

VALIDAÇÃO DO MÉTODO DAS NOTAS PARA QUANTIFICAÇÃO DA INCIDÊNCIA DA MANCHA FISIOLÓGICA DO MAMÃO ATRAVÉS DO USO DE IMAGENS DIGITAIS¹

AROLDO GOMES FILHO², JURANDI GONÇALVES DE OLIVEIRA³, ALEXANDRE PIO VIANA³, PEDRO CORRÊA DAMASCENO JUNIOR², MESSIAS GONZAGA PEREIRA³

RESUMO - Neste experimento, utilizou-se o software *ImageJ* versão 1.32j para quantificar a incidência da Mancha Fisiológica do Mamão (MFM) no intuito de aferir o método das notas, visto que o mesmo é um método subjetivo. O experimento consistiu de um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x6, com três cultivares (Golden, Diva e Tainung 01) e seis notas (notas de 0 a 5, sendo 0 para a ausência de incidência da MFM e 5 para a ocorrência máxima de incidência da MFM), sendo os resultados interpretados estatisticamente por meio de análises de variância e de regressão. Foram amostrados 10 frutos para cada cultivar, dentro de cada nota, totalizando assim 180 frutos analisados, sendo os resultados avaliados através do programa Genes. Os resultados mostram que o método das notas pode ser utilizado com segurança, tendo o mesmo se mostrado bastante preciso para quantificar o nível de incidência da MFM.

Termos para indexação: análises de imagens digitais; escala de notas.

VALIDATION OF THE METHOD OF NUMERICAL SCALE FOR INCIDENCE QUANTIFICATION OF SKIN FRECKLES ON PAPAYA THROUGH THE USE OF DIGITAL IMAGES

ABSTRACT - In this experiment the *ImageJ* software version 1.32j was used to quantify the incidence of the skin freckles on papaya with the objective of survey the method of numerical scale, since the same it a subjective method. The experiment consisted of a completely randomized design in a factorial arrangement of 3x6, with three cultivars (Golden, Diva and Tainung 01) and six numerical values (from 0 to 5; being 0 to the absence of skin freckles incidence and 5 to the maximum occurrence of skin freckles incidence). The results were statistically interpreted using regression analysis and single factor analyses of variance. It was sampled 10 fruits per cultivar, and per numerical value, totalizing 180 analyzed fruits being the results evaluated through the Genes software. The results show that the numerical scale method can be used, since it provides trusting results, being well precise to quantify the level of skin freckles incidence on papaya.

Index terms: digital image analysis; numerical scale method.

INTRODUÇÃO

O distúrbio conhecido como Mancha Fisiológica do Mamão (MFM) é considerado um dos principais entraves à exportação dos frutos de mamão pelos produtores brasileiros, comprometendo o aspecto estético do fruto e menor aceitação do produto no mercado consumidor, apesar de não alterar qualquer atributo nutricional do fruto (Kaiser et al., 1996).

A MFM é um distúrbio verificado em maior intensidade na face dos frutos exposta à radiação solar direta, sendo sua causa, segundo Liberato & Zambolim (2002), atribuída a fatores abióticos. Na década de 60, o distúrbio já era relatado em plantios comerciais (Ishii & Holtzmann, 1963), sendo caracterizado, posteriormente, pela presença de manchas de coloração mais escura em relação à epiderme do fruto (Eloísa et al., 1994). De acordo com Kaiser et al. (1996), as manchas são visíveis desde frutos verdes até os maduros.

Atualmente, o monitoramento da incidência da MFM é feito através de métodos subjetivos, como a aplicação de notas conforme a severidade do distúrbio, o método das notas consiste em atribuir notas de 0 a 5 de acordo com a severidade na incidência da MFM na casca dos frutos; entretanto, este método aplicado por Oliveira et al. (2005) é altamente dependente da análise crítica do avaliador. Já Cruz Lima (2003) utilizou o método das quadrículas, que é a utilização de uma tela transparente de 7,5 x 7,5 cm (contendo 900 quadrículas, de 6,25 mm² cada); essa tela é posicionada sobre o fruto, no terço médio, quando então é contado o número de quadrículas ocupadas com a MFM. Porém, este método proporciona um desgaste visual do avaliador, o que pode resultar em erros de avaliações. Nenhum dos dois métodos acima descritos, para a quantificação da MFM, foram aferidos através de métodos quantitativos menos sujeitos às subjetividades.

