Lang (2001) observaram pequenas diferenças em cor e intensidade entre áreas sadias e com oídio, em disco de folhas de cereja, resultando em baixas acurácias de estimativas de áreas doentes quando comparado com prévia coloração das áreas doentes.

Hood & Shew (1996) obtiveram imagens coloridas e converteram-nas para imagens binárias (preto e branco) previamente ao processamento e Kampmann & Hansen (1994) procederam limiarização em imagens coloridas. Maruti et al. (2002) também analisaram imagens coloridas.

Em poucos estudos foi verificado a acurácia das mensurações com imagens digitais (Lindow & Webb, 1983; Lindow, 1983; Tucker & Chakraborty, 1997, 2001). Berner & Paxson (2003) verificaram a acurácia apenas para estimativa do número de lesões, concluindo que a contagem visual foi mais acurada. No entanto, alguns pesquisadores usam as estimativas de área obtidas com o planímetro virtual como valores de área padrão da lesão para comparar com estimativas do software (Tucker & Chakraborty, 1997, 2001). Contornar a lesão com tinta de caneta na própria folha e digitalizar a imagem torna a seleção da área lesionada com a ferramenta de varinha mágica, mais fácil, devido à possibilidade de aumentar o valor da tolerância (referente às cores selecionadas), mas isso aumenta muito o trabalho e depende da habilidade do desenhista. Nogueirol et al. (2003) quantificaram área lesionada em cerca de 950 folhas de maracujazeiro desta maneira, usando o QUANT.

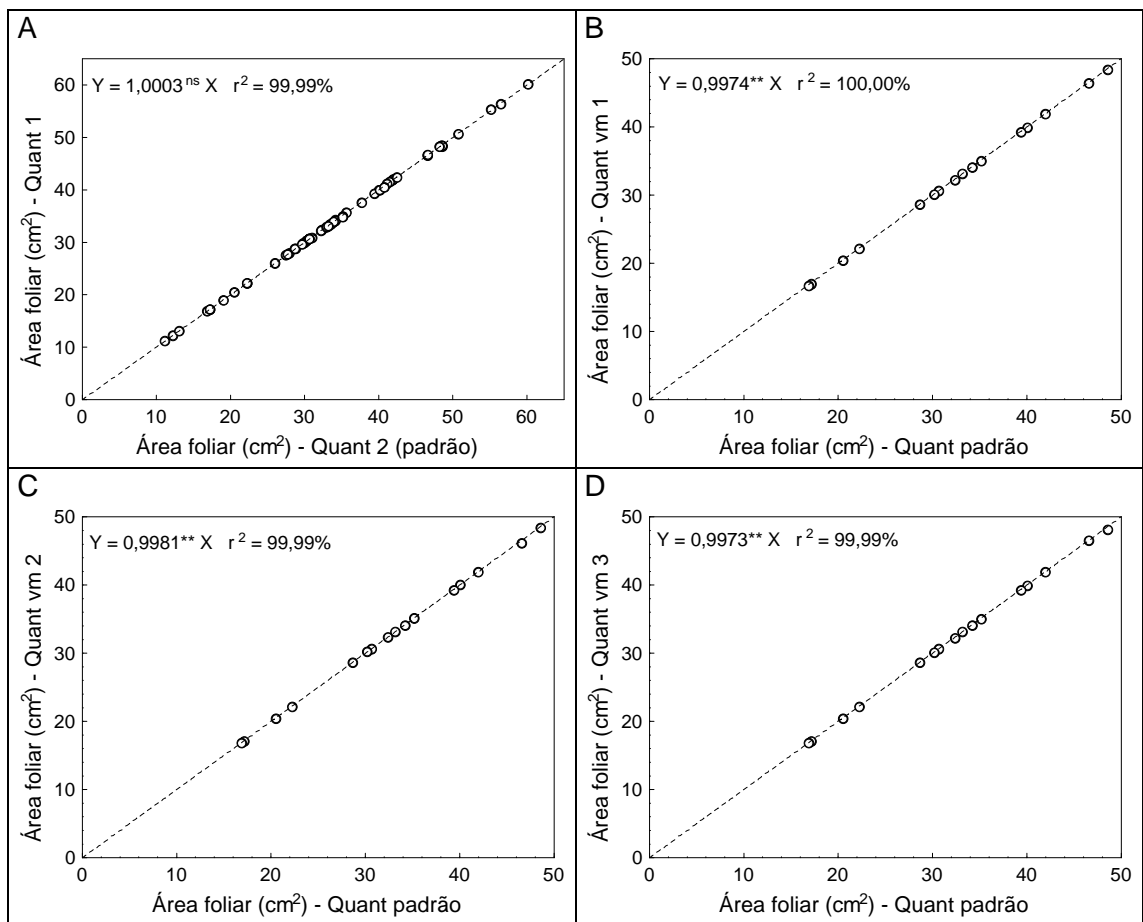


Figura 21. Comparação entre as estimativas de área foliar de quatro usuários do Quant. com o uso da "varinha mágica" de seleção de área, em relação a um quinto usuário, considerado padrão. Imagens digitais com resolução de 150 dpi. Linha pontilhada: $Y = X$, sendo Y a ordenada e X, a abscissa. Hipóteses testadas: $\beta_0 = 0$; $\beta_1 = 1$. ^{ns} $P > 0,05$; ** $P < 0,01$.

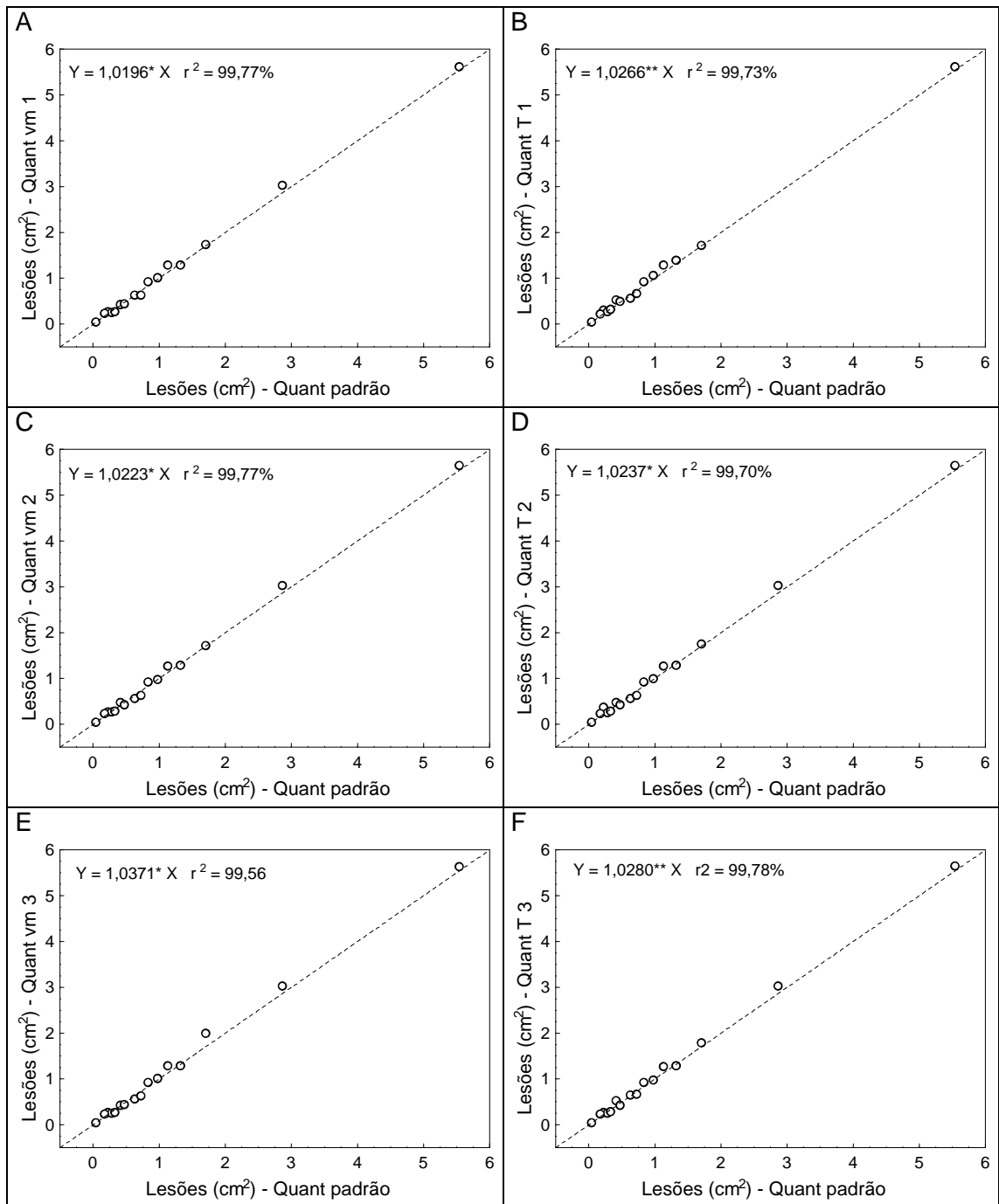


Figura 22. Comparação entre as estimativas de área lesionada de três usuários usando dois procedimentos do Quant: "varinha mágica" de seleção de área (A, C, E) ou limiarização (B, D, F). em relação ao procedimento considerado padrão. Imagens digitais com 150 dpi. Linha pontilhada: $Y = X$, sendo Y a ordenada e X, a abscissa. Hipótese testada: $\beta_1 = 1$. * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$. Os usuários escolheram livremente o valor do limiar para cada imagem, o qual variou de 188 a 255 (B), 198 a 248 (D) e 193 a 244 (F).

Beresford & Royle (1991), estimaram a área de 270 urédias de *Puccinia hordei* em cevada, a partir de seu comprimento e largura. A área média variou de $2,05 \times 10^{-2}$ a $4,29 \times 10^{-2} \text{ mm}^2$. A área lesionada foi estimada multiplicando o número de urédias na folha pela área média das urédias. Desta maneira, quantificar objetivamente a severidade de doenças com acurácia é uma tarefa difícil e que consome tempo. É impraticável contar e medir o tamanho de lesões individuais em grandes amostras.

A principal vantagem do uso de imagens digitais é que as mensurações podem ser feitas com acurácia, precisão, objetividade, reprodutibilidade e mais rapidamente que pelos métodos manuais. Adicionalmente, alguns detalhes podem ser obtidos, como número, forma e tamanho das lesões, o que pode ser útil na seleção de plantas resistentes a algumas doenças. A estimativa de área com o QUANT apresenta as seguintes fontes de erro: digitalização das imagens, pré-processamento (melhoria do contraste) e seleção de áreas. Este último passo é o mais sujeito a erros, devido às decisões do avaliador sobre qual a área a ser considerada lesionada.

O QUANT disponibiliza vários algoritmos para melhorar o contraste da imagem, como aqueles apresentados nesse estudo. Com isso, mesmo os sintomas de doenças onde o sistema visual humano tem dificuldade de distinguir entre área foliar sadia e doente, podem ser quantificados com o uso do QUANT.

O QUANT é um válido software para mensurações de severidade de doença de plantas que requeiram acurácia, objetividade, e precisão. Equipamentos modernos de aquisição de imagens permitem a aquisição de centenas de imagens digitais por hora que podem ser arquivadas para análise. Propõe-se que o QUANT seja adotado como padrão na mensuração de severidade de doenças de plantas.

CONCLUSÕES GERAIS

Este trabalho teve por objetivo o desenvolvimento do software QUANT para processamento, segmentação de objetos e mensuração de áreas em imagens digitais. O QUANT foi avaliado na mensuração da intensidade de doenças de plantas e injúrias causadas por insetos por meio de análise de imagens.

No primeiro capítulo, avaliaram-se a acurácia e precisão do QUANT na mensuração de áreas em imagens, com resolução de 75 a 300 dpi, de diferentes objetos, de tamanho conhecido, variando de 0,2 a 50 cm². O QUANT apresentou acurácia variando entre 98 e 100%.

No segundo capítulo, o QUANT foi avaliado na mensuração da área foliar total, da área desfolhada (consumida) e da severidade da desfolha (percentagem da área foliar desfolhada) causada por besouros crisomelídeos, em folhas de pimentão (*Capsicum annuum*), usando imagens digitais. A resolução das imagens, 100 ou 300 dpi, não afetou as estimativas de área. O Quant e o LI-3100 apresentaram alta concordância (97,8%) com relação às estimativas de área foliar, mas baixa (77%) com relação às de área desfolhada. Comparando-se essas estimativas de área desfolhada com as realizadas por dois avaliadores, por meio de contagem de quadrículas em papel milimetrado, verificou-se que o QUANT apresentou maior acurácia (89,0 a 93,1%) que o LI-3100 (86 a 88%). Seis avaliadores visuais superestimaram a severidade, sendo que apenas um apresentou alta acurácia (92%).

O terceiro capítulo discorre sobre experimentos onde a área foliar, a área lesionada e a severidade da mancha parda (*Cercospora coffeicola*) em folhas de cafeeiro (*Coffea arabica*), foram mensuradas com o uso do QUANT, de avaliadores

visuais, do LI-3100 e por meio de contagem direta observando-se as imagens digitais obtidas com papel milimetrado como fundo. Para tanto, as lesões foram previamente retiradas da folha com o auxílio de um bisturi. As imagens originais não permitiram adequada segmentação entre área foliar sadia e lesionada. O QUANT disponibiliza inúmeras ferramentas que, isolada ou conjuntamente, podem ser usadas para melhorar a qualidade da imagem previamente ao processo de segmentação de objetos. Esses recursos diferenciam-no de outros softwares de processamento de imagens. Três protocolos de melhoria da qualidade da imagem original foram testados e todos se mostraram adequados. Cinco procedimentos de segmentação de áreas foram avaliados: funções discriminantes, redução número de cores, limiarização, intervalo de coordenadas de cores e seleção por crescimento de área (“varinha mágica”). Este último foi arbitrariamente considerado o padrão do QUANT, cujas estimativas de área foliar apresentaram 99,3% de concordância com as do LI-3100. Quando comparados com o método do papel milimetrado, o método padrão do QUANT apresentou acurácia de 97,9% e o LI 3100, de 83,7% nas estimativas das áreas lesionadas. Comparados com o método padrão do QUANT, os demais procedimentos desse software para segmentação de áreas apresentaram acurácia de 98,6 a 100% e precisão de 99,99% na estimativa de área foliar. Com relação à área lesionada, os procedimentos de limiarização, função discriminante e redução para 32 cores, apresentaram alta acurácia (96,6 a 99,6%) e precisão ($\geq 99,3\%$). Nas estimativas de severidade o procedimento de redução para 32 cores apresentou acurácia superior a 99%, enquanto as função discriminantes e o intervalo de coordenadas de cores apresentaram acurácia inferior. As estimativas de severidade do QUANT (padrão) não apresentaram boa concordância com as do medidor de área foliar LI-3100. Dos cinco avaliadores que estimaram visualmente a severidade de doença, somente um apresentou acurácia (97%) e precisão (94%) elevadas. Quatro usuários do QUANT estimaram área foliar em 16 folhas, usando o procedimento de seleção de área com a varinha mágica, obtendo acurácia superior a 99%. Três usuários estimaram área lesionada usando este procedimento, e também o procedimento de limiarização, obtendo acurácia entre 96 e 98%.

Este é mais um estudo onde se confirmaram as pequenas acurácia e precisão de estimativas visuais de severidade de doenças e de desfolha por insetos. O medidor de área LI-3100 mostrou-se acurado pra mensurar área foliar, mas não para mensurar área lesionada ou injuriada. O QUANT apresentou-se mais acurado que o medidor de área LI-3100 e que avaliações visuais na mensuração de áreas e de área foliar injuriada por insetos ou lesionada por doenças. Quando as imagens originais não apresentam alto contraste entre área foliar lesionada e sadia, as ferramentas do

QUANT mostraram-se adequadas para melhorar a qualidade da imagem (aumentar o contraste entre áreas a serem segmentadas). Os cinco procedimentos de segmentação de áreas mostraram-se acurados na estimativa de área foliar e área lesionada. Diferentes usuários do QUANT apresentaram alta acurácia, indicando a reprodutibilidade das estimativas realizadas com o QUANT.

O QUANT apresentou-se como métodos de fácil uso, baixo custo, acurado, preciso, aplicável em diferentes condições e seus resultados são reproduzíveis. Propõe-se que o QUANT seja adotado como método padrão para mensurar área foliar, área foliar injuriada (consumida) por insetos e área lesionada em folhas de plantas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR NETTO, A.O.; RODRIGUES, J.D.; PINHO, S.Z. análise de crescimento na cultura da batata submetida a diferentes lâminas de irrigação. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35: 901-907, 2000.
- AHMAD, I. S.; REID, J. F., PAULSEN, M. R., SINCLAIR, J. B. Color classifier for symptomatic soybean seeds using image processing. *Plant Disease*, 83:320-327, 1999.
- ALCHANATIS, V.; NAVON, A.; GLAZER, I.; LEVSKI, S. an image analysis system for measuring insect feeding effects caused by biopesticides. *J. agric. Engng Res.*, 77: 289-296, 2000.
- ALFONSI, R.R.; ORTOLANI, A.A.; PINTO, H.S.; PEDRO JUNIOR, M.J.; BRUNINI, O. Associação entre nível de infecção da ferrugem do cafeeiro, variáveis climáticas e área foliar, observadas em *Coffea arabica* L. In: Congresso Brasileiro sobre Pesquisas Cafeeiras (2. : 1974 : Poços de Caldas, MG). Resumos dos trabalhos apresentados. Rio de Janeiro : Instituto Brasileiro do Café, 1974. (392p.), p. 80-83.
- AMORIM, L.; BERGAMIM FILHO, A. Quantificação de variáveis-chave para o manejo integrado de doenças. in: ZAMBOLIM, L. (ed.) Manejo integrado de doenças e pragas. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1999. p.30-41.
- AMORIM, L. Avaliação de doenças. BERGAMIM FILHO, A., KIMATI, H., AMORIM, L. (eds) Manual de fitopatologia. Vol. 1: Princípios e conceitos, Agronômica Ceres, São Paulo, 1995. 3ed. p.647-671.
- ATKINSON, H. J., URWIN, P. E.; CLARKE, M.C.; MCPHERSON, M.J. Image analysis of the growth of *Globodera pallida* and *Meloidogyne incognita* on transgenic tomato roots expressing cystatins. *Journal of Nematology*, 28: 209-215, 1996.
- AZEVEDO, L.A.S. C. Manual de quantificação de doenças de plantas. São Paulo, 1998. 113p.
- BACCHI, L.M.; BERGER, R.D.; DAVOLI, T.A. Color digitization of video images of bean leaves to determine the intensity of rust caused by *Uromyces appendiculatus*. *Phytopathology*, 82:1162-1163. (Abstract).
- BARBER, J. A. S., C. S. PARKIN, A.B.M.N.U. CHOWDHURY. "Effect of application method on the control of powdery mildew (*Bulmeria graminis*) on spring barley." *Crop Protection* 22: 949-957, 2003.
- BARROS, R.S.; MAESTRI, M.; VIEIRA, M.; BRAGA FILHO, L.J. Determinação da área de folhas de café (*Coffea arabica* L.) cv. Bourbon Amarelo, *Revista Ceres*, 20 (107): 44-52, 1973.