Dessa forma, a determinação da incidência da MFM ainda

necessita de uma aferição dos métodos utilizados, ou mesmo de um método mais confiável e eficaz de determinação. Fonseca (2000) relata que o processamento digital de imagens pode ser aplicado em diversas áreas, como, por exemplo, na geologia, agricultura, análise ambiental, meteorologia, biomédica e astronomia.

Na agricultura, diversos autores utilizam a análise de imagens digitais, dentre os quais Zhang et al. (2003) avaliaram a mudança de coloração durante a vida de prateleira de seis variedades de chicória sob diferentes temperaturas de conservação; Lupetti et al. (2005) utilizaram a análise digital para a quantificação do escurecimento de tecidos vegetais; Tanska et al. (2005) utilizaram o método das análises digitais para identificar a coloração ou as impurezas de sementes de cereais e Moya et al. (2005) utilizaram a análise digital de imagens para a validação do método de análise visual da severidade de míldio em abóbora; entretanto, este último não obteve uma boa confiabilidade devido a problemas na resolução das imagens digitais.

O presente trabalho teve como objetivo comparar as mensurações da incidência da MFM utilizando a atribuição de notas em função da severidade de sintoma, mediante processamento digital de imagens, com a finalidade de estabelecer uma aferição do método das notas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material Vegetal - O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Análises Pós-Colheita da Empresa Caliman Agrícola S/A, localizado no município de Linhares, no norte do Estado do Espírito Santo. Utilizou-se de frutos de mamão Golden e Diva do grupo "Solo" e da cv. Tainung 01 do grupo "Formosa", provenientes de um pomar comercial da empresa, em plena produção. Os frutos foram colhidos no estágio É de maturação, acondicionados em caixas plásticas no

¹ (Trabalho 21-2006). Recebido: 07-03-2006. Aceito para publicação: 06-10-2006.

² Pós-graduando em Genética e Melhoramento de Plantas – UENF. E-mail: agomes@uenf.br

³ Professor Associado do Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal – UENF. E-mail: jugo@uenf.br

campo e, posteriormente, levados ao laboratório onde foram avaliados quanto ao nível de incidência da MFM através do método das notas (Oliveira et al., 2005).

O método das notas consiste em atribuir notas de 0 a 5, de acordo com a severidade na incidência da MFM na casca dos frutos: nota 0, nenhuma mancha; nota 1, muito baixa ocorrência; nota 2, baixa ocorrência; nota 3, média ocorrência; nota 4, alta ocorrência; e finalmente, a nota 5 para muito alta ocorrência da mancha (Figura 1). Posteriormente, cada fruto foi fotografado para a obtenção e análise das imagens digitais.

Obtenção das Imagens - As imagens digitais foram obtidas utilizando-se uma câmera digital da marca Sony, modelo DSC-P31 com 2.0 mega pixels de resolução. As fotos foram registradas com uma resolução de 640 x 480 pixels, respeitando, sempre, uma distância fixa de 15 cm entre a superfície do fruto e a objetiva da câmara.

Processamento e Avaliação das imagens digitais - As imagens digitais foram avaliadas pelo Software *ImageJ* versão 1.32j (Wayne Rasband National Institute of Health, USA). Para a avaliação das imagens, foi delimitado na foto um retângulo com área de 14,56 cm², na região central da mesma, para posterior quantificação das seguintes características: 1) número de pontuações - correspondente ao número de manchas (NM); 2) tamanho médio das pontuações em cm² (TM), e 3) área total da superfície da casca, amostrada, e ocupada pela mancha em cm² (AT).