- BAWDEN, F.C. (1933) Infra-red photography and plant virus diseases. *Nature*, 132, 168.
- BERESFORD, R.M.; ROYLE, D.J. The assessment of infectious disease for brown rust (*Puccinia hordei*) of barley. *Plant Pathology* 40: 374-381, 1991.
- BERGAMIN FILHO, A. & AMORIM, L. Doenças de plantas tropicais. *Epidemiologia e controle econômico*. São Paulo, Ceres, 1996. 289p.
- BERGER, R.D.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Lesion expansion as an epidemic component. *Phytopathology*, 87:1005-1013, 1997.
- BERNER, D.K.; PAXSON, L.K. Use of digital images to differentiate reactions of collections of yellow starthistle (*Centaurea solstitialis*) to infection by *Puccinia jaceae*. *Biological Control* 28: 171-179, 2003.
- BFEN, T.H.; MEIJER, M.J.; BENIERS, A.E.; KNOL, J.W. Using image analysis for counting larvae of potato cyst nematodes (*Globodera* spp.) *Fundam. Appl. Nematol.* 19: 297-304, 1996.
- BIERNACKI, M.; BRUTON, B. D. Quantitative response of *Cucumis melo* inoculated with root rot pathogens. *Plant Disease*, 85:65-70, 2001.
- BLANCO, H.G.; ARÉVALO, R.A.; CHIBA, S. Convivência de populações de *Cyperus rotundus* L. com plantas de algodoeiro herbáceo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 26: 169-176, 1991.
- BROWN, J.S.; HOLMES, R.J. Guidelines for use of foliar sprays to control stripe rust of wheat in Australia. *Plant Disease* 67: 485-487, 1983.
- CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. New York, John Wiley, 1990. 532p.
- CANTERI, M.G.; GIGLIOTI, E.A. Phytopathometry applied to the integrated management of borer-rot complex in sugarcane: (II) COMBRO - a software to select and train raters. in: *Sugarcane pathology. Volume 1: Fungal diseases*. Enfield, Science Publishers Inc., 1999. p. 195-208.
- CARMO, M.G.F.; MAFFIA, L.A.; KATSURAYAMA, Y.; MILLAGRES JR., O.R. Erros relacionados à quantificação da severidade de manchas foliares. *Fitopatologia Brasileira* 16: 32, 1991. (Resumo 81).
- CHAIM, A.; PESSOA, M.C.P.Y.; NETO, J.C.; HERMES, L.C. Comparison of microscopic method and computational program for pesticide deposition evaluation of spraying. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* v. 37: 493-496, 2002
- CHUNGU, C.; MATHER, D.E.; REID, M.L.; HAMILTON, R.I. Assessment of ear rot symptom development in maize hybrids inoculated with *Fusarium graminearum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 19: 390-396, 1997.
- COOKE, B.M. Disease assessment and yield loss. in: GARETH JONES, D. (ed.) *The epidemiology of plant diseases*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1998. p.42-72.
- DÍAZ-LAGO, J. E., STUTHMAN, D. D., AND LEONARD, K. J. Evaluation of components of partial resistance to oat crown rust using digital image analysis. *Plant Disease*, 87:667-674, 2003.
- DILLARD, H.R.; SEEM, R.C. Incidence-severity relationships for common maize rust on sweet corn. *Phytopathology*, 80: 842-846, 1990.
- DOMICIANO, N.L.; SANTOS, W.J. Momento adequado para aplicação de inseticida no controle do curuquerê-do-algodoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 29: 7-11, 1994.
- EDWARDS, J.; TAYLOR, P.A.; PARBERY, D.G.; HALLORAN, G.M. Peppermint rust in Victoria: the incidence-severity relationship and its implication for the development of an action threshold. *Australian Journal of Agriculture Research*, 51: 91-95, 2000.
- EMGE, R.G.; KINGSOLVER, C.H.; JOHNSON, D.R. Growth of the sporulating zone of *Puccinia striiformis* and its relationship to stripe rust epiphytology. *Phytopathology*, 65:679-681, 1975.

- FALLOON, R.E.; VILJANEN-ROLLINSON, S.L.H.; COLES, G.D.; POFF, J.D. Disease severity keys for powdery mildews of pea, and powdery scab of potato. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 23: 31-37, 1995.
- FERNANDES, C.D. Efeito de fatores do ambiente e da concentração de inóculo sobre a cercosporiose do cafeeiro. Viçosa: UFV. Dissertação Mestrado, 73p. 1988.
- FORBES, G.A.; JEGER, M.J. Factor affecting the estimation of disease intensity in simulated plant structures. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 94 (2): 113-120, 1987.
- FURLAN, C.M.; SALATINO, A.; DOMINGOS, M. Leaf contents of nitrogen and phenolic compounds and their bearing with the herbivore damage to *Tibouchina pulchra* Cogn. (Melastomataceae), under the influence of air pollutants from industries of Cubatão, São Paulo. *Revista Brasileira de Botânica*, 22: 317-323, 1999.
- FURMAN, L. A., LALANCETTE, N., AND WHITE, J. F., Jr. 2003. Peach rusty spot epidemics: Temporal analysis and relationship to fruit growth. *Plant Dis*. 87:366-374.
- GARÇON, C.L.P.; BARROS, U.V.; MATIELLO, J.B.; ZAMBOLIM, L.; L. FILHO, S. Constante para determinação de área foliar para novas variedades de *Coffea arabica*. In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras (27. : 2001 : Uberaba, MG). Trabalhos apresentados [no] 27o. Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras. Rio de Janeiro : PROCAFÉ, 2001. (408p.), p. 55-56.
- GAUNT, R.E. Measurement of disease and pathogens. In: TENG, P.S. (ed.). *Crop loss assessment and pest management*. APS Press, 1987. p. 6-18.
- GIGLIOTI, E.A.; CANTERI, M.G. Desenvolvimento de software e escala diagramática para seleção e treinamento de avaliadores da severidade do complexo broca-podridões em cana-de-açúcar. *Fitopatologia Brasileira* 23: 359-363, 1998.
- GIGLIOTI, E.A.; CANTERI, M.G. Phytometry applied to the integrated management of borer-rot complex in sugarcane: (I) a standard diagram to assess disease severity. in: *Sugarcane pathology*. Volume 1: Fungal diseases. Enfield, Science Publishers Inc., 1999. p. 183-194.
- GODOY, C.V. CARNEIRO, S.M.T.P.G.; IAMAUTI, M.T.; DALLA PRIA, M.; AMORIM, L. BERGER, R.D.; BERGAMIM FILHO, A. Diagrammatic scales for bean diseases: development and validation. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 104: 336-345, 1997.
- GOMIDE, M.B.; LEMOS, O.V.; TOURINO, D.; CARVALHO, M.M.; CARVALHO, J.G.; DUARTE, C.S. Comparação entre métodos de determinação de área foliar em cafeeiros Mundo Novo e Catuaí. In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras (4. : 1976 : Caxambu, MG). Resumos. Rio de Janeiro : IBC/GERCA, 1976. (315p.), p. 182.
- GONZALEZ, R.C.; WOODS, R.E. *Processamento de imagens digitais*. São Paulo, Edgard Blücher, 2000. 509p.
- GOUDRIAAN, J.; VAN LAAR, H.H. *Modelling potential crop growth processes*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1994. 238p.
- GUPTA, A.K.; PATHAK, V.N. Epidemiology and management of papaya fruit rots. *Summa Phytopathologica*, v.16, n.2, p.92-105, 1990.
- HILBER, U.W.; SCHÜEPP, H. Accurate and rapid measurement of lengths of fungal germ tubes by image analysis. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 14: 185-186, 1992.
- HOOD, M.E.; SHEW, H.D. Pathogenesis of *Thielaviopsis basicola* on a susceptible and a resistant cultivar of Burley tobacco. *Phytopathology*, 86:38-44, 1996.
- HORSFALL, J.G.; BARRATT, R.W. An improved grading system for measuring plant diseases. *Phytopathology*, 35: 655, 1945 (Abstract).
- HORSFALL, J.G.; COWLING, E.B. Pathometry: the measurement of plant disease. In: HORSFALL, J.G.; COWLING, E.B. (eds) *Plant Disease. An advanced treatise*. v.II. How disease develops in populations. New York, Academic Press, 1978. p.119-136.

- Jackson, R.D. Remote-Sensing of Biotic and Abiotic Plant Stress. *Annual Review of Phytopathology*, 24: 265-287, 1986.
- JAMES, W.C. A manual of assessment keys for plant diseases. Canadian Department of Agriculture. Publication 1458, 1971. 50p.
- JAMES, W.C. An illustrated series of assessment keys for plant diseases. Their preparation and use. *Canadian Plant Disease Survey*, 51 (2): 39-65, 1971b.
- JAMES, W.C. Assessment of plant disease and losses. *Annual review of Phytopathology* 12: 27-48, 1974.
- JAMES, W.C. Crop loss assessment. in: JOHNSTON, A.; BOOTH, C. (eds) *Plant pathologist's pocketbook*. 2nd ed. Kew, Commonwealth Mycological Institute, 1983. p.130-143.
- KAMPMANN, H.H.; HANSEN, O.B. Using colour image analysis for quantitative assessment of powdery mildew on cucumber. *Euphytica* 79: 19-27, 1994.
- KOKKO, E.G.; CONNER, R.L.; KOZUB, G.C.; LEE, B. Effects of common root rot on discoloration and growth of the spring wheat root system. *Phytopathology* 85: 203-208, 1995.
- KOKKO, E.G.; CONNER, R.L.; KOZUB, G.C.; LEE, B. Quantification by image analysis of subcrown internode discoloration in wheat caused by common root rot. *Phytopathology* 83: 976-981, 1993.
- KOKKO, E.G.; CONNER, R.L.; LEE, B.; KUZYK, A.D.; KOZUB, G.C. Quantification of common root rot in resistant and susceptible barley by image analysis. *Canadian Journal of Plant Pathology* 22: 38-43, 2000.
- KRANZ, J. Measuring plant disease. In: KRANZ, J.; ROTEM, J. (eds.) *Experimental techniques in plant disease epidemiology*. Berlin, Springer-Verlag, 1988. p. 35-50.
- KUEHNI, R.G. *Color. An introduction to practice and principles*. New York, John Wiley; Sons, 1997. 186p.
- LARGE, E.C. Measuring plant disease. *Annual Review of Phytopathology*, 4: 9-28, 1966.
- LEISTER, D.; VAROTTO, C.; PESARESI, P.; NIWERGALL, A.; SALAMINI, F. Large-scale evaluation of plant growth in *Arabidopsis thaliana* by non-invasive image analysis. *Plant Physiol. Biochem.* 37: 671-678, 1999.
- LIBERATO, J.R.; VENTURA, J.A.; COSTA, H. Instruções básicas para coleta e envio de material para exame fitopatológico. Campos dos Goytacazes, RJ: UENF, 1996. 16p. (UENF - CCTA, Boletim Técnico, 7).
- LI-COR Inc. LI-3100 area meter. Instruction manual. Lincol, NE: 1996. 30p.
- LIER, Q.J. Van; SPAROVEK, G.; VASQUES FILHO, J. Análise de imagens utilizando um "scanner" manual: aplicações em agronomia. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.17, n.3, p.479-482, 1993.
- LINDOW, S.E.; WEBB, R.R. Quantification of foliar plant disease symptoms by microcomputer-digitized video image analysis. *Phytopathology* 73: 520-524, 1983.
- LINDOW, S.E. Estimating disease severity of single plants. *Phytopathology*, 73: 1576-1581, 1983.
- LORENZINI, G.; NALI, C.; DOTA, M.R.; MARTORANA, F. Visual assessment of foliar injury induced by ozone on indicator tobacco plants: a data quality evaluation. *Environmental Monitoring and Assessment*, 62: 175-191, 2000.
- LOURENÇÃO, A.L.; PEREIRA, J.C.V.N.; MIRANDA, M.A.C.; AMBROSANO, G.M.B. Avaliação de danos causados por percevejos e por lagartas em genótipos de soja de ciclos precoce e semiprecoce. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35: 879-886, 2000.
- LOWMAN, M.D. An Assessment of techniques for measuring for measuring herbivory: is a rainforest defoliation more intense than we thought? *Biotropica*, 16: 264-268, 1984.

- MADDEN, L.V. Statistical analysis and comparison of disease progress curves. In: LEONARD, K.J. & FRY, W.E. Plant disease epidemiology. V.1. New York, MacMillan Publishing Co, 1986. p. 55-84.
- MARQUES FILHO, O.; VIEIRA NETO, H. Processamento de imagens digitais. Rio de Janeiro, Brasport, 1999. 409p.
- MARTIN, D. P.; RYBICKI, E. P. Microcomputer-based quantification of maize streak virus symptoms in *Zea mays*. *Phytopathology* 88: 422-427, 1998.
- MARUTHI, M.N.; COLVIN, J.; SEAL, S.; GIBSON, G.; COOPER, J. Co-adaptation between cassava mosaic geminiviruses and their local vector populations. *Virus Research* 86: 71–85, 2002.
- MELZER, R.; BERTON, O. Sistema de alerta para o controle da sarna da macieira. Florianópolis, EMPASC, 1989. 75p.
- MILLER, T. C., GUBLER, W. D., GENG, S.; RIZZO, D. M. Effects of temperature and water vapor pressure on conidial germination and lesion expansion of *Sphaerotheca macularis* f. sp. *fragariae*. *Plant Disease*, 87:484-492, 2003.
- MOL, L.; MEIJER, E.M.J. Quantification of microesclerotia of *Verticillium dahliae* in plant material by image analysis. *European Journal of Plant Pathology*, 101: 705-709, 1995.
- NEBLETTE, C.B. (1927) Aerial photography for the study of plant diseases. *Photo-Era Magazine*, 58, 346.
- NETER, J., KUTNER, M.H., NACHTSHEIM, C.J. & WASSERMAN, W. Applied linear statistical model. 4 ed. Chicago. Richard D. Irwin, Inc. 1996. 1408p.
- NIEMIRA, B. A., KIRK, W.W.; STEIN, J. M. 1999. Screening for late blight susceptibility in potato tubers by digital analysis of cut tuber surfaces. *Plant Disease*, 83:469-473, 1999.
- NILSSON, H.E. Remote sensing and image analysis in plant pathology. *Annual Review of Phytopathology*, 15: 489-527, 1995.
- NOGUEIROL, R.C.; MATTA, F.P., MORAES, M.C.; ROSSIN, R.; PAGGIARO, F.A.; PIEDADE, S.M.E.; VIEIRA, M.L.C. Avaliação de metodologias utilizadas para medição das lesões foliares em maracujá amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg.) causadas por *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*. In.: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 6., 2003. Campos dos Goytacazes, RJ: UENF/UFRRJ, 2003. Resumo 79 (cd-rom).
- NUTTER Jr., F.W.; WORAWITLIKIT, O. Disease Pro: a computer programme for evaluation and improving a person's ability to assess disease proportion. *Phytopathology* 79: 1135, 1989 (Abstract).
- NUTTER, Jr. F.W.; SCHULTZ, P.M. Improving the accuracy and precision of disease assessments: selection of methods and use of computer-aided training programs. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 17: 2, 174-184, 1995.
- NUTTER, Jr. F.W. et al. Assessing the accuracy, intra-rater repeatability, and inter-rater reliability of disease assessment systems. *Phytopathology*, 83: 806-812, 1993.
- OLIVEIRA, C. A.; POZZA, E. A.; OLIVEIRA, V. B.; SANTOS, R. C.; CHAVES, Z. M. Escala diagramática para avaliação da severidade de cercosporiose em folhas de cafeeiro. In: Simpósio Brasileiro de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2. 2001. Vitória, ES. Anais. Brasília, D.F. : Embrapa Café, 2001. (CD-ROM), p. 1151-1157
- OLMSTEAD, J. W.; LANG, G.A. Assessment of severity of powdery mildew infection of sweet cherry leaves by digital image analysis. *Hortscience* 36: 107-111. 2001.
- OLSSON, S. Mycelial density profiles of fungi on heterogeneous media and their interpretation in terms of nutrient reallocation patterns. *Mycological Research* 99: 143-153, 1995.
- PAGGIARO, F.A., MATTA, F.P., MORAES, M.C., OLIVEIRA, E.J., HANAI, L.R., VIEIRA, M.L.C. Mapeamento de qrl para *xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* em maracujá-amarelo In.: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 6., 2003. Campos dos Goytacazes, RJ: UENF/UFRRJ, 2003. Resumo 78 (cd-rom).