As imagens obtidas possuíam 1,2 MB em RGB, sendo reduzidas para 300 KB com 8 bits. A seguir, no menu *Análise/Set Scale*, foi definida a escala de 1cm para cada fotografia com a função *Know Distance*, sendo a mesma utilizada na análise computacional. Após esses primeiros passos, as imagens passaram por um filtro utilizando a ferramenta *Bandpass Filter*, no menu *Process/FFT*. A seguir, a imagem foi submetida a uma inversão nas tonalidades de branco e preto, utilizando a ferramenta *Edit Lut* no menu *Image/Color*. Na próxima etapa, as imagens foram binarizadas, utilizando-se da ferramenta *Threshold*, no menu *Process/Binary*, com nova inversão das tonalidades de branco e preto, utilizando, uma vez mais, a ferramenta *Edit Lut* no menu *Image/Color*. Após estes passos, analisaram-se as fotos com o auxílio da ferramenta *Analyse Particles*, no menu *Analyse*, definindo o mínimo de 1 e o máximo de 10.000 pixels para a leitura. Encerrado o processamento das imagens, as mesmas foram avaliadas quanto às características anteriormente descritas.

Área da casca dos frutos - A área da casca dos frutos foi estimada a partir de uma extrapolação para a área de uma figura geométrica regular. A superfície de um cone foi adotada como a mais aproximada em relação à forma dos frutos, para as três cultivares, onde sua forma planificada equivalente corresponde à do trapézio. Dessa forma, adotou-se como base menor do trapézio o perímetro menor do fruto (a) - medido na região proximal do fruto - e como base maior o perímetro maior do fruto (b) - medido no ponto de maior calibre do fruto. A altura (h) foi obtida medindo-se a distância entre as regiões proximal (pedúnculo) e distal (cicatriz do estigma) do fruto. A área estimada do fruto (A_e) então foi determinada pela equação 1:

$$A_e = (a + b) \times h / 2 \quad (\text{Eq. 1})$$

A fim de obter correlação entre a área estimada e a área real da casca dos frutos, os mesmos foram totalmente descascados para a leitura da superfície total no medidor de área foliar de bancada, modelo LI-3100 (LI-COR, Lincoln, NE, USA). Os dados mostraram uma correlação superior a 50% entre a área estimada e a superfície real dos frutos (dados não apresentados), sendo então adotada a estimativa da área da casca dos frutos a partir de medidas do perímetro

maior, perímetro menor e comprimento do fruto, para a obtenção da área de casca dos frutos.

Delineamento Experimental - O experimento foi conduzido seguindo um delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x6, com três cultivares e seis notas (notas de 0 a 5), sendo os resultados interpretados estatisticamente por meio de análises de variância, regressão e teste de médias. Foram amostrados 10 frutos para cada cultivar, dentro de cada nota, totalizando assim 180 frutos analisados. Os resultados foram analisados com o auxílio do programa Genes (Cruz, 2001). As análises de regressão e teste de médias foram comparadas entre si, pelo teste Tukey, adotando-se 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a análise de variância (ANOVA) demonstrada na Tabela 1, de modo geral, houve efeito significativo entre as fontes de variação para todas as variáveis estudadas. Esses dados mostram que houve diferenças confiáveis (P<0,05) entre as notas, para todos os parâmetros avaliados, indicando que o método das notas tem boa eficiência na distinção entre níveis de incidência da MFM para as diferentes cultivares estudadas.

Os resultados da Figura 2A mostram a relação entre as notas de incidência do distúrbio e o número de manchas registrado através das imagens digitais, para as cultivares em estudo. Os dados mostram que a atribuição de notas, de acordo com a severidade na incidência da MFM, correlacionou-se, significativamente (R>0,98) ao número de manchas na superfície do fruto amostrada, independentemente da cultivar de mamão avaliada; estes resultados demonstram a confiabilidade do método das notas.

Segundo Oliveira et al. (2005), a MFM se manifesta a partir de pequenas pontuações na casca, que evoluem em número e tamanho. Os resultados aqui apresentados mostram, em geral, que não há diferença estatística entre as cultivares Tainung 01, Golden e Diva para as variáveis NM e TM (Tabela 2). As médias obtidas para o NM em função das notas foram: nota 0, média de aproximadamente 10 manchas sobre a superfície do fruto; nota 1, média de 40 manchas na superfície do fruto; nota 2, equivale à média de 80 manchas na superfície do fruto; nota 3, 120 manchas, em média, na área amostrada do fruto; nota 4, média de 150 manchas na superfície do fruto, e, finalmente, a nota 5, onde há em média 210 manchas na superfície do fruto amostrada. O número médio de manchas observado nos frutos diferiu (P<0,05), de modo geral, entre as notas, atribuídas em função da severidade de incidência da MFM (Tabela 2). Isto comprova a confiabilidade do método das notas (Oliveira et al., 2005) para a avaliação da severidade na incidência da MFM.

Com relação ao tamanho médio (cm²) da MFM, a Tabela 2 demonstra que não houve diferenças estatísticas entre as notas de incidência do distúrbio. O tamanho médio das manchas nos frutos está, em geral, em torno de 0,01 e 0,06 cm² para as notas 0 e 5, respectivamente, com valor médio de 0,038 cm².

A Figura 2B retrata a área total (cm²) afetada pela MFM nas cultivares Golden, Diva e Tainung 01 para as diferentes notas de incidência do distúrbio. Os resultados mostram que através das notas é possível se fazer uma estimativa segura e confiável (P>0,88) da área do fruto coberta com a mancha fisiológica do mamão. Oliveira & Nishijima (2005), em trabalho semelhante com as cultivares sunrise solo e rainbow no Hawaii, validaram o método das notas para essas cultivares, utilizando o processamento de imagens digitais.

De acordo com a Figura 2B, pode-se verificar que a atribuição de notas para caracterizar a incidência da MFM se mostrou bastante uniforme entre os materiais genéticos avaliados, exceto o genótipo Tainung 01, que obteve uma AT maior que as demais cultivares para as notas 0 e 5 (Tabela 2). Com relação às notas intermediárias, de modo geral, a cultivar Diva apresentou as maiores médias.

TABELA 1 - Resumo da ANOVA para as análises das fotos digitais para as cvs. Golden, Diva e Tainung 01. Variáveis avaliadas: número de manchas (NM), área total afetada em cm² (AT) e tamanho médio das manchas em cm² (TM).

QUADRADOS MÉDIOS				
FV	GL	NM	AT	TM
GENOT	2	8834,45 *	0,07 *	0,00001 *
NOTA	5	131124,12 *	4,18 *	0,00007 *
GENOTXNOTA	10	2257,87 ^{ns}	0,09 *	0,000003 ^{ns}
ERRO	150	1230,26	0,011	0,000003
CV		36,11	24,50	44,14
MÉDIA		97,14	0,43	0,0038

* Significativo a 5%, pelo teste F

^{ns} Não-significativo a 5%, pelo teste F**TABELA 2** - Teste de médias (P<0,05) para as variáveis Número de manchas, Tamanho médio das manchas (cm²) e área total do fruto afetado pelo distúrbio (cm²) para as cultivares Golden, Tainung 01 e Diva em função das notas atribuídas à ocorrência da MFM.

Número de Manchas						
Cultivares	Notas					
	0	1	2	3	4	5
Tainung 01	10,88 Da	38,9 CDa	77,2 Ca	125,8 Ba	151,0 Bab	225,0 Ab
Golden	6,40 Ea	34,6 DEa	72,9 CDa	103,2 BCa	128,1 Bb	198,2 Ac
Diva	10,6 Da	46,8 CDa	82,2 Ca	132,2 Ba	165,8 Ba	231,5 Aa
Tamanho médio das manchas (cm ²)						
Cultivares	Notas					
	0	1	2	3	4	5
Tainung 01	0,018 Aa	0,024 Aa	0,027 Aa	0,037 Aa	0,049 Aa	0,060 Aa
Golden	0,02 Aa	0,029 Aa	0,039 Aa	0,057 Aa	0,063 Aa	0,060 Aa
Diva	0,011 Aa	0,029 Aa	0,036 Aa	0,036 Aa	0,051 Aa	0,065 Aa
Área total do fruto afetado pelo distúrbio (cm ²)						
Cultivares	Notas					
	0	1	2	3	4	5
Tainung 01	0,017 Fa	0,085 Ec	0,215 Dc	0,479 Cc	0,748 Bb	1,376 Aa
Golden	0,013 Fb	0,099 Eb	0,259 Db	0,514 Ca	0,705 Bc	0,908 Ac
Diva	0,013 Fb	0,135 Ea	0,271 Da	0,489 Cb	0,757 Ba	1,011 Ab