- PAMBOUKIAN, C.R.D.; GUIMARÃES, L.M.; FACCIOTTI, M.C.R. Applications of image analysis in the characterization of *Streptomyces olindensis* in submerged culture. *Brazilian Journal of Microbiology* 33:17-21, 2002.
- PARKER, S.R.; SHAW, M.W.; ROYLE, D.J. Reliability measurement of disease severity. *Aspects of Applied Biology*, 43: 205-214, 1993.
- PARKER, S.R.; SHAW, M.W.; ROYLE, D.J. The reliability of visual estimates of disease severity on cereal leaves. *Plant Pathology* 44: 856-864, 1995.
- PEI, M.H.; RUIZ, C.; HUNTER, T.; ARNOLD, G. M.; BAYON, C. Quantitative relationships between inoculum of *Melampsora larici-epitea* and corresponding disease on *Salix*. *Plant Pathology* 51: 443-453, 2002.
- REIS, E. M. Manual de identificação e quantificação de doenças do trigo. Passo Fundo, RS: Agroalpha, 1994. 59p.
- RIBEIRO DO VALE, F.X.; ZAMBOLIM, L.; CHAVES, G. M. Epidemiologia aplicada ao controle de doenças de plantas. Brasília, ABEAS, 1994. 108p. (ABEAS. Curso de proteção de plantas. módulo 5. Controle de doenças de plantas. Módulo 5.2.)
- ROSENFELD, A. From Image Analysis to Computer Vision: An Annotated Bibliography, 1955-1979. *Computer Vision and Image Understanding* 84, 298-324, 2001.
- ROSSIELLO, R.O.P.; ARAÚJO, A.P.; MANZATTO, C.V.; FERNANDES, M.S. Comparação dos métodos fotoelétricos e da interseção na determinação de área, comprimento e raio médio radicular. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 30: 633-638, 1995.
- RUSS, J.C. The image processing handbook. Boca Raton, CRC Press, 1995. 2 ed. 674p.
- SAH, D.N.; FEHRMANN, H. Virulence patterns of geographically differing isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* and sources of resistance in wheat. *Plant Disease*, 76: 712-6, 1992.
- SEEM, R.C. Disease incidence and severity relationships. *Annual Review of Phytopathology*, 22: 133-150, 1984.
- SEEM, R.C. Disease incidence and severity relationships. *Annual Review of Phytopathology* 22:133-150. 1984.
- SHANE, W.W.; THOMPSON, C.F.; THENG, P.S. AREAGRAM. A standard area diagram program for the Apple computer. *Phytopathology* 75: 1363, 1985. (Abstract).
- SHANER, G. Growth of uredinia of *Puccinia recondita* in leaves of slow- and fast-rusting wheat cultivars. *Phytopathology*, 73: 931-935, 1983.
- SHERWOOD, R.T.; BERG, C.C.; HOOVER, M.R.; ZEIDERS, K.E. Illusions in visual assessment of *Stagonospora* leaf spot of orchardgrass. *Phytopathology* 73: 173-177, 1983.
- SHOKES, F.M.; BERGER, R.D.; SMITH, D.H.; RASP, J.M. Reliability of disease assessment procedures: A case study with late leafspot of peanut. *Oléagineux* 42: 245-251, 1987.
- SHTIENBERG, D. Rational suppression of sunflower rust: development and evaluation of an action threshold. *Plant Disease* 79: 506-510, 1995.
- SILVA, M.B.; JESUS Jr., W.C. Monitoramento espaço-temporal: uma ferramenta no manejo integrado de doenças. in: ZAMBOLIM, L. (ed.) Manejo integrado. Doenças, pragas e plantas daninhas. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2000, p.127-168.
- SILVEIRA, A.J. Crescimento de mudas de café (*Coffea arabica* L. cv. Bourbon) sob diferentes níveis de luz, em condições naturais. Viçosa : UFV, Impr. Univ., 1972. 29p. : il. (Dissertação - mestrado em Fitotecnia)
- SMITH, D.N. ; KING, W.J.; TOPPER, C.P; MHANDO, H.; COOPER, J.F. Studies on spray deposition on cashew trees in Tanzania with reference to the use of fungicides to control *Oidium anacardii* *Crop Protection* 16: 313-322, 1997.
- SMITH, P.M.; LAST, F.T.; KEMPTON, R.J.; GISBORNE, J.H. Tomato leaf mould. Its assessment and effects on yield. *Ann. Applied Biology* 63: 19-26, 1969.

- SMITH, S. E.; DICKSON, S. Quantification of active vesicular-arbuscular mycorrhizal infection using image analysis and other techniques. *Australian Journal of Plant Physiology* 18: 637-648, 1991.
- STAMPS, W.M.T.; LINIT, M.J. A rapid and simple method for staining lipid in fixed nematodes. *Journal of nematology*, 27: 244-247, 1995.
- STATSOFT, INC. Statistica for Windows [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft Inc., 2000. (<http://www.statsoft.com>).
- STONEHOUSE, J. Assessment of andean bean diseases using visual keys. *Plant pathology*, 43: 519-527, 1994.
- SUBBARAO, K.V.; MICHAILIDES, T.J. Effects of temperature on isolates of *Fusarium moniliforme* causing fig endosepsis and *Aspergillus niger* causing smut. *Phytopathology*, 85:662-668, 1995.
- TAUBENHAUS, J.J.;EZEKIEL, W.N.; NEBLETTE, C.B. Airplane photography in the study of cotton root rot. *Phytopathology*, 19: 1025-1029, 1929
- TENG, P.S.; JAMES, W.C. Disease and yield loss assessmen. Waller, J.M.; Lenné, J.M.; Waller, S.J. (eds) *Plant pathologist's pocketbook*. 3nd ed. Egham, CABI Bioscience, 2001. p.25-38.
- TODD, L.R.; KOMMEDAHL, T. Image analysis and visual estimates for evaluating disease reactions of corn to *Fusarium* stalk rot. *Plant Disease*, 78: 876-878, 1994.
- TOMERLIN, J.R.; HOWELL, C.A. DISTRAIN: a computer program for training people for estimate disease severity on cereal leaves. *Plant Disease*, 72: 155-159, 1988.
- TUCKER, C. C.; CHAKRABORTY, S. Configuration of "ASSESS" to measure rust severity on sugarcane and sunflower. *Acta Horticulturae*. n. 562, 397-400, 2001.
- TUCKER, C. C.; CHAKRABORTY, S. Quantitative assessment of lesion characteristics and disease severity using digital image processing. *Journal of Phytopathology*, 145: 273-278. 1997.
- URCHEI, M.A; RODRIGUES, J.D.; STONE, L.F. análise de crescimento de duas cultivares de feijoeiro sob irrigação, em plantio direto e preparo convencional. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35: 497-506, 2000.
- VALE, F.X.R. , FERNANDES FILHO, E.I.F.; LIBERATO, J.R. QUANT - A software for plant disease severity assessment. *International Congress of Plant Pathology*, 8. Christchurch, ISPP, 2003, p.105. (Abstract 8.18).
- VALE, F.X.R.; FERNANDES FILHO, E.I.; LIBERATO, J.R. & ZAMBOLIM, L. QUANT. A software to quantify plant disease severity. in: **International Workshop on Plant Disease Epidemiology**, 8, 2001. Ouro Preto. proceedings. Ouro Preto, International Society of Plant Pathology, 2001. p.160.
- VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, L.; CHAVES, G. M. Epidemiologia aplicada ao controle de doenças de plantas. Brasília, ABEAS, 1994. 108p. (ABEAS. Curso de proteção de plantas. módulo 5. Controle de doenças de plantas. Módulo 5.2.)
- VANDERPLANK, J.E. *Plant disseses: epidemics and control*. New York, Academic Press, 1963. 349p.
- WATSON, G.; MORTON, V.; WILLIANS, R. Standardization of disease assessment and product performance reporting: an industry perspective. *Plant Disease* 74:401-402, 1990.
- WEBER, G.E.; JÖRG, E. Errors in disease assessment – A survey. *Phytopathology* 81:1238, 1991. (Abstract 794).
- WILCKEN, C.F.; MORAES, R.C.B.; HADDAD, M.L.; PARRA, J.R.P. Técnica de medição de área foliar consumida por insetos através de digitalizador de imagens. *Scientiae Agricola*, 55, 2, 1998.

- ZADOKS, J.C. IPM philosophy: an appraisal of pros and cons in botanical epidemiology. in: International Workshop on Plant Disease Epidemiology, 8, 2001. Ouro Preto. proceedings. Ouro Preto, International Society of Plant Pathology, 2001. p.76-88.
- ZHANG, N.; WANG, L.; THIERSTEIN, G.E. Measuring nozzle spray uniformity using image analysis. Transactions of the ASAE, 37: 381-387, 1994.

ANEXO

DESENVOLVIMENTO DO SOFTWARE QUANT⁰

Serão apresentadas informações sobre o desenvolvimento do QUANT, noções básicas sobre cores e imagens digitais e os procedimentos disponíveis para que os usuários possam melhor compreender e aproveitar todo o potencial de uso deste software.

DIGITALIZAÇÃO E RESOLUÇÃO DE IMAGENS

Imagens podem ser digitalizadas em câmeras de vídeo e fotográfica digitais e em digitalizadores tipo mesa (“scanner”). Durante o processo de obtenção das imagens, recomenda-se o uso de uma caixa de isopor forrada de papel cartão de cor preto fosco, colocada em cima da área de aquisição de imagem do digitalizador tipo mesa, para que o fundo da imagem digitalizada fosse de cor preto, evitando assim a formação de um gradiente de cores na borda da folha.

Imagens digitais são consideradas uma matriz de m linhas e n colunas, onde cada ponto é um retângulo denominado pixel (do inglês *picture element* - elemento da imagem) e constitui a menor unidade da imagem, sendo seu limite de resolução, a qual tradicionalmente é expressa em dpi (do inglês *dot per inch* – pontos por polegada) (Figura 1). O pixel contém informação sobre a luz refletida naquela particular parte da imagem. Em imagens obtidas por meio de digitalizadores tipo mesa, o número de

pixels e a área real de cada pixel é função da resolução calibrada previamente no aparelho (Tabela 1), cujo valor é armazenado no arquivo da imagem e, posteriormente, reconhecido automaticamente pelo QUANT. Assim, em imagens obtidas via digitalizadores de mesa, é possível determinar as reais medidas lineares ou de área. Em imagens obtidas por câmeras digitais, o tamanho real do pixel depende da distância do objeto fotografado. Então, é necessário ter um objeto de tamanho conhecido (por exemplo, uma régua) junto ao principal objeto a ser fotografado. Isso permitirá que o usuário do QUANT determine a resolução da imagem e obtenha as reais medidas da imagem.