As médias seguidas pela mesma letra, maiúscula na linha, não diferem entre as diferentes notas de incidência da MFM; seguidos pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre as diferentes cultivares, pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Com relação à área total afetada pela mancha, os valores médios obtidos para as três cultivares foram: nota 0 = 0,014 cm² da superfície do fruto coberta com a mancha; nota 1 = 0,1 cm² da superfície do fruto amostrada com mancha, o que equivale a uma área, média, de 0,2% da superfície com MFM; nota 2 = 0,25 cm² da superfície coberta com MFM, o que equivale a 0,5% da área amostrada; nota 3 = 0,50 cm² da superfície do fruto com mancha, o que equivale a 1,1% da área amostrada com mancha; nota 4 = 0,73 cm² da superfície coberta com mancha, o que equivale a 1,6% da superfície do fruto coberta com a mancha, e, finalmente, a nota 5, onde cerca de 1,10 cm² da área do fruto estava coberta com a mancha, o que equivale a 2,5% da superfície do fruto, amostrada. Vale ressaltar que essa porcentagem de MFM encontrada não corresponde a todo

o fruto, e, sim, a apenas 14,56 cm² da região central do fruto na face, dita, exposta ao sol.

Os frutos das cultivares Golden, Diva e Tainung 01 possuem uma superfície média de casca de 170,05; 160,05 e 639,82 cm², respectivamente. Como para estudar a área total do fruto com mancha utilizou-se de um retângulo de 14,56 cm², esse retângulo estudado equivale a valores de 8,56; 9,10 e 2,28% para as cultivares Golden, Diva e Tainung 01, respectivamente. A cultivar Tainung 01 apresentou menor área afetada, com valor de 2,28%, entretanto considera-se este valor representativo, pois a figura geométrica utilizada posicionava-se na região central do fruto, onde se encontra a maior concentração das manchas.



FIGURA 1 - Foto ilustrativa dos níveis de incidência (0 a 5) da MFM na cultivar Tainung 01.

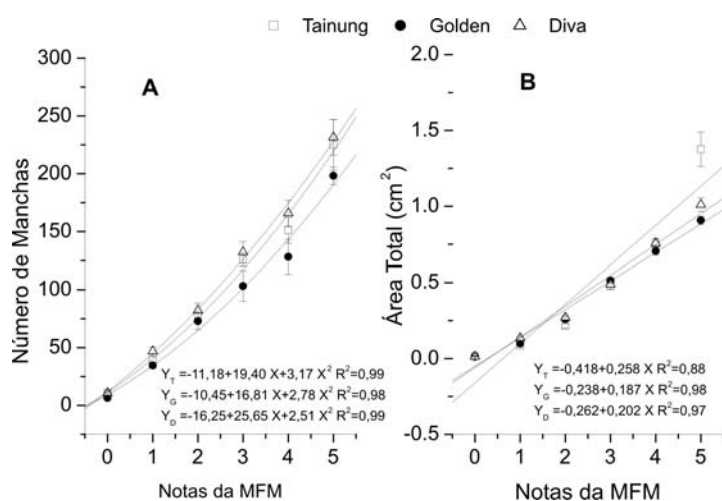


FIGURA 2 - Número de manchas (A) e Área total afetada com o distúrbio em cm² (B) para frutos das cultivares Golden, Tainung 01 e Diva em função das notas atribuídas à ocorrência da MFM.