O Quant pode processar diferentes formatos de imagens, sendo os mais comuns TIFF, JPEG e BMP (Windows bitmap).

TAMANHO DO ARQUIVO DA IMAGEM

O processo de digitalização da imagem associa um valor discreto (inteiro), entre 0 a 2^m-1 , a cada pixel de uma imagem em tons de cinza. Onde m é o número de bits da imagem (profundidade do pixel). Cada valor corresponde a um nível de cinza. Atualmente, a maioria dos equipamentos de digitalização de imagens possibilita 8 bits. Mas alguns já disponibilizam valores maiores. Em imagens de 8 bits, cada pixel pode assumir valores entre zero e 255, onde zero, corresponde ao preto, 255, ao branco, e os demais valores, a diferentes tons de cinza (Gonzales & Woods, 2000; Marques Filho & Vieira Neto, 1999). Para imagens coloridas no sistema RGB, para cada uma das três coordenadas de cores são atribuídos 8 bits e a imagem é dita possuir 24 bits. Esse tipo de imagem pode possuir até 256^3 cores.

O tamanho do arquivo das imagens digitais é medido em bytes (b), que é a menor unidade de informação, sendo função do número de pixels da imagem e do número de bits associados a cada pixel (Marques Filho & Vieira Neto, 1999). Um byte equivale a 8 bits e 1 Kbyte (Kb) equivale a 2^{10} bytes (= 1024 bytes) (Tabela 2).

PERCEPÇÃO E REPRESENTAÇÃO DE CORES

Radiações eletromagnéticas com comprimento de onda de cerca de 400 a 700 nm podem ser detectadas pelos fotorreceptores do olho humano e são denominadas luz (Kuehni, 1997). A radiação global solar que atinge a superfície da terra tem comprimento de onda variando entre cerca de 300 e 3.000 nm, sendo que a luz representa cerca de metade dessa radiação incidente (Goudriaan & Van Laar, 1994).

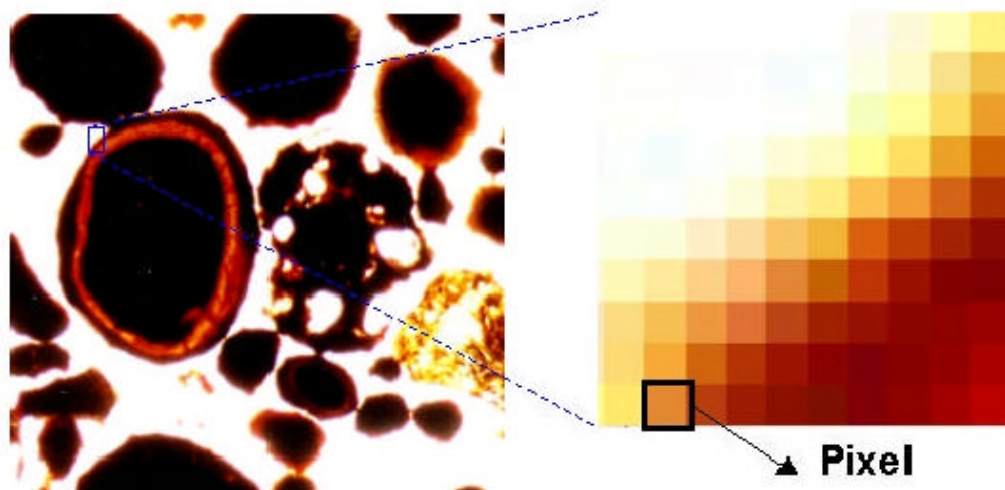


Figura 1 – Imagem original (microfotografia de agregados vistos em microscópio ótico) e detalhe desta, mostrando os pixels. Fonte: Viana (2001), com permissão.

Tabela 1. Área representada por cada pixel em uma imagem obtida via scanner, em função de diferentes resoluções

Resolução (dpi)*	Pixels / cm ²	Lado do pixel (mm)	Área do pixel (mm ²)
75	872	0,339	0,1147
100	1.550	0,254	0,0645
150	3.488	0,169	0,0287
200	6.200	0,127	0,0161
250	9.688	0,102	0,0103
300	13.950	0,085	0,0072
600	55.800	0,042	0,0018

* dpi – pixels por polegada linear (1 polegada = 2,54 cm).

Tabela 2. Tamanho (Kb) de arquivos para 1 cm² de imagem, em função da resolução

Tipo de imagem	Dpi ¹				
	75	100	200	300	600
Imagens em tons de cinza ²	0,85	1,51	6,05	13,62	54,49
imagens RGB ³	2,55	4,54	18,16	40,87	163,48

¹ dpi = pixels por polegada linear. ² 8 bits; ³ 24 bits.

Cor é uma sensação resultante da interação entre luz, materiais e o sistema visual – olho e cérebro. As diferentes percepções do comprimento de onda dominante são descritas com nomes de cor: azul, amarelo, verde, roxo, verde, laranja etc. A retina do olho humano contém dois tipos de receptores foto-sensível, denominados bastonetes e cones, sendo seis a sete milhões de cones, responsáveis pela visão colorida e 75 a 150 milhões de bastonetes que não distinguem cor, mas são sensíveis a baixos níveis de iluminação (Marques Filho & Vieira Neto, 1999; Gonzalez & Woods, 2000). Cada cone possui um dentre três diferentes fotorreceptores com picos de sensibilidade a comprimentos de onda de luz que nós denominamos vermelho (580 nm) (sensor ρ), verde (540 nm) (sensor γ) e azul (450 nm) (sensor β). A luz em qualquer comprimento de onda do espectro visível (400 a 700 nm) excita um ou mais desses conjuntos de sensores. A percepção de qual cor está sendo vista é determinada por qual combinação de sensores está sendo excitada e pela intensidade da excitação. O maior número de sensações de cores pode ser obtido escolhendo três comprimentos de onda de cores primárias que, quando misturadas em proporções e intensidade variadas, permite a obtenção de todas as outras.

O QUANT utiliza dois modelos para representar numericamente as cores: RGB e HSV.

O modelo RGB de cores

O modelo RGB assume que o sistema visual humano possui três diferentes tipos de fotorreceptores, que definem um espaço tridimensional (cubo) de cores, onde cada cor é representada por um ponto nesse espaço. Este cubo tem o branco como um vértice diretamente oposto ao preto, e três cores primárias (vermelho (R), verde (G) e azul (B)) como arestas. Cada eixo representa uma luz primária, com escala de valores discretos entre zero e 255, dependendo da intensidade luminosa. Cada ponto no cubo representa uma cor, que possui três coordenadas (R, G e B) (Marques Filho & Vieira Neto, 1999). Neste modelo são disponibilizados oito bits para cada coordenada e a imagem colorida tem 24 bits. Assim, existem $256^3 (= 2^{3m})$ cores, ou seja, 16.777.216 de cores distintas (Figura 2). Valores zero para as três coordenadas representam o preto, valores de 255 representam o branco e valores iguais entre 1 e 254, representam o cinza. Assim, existem 254 tons de cinza. Coordenadas diferentes representam diferentes cores. RGB é conhecido como modelo aditivo. As demais cores podem ser obtidas misturando-se as três cores básicas, azul, verde e vermelho, em várias proporções e intensidades.

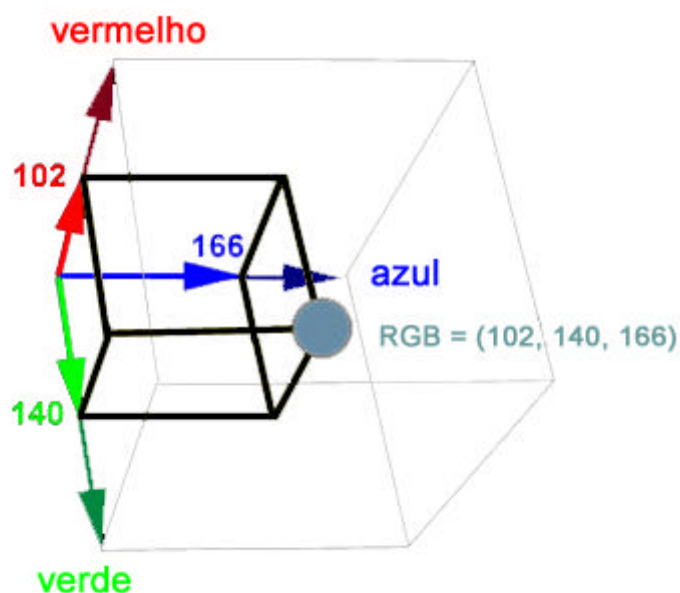


Figura 2. Representação gráfica do modelo RGB de cores.

O modelo HSV de cores

Esse modelo possui três atributos: matiz ou tonalidade (H), saturação (S) e value (valor) (V) (Kuehni, 1997).

Matiz (hue): é um atributo de uma percepção de cor, um aspecto qualitativo indefinível. São os nomes tradicionais das cores de um específico comprimento de onda. (ex: vermelho, laranja, verde ou azul). Todas as cores do espectro são matizes. Existem limitados nomes de matizes: vermelho, laranja, amarelo, verde, azul e violeta. Magenta e ciano também são matizes. Existem cores sem matiz, denominadas acromáticas: branco, preto e cinzas. Todas as demais cores são denominadas cromáticas e tem matiz. As matizes são organizadas em um círculo de cores, onde os números matizes (1 a 360) descrevem a posição da cor no espectro. Diferentes comprimentos de ondas monocromáticos são diferentes matizes.

Saturação: é a quantidade de pureza da cor. Varia de 0 (cinza) a 100% (completamente saturada). Uma vez determinada a matiz (tonalidade) de uma cor, pode-se alterá-la através da mistura com a cor branca. Quanto menos branco a cor contém, mais saturada ela é.

“Value”: corresponde à intensidade da cor, mensurado de zero (preto) a 100%. O valor de 100% é a maior intensidade que uma cor pode ter, em uma particular saturação. Só corresponde ao branco quando a saturação for zero.

Este modelo de cores é usado na maioria dos “diálogos” de seleção de cores, de softwares de computadores que processam imagens.

Conversão entre os modelos de cores RGB e HSV

Seja uma imagem digital uma matriz com $m \times n$ pixels, onde P_{ij} é o pixel da i -ésima linha ($i = 1, 2, \dots, m$) e da j -ésima coluna ($j = 1, 2, \dots, n$). Seja R_{ij} , G_{ij} , B_{ij} , H_{ij} , S_{ij} e V_{ij} , os valores de coordenadas de cores para o pixel P_{ij} , respectivamente, vermelho, verde e azul (modelo RGB), matiz (hue), saturação e value (modelo HSV), onde $0 \leq R_{ij} \leq 255$, $0 \leq G_{ij} \leq 255$, $0 \leq B_{ij} \leq 255$, $0 \leq H_{ij} \leq 360$, $0 \leq S_{ij} \leq 255$ e $0 \leq V_{ij} \leq 255$.

Os valores de RGB podem ser convertidos em HSV.

$$V_{ij} = \text{máximo}(R_{ij}, G_{ij}, B_{ij}).$$

$$S_{ij} = [\text{máximo}(R_{ij}, G_{ij}, B_{ij}) - \text{mínimo}(R_{ij}, G_{ij}, B_{ij})] \times 255 / V_{ij}.$$

Logo, se $R_{ij} = G_{ij} = B_{ij}$, então $S_{ij} = 0$, ou seja, as cores acromáticas, branco, preto e os 254 tons de cinza possuem saturação zero.

Se $\text{máximo}(R_{ij}, G_{ij}, B_{ij}) = R_{ij}$, então:

$$H_{ij} = 60 \times (G_{ij} - B_{ij}) / [\text{máximo}(R_{ij}, G_{ij}, B_{ij}) - \text{mínimo}(R_{ij}, G_{ij}, B_{ij})].$$

Se $\text{máximo}(R_{ij}, G_{ij}, B_{ij}) = G_{ij}$, então:

$$H_{ij} = 120 - \{60 \times (B_{ij} - R_{ij}) / [\text{máximo}(R_{ij}, G_{ij}, B_{ij}) - \text{mínimo}(R_{ij}, G_{ij}, B_{ij})]\}.$$

Se $\text{máximo}(R_{ij}, G_{ij}, B_{ij}) = B_{ij}$, então:

$$H_{ij} = 240 + \{60 \times (R_{ij} - G_{ij}) / [\text{máximo}(R_{ij}, G_{ij}, B_{ij}) - \text{mínimo}(R_{ij}, G_{ij}, B_{ij})]\}.$$

Logo, se $S_{ij} = 0$, então $H_{ij} = 0$, ou seja, o branco, o preto e os tons de cinza não possuem matiz, nem saturação.

O SOFTWARE QUANT

O software QUANT (linguagem Delphi[®], ambiente Windows[®]) tem como principal objetivo segmentar objetos em imagens digitais, para quantificar dimensões. No caso da avaliação de severidade de doenças em folhas, são segmentados o fundo da imagem (a área da imagem não ocupada pela folha), tecido sadio, clorótico e necrótico. O QUANT fornece a área foliar sadia e doente (clorótica, necrótica e, para algumas doenças, área com esporulação fúngica), a severidade, bem como o número, tamanho, forma e posição das lesões na folha.

A quantificação é uma mera contagem do número de pixels com cada cor e sua conversão em área. O sucesso do uso do QUANT (alta acurácia na estimativa da severidade de doença) depende do processo de segmentação de objetos. O QUANT

possui cinco procedimentos (técnicas) de segmentação: a) limiar preto e branco (*threshold*); b) seleção de cores por paleta; c) por intervalo de coordenadas de modelos de cores (RGB ou HSV); d) por amostragem de cores e e) por meio de funções discriminantes. Os quatro primeiros procedimentos permitem que o usuário faça a redução de cores que considerar mais eficiente. O uso de funções discriminantes permite a automação do processamento da imagem, tornando-o bem mais rápido.

Em muitos casos, previamente à segmentação, é necessário melhorar o contraste entre os objetos (por exemplo, entre a área foliar doente e sadia). Para tanto, o QUANT disponibiliza um grande número de procedimentos, a maioria dos quais foram utilizados neste estudo e são descritos a seguir.

Alteração da Qualidade de imagens digitais

Há imagens em que o sistema visual humano tem dificuldade de distinguir entre os objetos a serem segmentados ou então resultados inadequados são obtidos na segmentação de objetos na imagem original. Por exemplo, há doenças de plantas nas quais a segmentação entre área foliar sadia e lesionada é difícil. Para esses casos, o QUANT disponibiliza grande número de técnicas e opções para melhorar a qualidade da imagem previamente à sua segmentação. O principal objetivo dessas técnicas é processar uma imagem de modo que a imagem resultante seja mais adequada que a original para uma aplicação específica (Marques Filho & Vieira Neto, 1999), no caso a separação entre as áreas do fundo da imagem, a área foliar sadia e a área lesionada. Estas técnicas conferem ao usuário do QUANT grande vantagem em relação ao uso de outros softwares de processamento de imagens. Algumas operações de melhoria da qualidade de imagens são apresentadas na Tabela 4.

O filtro da mediana é usado para reduzir o ruído em imagens digitais, melhorando sua qualidade. A partir de uma imagem P , as coordenadas de cores de cada pixel Q_{ij} da nova imagem Q são calculadas em função de P_{ij} e seus vizinhos. Dado um pixel P_{ij} e os pixels que o circundam:

$P_{i-1, j-1}$	$P_{i-1, j}$	$P_{i-1, j+1}$
P_{ij-1}	P_{ij}	P_{ij+1}
$P_{i+1, j-1}$	$P_{i+1, j}$	$P_{i+1, j+1}$

O valor do pixel $Q_{i,j}$ na nova imagem será definido pela mediana dos valores desses nove pontos. A mediana é obtida ordenando-se (ordem crescente ou decrescente) os

nove pontos em um vetor e tomando o valor do ponto que está na posição central do mesmo (Marques Filho & Vieira Neto, 1999). No exemplo abaixo, o valor do pixel na nova imagem será X_5 . Esse procedimento é feito com cada uma das três coordenadas de cores RGB.

				$Q_{i,j}$				
X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	X_8	X_9

Técnicas de segmentação de objetos em imagem digital

O QUANT disponibiliza cinco técnicas de segmentação de objetos em imagens. O usuário poderá escolher a que melhor se adequar às suas necessidades, em termos de rapidez, acurácia etc. Essas técnicas são descritas a seguir.

a) Limiarização (*threshold*)

O processo de limiarização consiste em separar os pixels da imagem em duas classes, resultando em uma imagem binária (preto e branco) (Marques Filho & Vieira Neto, 1999). Para cada pixel P_{ij} da imagem original P , calcula-se um valor T_{ij} , que corresponde à luminância:

$$T_{ij} = (0,2 \times R_{ij} + 0,7 \times G_{ij} + 0,1 \times B_{ij}), \text{ sendo } 0 \leq T_{ij} \leq 255.$$

Neste procedimento define-se um valor limite (limiar, *threshold*), de modo que na imagem resultante Q , o valor das coordenadas de cores para cada pixel Q_{ij} será:

Se o limiar $\leq T_{ij}(P_{ij})$, então Q_{ij} será um vetor $R^*_{ij} = G^*_{ij} = B^*_{ij} = 255$ (branco absoluto).

Se o limiar $> T_{ij}(P_{ij})$, então Q_{ij} será um vetor (1×3) onde $R^*_{ij} = G^*_{ij} = B^*_{ij} = 0$ (preto absoluto).

A imagem Q terá duas cores e o QUANT fornecerá a área ocupada por cada uma.