CONCLUSÃO

O uso de imagens digitais com o auxílio do Software *ImageJ* versão 1.32j mostrou que o método das notas, empregado para caracterizar o índice de ocorrência da MFM, apresenta alta relação com a área da casca do fruto coberta com a mancha. Os dados aqui apresentados mostram que, apesar de ser um método subjetivo, a atribuição das notas para avaliar o nível de incidência de mancha fisiológica nos frutos de mamão pode ser utilizada com segurança, tendo o mesmo se mostrado bastante preciso.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Caliman Agrícola S/A, pelo apoio técnico e logístico, à FAPERJ, CNPq e à FINEP, pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- CRUZ, C. D. **Programa Genes (versão Windows), aplicativo computacional em Genética e Estatística**. editora UFV, Universidade Federal de Viçosa, 648p, 2001.
- CRUZ LIMA, H. **Relações entre o estado nutricional, as variáveis do clima e a incidência da mancha fisiológica do mamão (*Carica papaya L.*) no Norte Fluminense**. Tese, 2003, 62f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF – Campos dos Goytacazes – RJ, 2003.
- ELOISA, M.; REYES, Q. & PAULL, R.E. Skin freckles on solo papaya fruit. *Sci. Hortic.* v.58, p.31-39, 1994.
- FONSECA, L.M.G. **Processamento digital de imagens**. INPE – Instituto de Pesquisas Espaciais, 111p, 2000.
- ISHII, M. AND HOLTZMANN, O.V. Papaya mosaic disease in Hawaii. *Plant Dis. Rep.* v.47, p.951-970, 1963.
- KAISER, C.; ALLAN, P.; WHITE, B.J. & DEHRMANN, F.M. Some morphological and physiological aspects of freckle on papaya (*Carica papaya L.*) fruit. *J. South Afric. Soc. Hortic. Sci.* v.6, n.1, p. 37-40, 1996.
- LIBERATO, J.R. AND ZAMBOLIM, L. Controle das doenças causadas por fungos, bactérias e nematóides em mamoeiro. In: Zambolim, L.; do Vale, F.X.R.; Monteiro, A.J.A. and Costa, H. (eds) **Controle de Doenças de Plantas Fruteiras**. p. 1023-1170, Viçosa, 2002.
- LUPETTI, K.O.; CARVALHO, L.C.; MOURA, A.F.; FATIBELLO-FILHO, O. Análise de imagem em química analítica: Empregando metodologias simples e didáticas para entender e prevenir o escurecimento de tecidos vegetais. *Quim. Nova*, v.28, n.3, p.548-554, 2005.
- MOYA, E.A.; BARRALES, L.R.; APABLAZA, G.E. Assessment of the disease severity of squash powdery mildew through visual analysis, digital image analysis and validation of these methodologies. *Crop Protection* v.24, p. 785-789, 2005.
- OLIVEIRA, J.G.; PEREIRA, M.G.; MARTELLETO, L.A.P.; IDE, C.D. Mancha fisiológica do mamão: Uma perspectiva de obtenção de material genético tolerante. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal – SP v.27, n.3, p. 458-461, 2005.
- OLIVEIRA, A.A.R.; NISHIJIMA, W.T. **Assessment of skin freckles severity of papaya fruit through visual and digital image analysis**. In: I Simpósio Brasileiro De Pós-Colheita De Frutos Tropicais (SBPCFT), João Pessoa-PB, 2005.
- TANSKA, M.; ROTKIEWICZ, D.; KOZIROK, W.; KONOPKA, I. Measurement of the geometrical features and surface color of rapeseeds using digital image analysis. *Food Res. Int.* v.38, p. 741-750, 2005.
- ZHANG, M.; DE BAERDEMAEKER, J.; SCHREVEN, E. Effects of different varieties and shelf storage conditions of chicory on deteriorative color changes using digital image processing and analysis. *Food Res. Int.* v.36, p. 669-676, 2003.