Tabela 4. Algumas operações de melhoria de qualidade de imagens disponíveis no QUANT, considerando cada pixel P_{ij} , como um vetor (1 x 3) de cores [R_{ij} , G_{ij} , B_{ij}]

Imagem	Valores de coordenadas de cores nas imagens resultado
Original	R_{ij} , G_{ij} , B_{ij}
Após contraste raiz	$(255 R_{ij})^{1/2}$; $(255 G_{ij})^{1/2}$; $(255 B_{ij})^{1/2}$
Após contraste quadrado	$R_{ij}^2 / 255$; $G_{ij}^2 / 255$; $B_{ij}^2 / 255$
Após contraste logaritmo	$255 (\ln R_{ij}) / \ln 255$; $255 (\ln G_{ij}) / \ln 255$; $255 (\ln B_{ij}) / \ln 255$;
Após negativo	$255 - R_{ij}$; $255 - G_{ij}$; $255 - B_{ij}$;
Após filtro excluir brilho	Se $B_{ij} \geq 200$, então não há alteração; Se $B_{ij} < 200$, então: $B_{ij}^* = 10$; $R_{ij}^* = R_{ij} - B_{ij} / 2$; $G_{ij}^* = G_{ij} - B_{ij} / 2$, sendo $R_{ij}^* = 0$ se $R_{ij}^* < 0$ e $G_{ij}^* = 0$ se $G_{ij}^* < 0$;
Após filtro mediana	R_{ij}^* = o valor mediano de R de P_{ij} e dos oito pixels vizinhos. Idem para B_{ij}^* e G_{ij}^*
Canal vermelho	R_{ij} , R_{ij} , R_{ij}
Canal verde	G_{ij} , G_{ij} , G_{ij}
Canal azul	B_{ij} , B_{ij} , B_{ij}
Canal ciano	$R_{ij}^* = G_{ij}^* = B_{ij}^* = C_{ij}$, onde $C_{ij} = \text{máximo}(G_{ij}, B_{ij}) - R_{ij}$
Canal magenta	$R_{ij}^* = G_{ij}^* = B_{ij}^* = M_{ij}$, onde $M_{ij} = \text{máximo}(R_{ij}, B_{ij}) - G_{ij}$
Canal amarelo	$R_{ij}^* = G_{ij}^* = B_{ij}^* = Y_{ij}$, onde $Y_{ij} = \text{máximo}(R_{ij}, G_{ij}) - R_{ij}$
Canal black	$R_{ij}^* = G_{ij}^* = B_{ij}^* = K_{ij}$, onde $K_{ij} = \text{mínimo}(255 - R_{ij}, 255 - G_{ij}, 255 - B_{ij})$
Canal hue (matiz)	$H_{ij}^* = 0$; $S_{ij}^* = 0$ e $V_{ij}^* = 0,7 H_{ij}$
Canal saturação	$H_{ij}^* = 0$; $S_{ij}^* = 0$ e $V_{ij}^* = S_{ij}$
Canal value	$H_{ij}^* = 0$; $S_{ij}^* = 0$ e $V_{ij}^* = V_{ij}$
Soma entre imagem $P_{(1)}$ e $P_{(2)}$	$R_{ij}^* = R_{ij(1)} + R_{ij(2)}$; $G_{ij}^* = G_{ij(1)} + G_{ij(2)}$; $B_{ij}^* = B_{ij(1)} + B_{ij(2)}$; Sendo $R_{ij}^* = 255$ se $R_{ij}^* > 255$; $G_{ij}^* = 255$ se $G_{ij}^* > 255$; $B_{ij}^* = 255$, se $B_{ij}^* > 255$
Média entre imagem $P_{(1)}$ e $P_{(2)}$	$R_{ij}^* = [R_{ij(1)} + R_{ij(2)}] / 2$; $G_{ij}^* = [G_{ij(1)} + G_{ij(2)}] / 2$; $B_{ij}^* = [B_{ij(1)} + B_{ij(2)}] / 2$

* R_{ij}^* , G_{ij}^* , B_{ij}^* , H_{ij}^* , S_{ij}^* e V_{ij}^* são os valores da imagem resultado e R_{ij} , G_{ij} , B_{ij} , H_{ij} , S_{ij} e V_{ij} os valores da imagem original.

b) Seleção de cores por paleta;

Pode-se reduzir o número de cores da imagem original para três ou mais cores, as quais serão representados por paletas de cores em uma caixa-dialógo a parte. Clicando-se com o mouse sobre uma paleta de cor, selecionam-se automaticamente os pixels da imagem com esta cor, alterando sua cor para uma cor pré-determinada. Para este método ser eficiente, o número de cores não deverá ser muito pequeno ou muito grande. Inicialmente, recomenda-se a redução para 32 a 64 cores.

c) Seleção de cores por intervalo de coordenadas de modelos de cores

Marca-se uma área de interesse na imagem, de cujos pixels são obtidos os valores máximo e mínimo das coordenadas RGB ou das HSV. Pode-se então alterar para uma cor pré-determinada todos os pixels da imagem cujas coordenadas são abrangidas pelos intervalos de cores selecionados. Ou ao contrário, alterar a cor de todos os pixels cujas coordenadas não são abrangidas pelos intervalos.

d) Seleção de cores por amostragem de cores

Clica-se com o mouse sobre um pixel P_{ij} da imagem, o qual tem sua cor alterada para uma cor pré-determinada pelo usuário. Todos os demais pixels da imagem com as mesmas coordenadas RGB de cores serão simultaneamente selecionados. Porém, existem 256^3 cores e uma imagem com resolução de 300 dpi possui 13924 pixels / cm^2 . Portanto, provavelmente apenas uns poucos pixels (ou somente um) terão as mesmas coordenadas de cores. Para viabilizar o uso desse método, o usuário pode especificar um valor de tolerância entre 0 e 255, o que permitirá selecionar simultaneamente outros pixels com coordenadas de cores semelhantes. Quando se clica sobre um pixel, P_{ij} , simultaneamente cada um dos demais pixels $P_{i'j'}$ ($i' = 1, 2, \dots, m; j' = 1, 2, \dots, n; i' \neq i$ ou $j' \neq j$) da imagem são comparados com esse pixel inicialmente selecionado:

Se máximo $(R_{ij} - R_{i'j'}; G_{ij} - G_{i'j'}; B_{ij} - B_{i'j'}) \leq$ valor da tolerância, então o pixel $P_{i'j'}$ também é selecionado e sua cor alterada para a cor pré-determinada.

e) Seleção de cores por meio de funções discriminantes

De várias imagens representando uma mesma doença, selecionam-se várias áreas da lesão e obtêm-se os valores RGB e HSV dos pixels selecionados. Repete-se

o procedimento com relação à folha sadia e ao "fundo da imagem". A partir desses dados, gravados em um arquivo tipo texto, com o uso de um software de estatística, estimam-se funções lineares discriminantes, normalmente três: uma para lesão, uma para folha sadia e outra para fundo da imagem. Essas funções são usadas no QUANT, permitindo a redução automática do número de cores da imagem, uma cor para cada uma das três funções discriminantes (FD). Sejam as seguintes FDs:

$$FD_1 (\text{lesão, cor um}) = a_1 R_{ij} + b_1 G_{ij} + c_1 B_{ij} + d_1 H_{ij} + e_1 S_{ij} + f_1 V_{ij}.$$

$$FD_2 (\text{folha sadia, cor dois}) = a_2 R_{ij} + b_2 G_{ij} + c_2 B_{ij} + d_2 H_{ij} + e_2 S_{ij} + f_2 V_{ij}.$$

$$FD_3 (\text{fundo da imagem, cor três}) = a_3 R_{ij} + b_3 G_{ij} + c_3 B_{ij} + d_3 H_{ij} + e_3 S_{ij} + f_3 V_{ij}.$$

Onde, a, b, c, d, e e f são os coeficientes das funções discriminantes e R_{ij} , G_{ij} , B_{ij} , H_{ij} , S_{ij} e V_{ij} , são os valores das coordenadas de cores de cada pixel P_{ij} , para cada um dos quais são calculados três valores discriminantes (FD_1 , FD_2 e FD_3). O maior valor obtido determinará a nova cor do pixel na imagem resultante Q. Por exemplo, se para P_{ij} , $FD_1 > FD_2$ e $FD_1 > FD_3$, então Q_{ij} terá a cor um.

f) Seleção de áreas com o uso da "varinha mágica de seleção"

Este método é semelhante ao método de seleção de cores por amostragem (item d). Clica-se com o mouse sobre um pixel P_{ij} da imagem, o qual será selecionado. Apenas os oito pixels vizinhos serão comparados com o pixel selecionado, considerando um valor de tolerância entre zero e 255, pré-determinado pelo usuário do QUANT. Isto permitirá selecionar simultaneamente pixels vizinhos com coordenadas de cores semelhantes. Quando se clica sobre um pixel, P_{ij} , simultaneamente cada um dos oito pixels vizinhos $P_{i'j'}$ ($i' = 1, 2, \dots, m$; $j' = 1, 2, \dots, n$; $i' \neq i$ ou $j' \neq j$; $i' = i \pm 1$ e $j' = j \pm 1$) são comparados com esse pixel inicialmente selecionado:

Se máximo $(R_{ij} - R_{i'j'}; G_{ij} - G_{i'j'}; B_{ij} - B_{i'j'}) \leq$ valor da tolerância, então o pixel vizinho $P_{i'j'}$ também é selecionado.

Cada novo pixel incluído na seleção tem os seus pixels vizinhos comparados com o primeiro pixel selecionado P_{ij} , segundo o critério acima. Desta maneira, uma área de pixels contíguos pode ser selecionada e as cores de seus pixels alteradas para uma única cor.