

## **AVALIAÇÃO DE FITOTOXICIDADE DE GLYPHOSATE EM *Borreria latifolia* E *Richardia brasiliensis* ATRAVÉS DO PROCESSAMENTO DE IMAGENS DIGITAIS**

GALLON, M. (UTFPR, Pato Branco/PR – mtgallon90@yahoo.com.br), TREZZI, M.M. (UTFPR, Pato Branco/PR - trezzi@utfpr.edu.br), VIDAL, R.A. (UFRGS, Porto Alegre/RS ribas.vidal@gmail.com); PAGNONCELLI, F.J. (UTFPR, - fpagnoncelli@outlook.com.br), DIESEL, F. (UTFPR francielli\_diesel@hotmail.com), BARANCELLI, M.V.J. (UTFPR, marcos.v.jb@hotmail.com); PASINI, R. (UTFPR, renato\_pasini@hotmail.com); MARCHESAN, E.D. (UTFPR, elidanieli\_marchesan@yahoo.com.br)

**RESUMO:** O objetivo deste trabalho foi comparar os métodos de avaliação de fitotoxicidade do herbicida glyphosate por escala visual e através de imagens processadas com o software Image J em *Borreria latifolia* e *Richardia brasiliensis*. Os experimentos foram conduzidos em estufa da UTFPR, em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Plântulas de *B. latifolia* e *R. brasiliensis* foram aspergidas com doses de 0, 74, 163, 360, 792 e 1742 g e.a. ha<sup>-1</sup> de glyphosate. Aos 28 dias após a aplicação realizou-se as avaliações de controle visual e efetuou-se o registro de imagem de cada unidade experimental. Posteriormente, as imagens foram processadas com o software livre de análise de imagens "Image J". As curvas foram ajustadas através do modelo de regressão não linear e realizou-se análise de correlação entre os métodos de avaliação. A análise de correlação indicou grande similaridade entre as curvas geradas pelas avaliações de controle visual e análise das imagens por pixagem, tanto para *B. latifolia* quanto para *R. brasiliensis*. A análise de correlação indicou alta similaridade entre os métodos de avaliação. A análise de fitotoxicidade por redução do número de pixels demonstrou ter grande potencial de utilização, podendo eliminar os erros embutidos na avaliação visual.

**Palavras-chave:** avaliação de controle, correlação, pixels.

### **INTRODUÇÃO**

O uso de imagens digitais para avaliações de cobertura de solo, espectro de gotas de pulverização, estimativa de área foliar, entre outros, tem sido ampliado nos últimos anos. Utilizando-se de imagens digitais e diferentes *softwares*, diversos autores realizaram estudos em variadas culturas, como por exemplo, café (Siarcs; Tavares Júnior et al., 2002), nastúrcio (Sigma Scan Pro v. 5.0; Lopes et al., 2007), soja (SPRING; Adami et al., 2008).

O ImageJ é um software para processamento e análise de imagens, desenvolvido por Wayne Rasband no National Institute of Mental Health, USA, em linguagem Java. O software permite exibir, editar, analisar, processar, salvar e imprimir imagens de 8, 16 e 32 bits. Permite o processamento de diversos formatos de imagem como TIFF, GIF, JPEG, BMP,

DICOM e FITS. A janela contendo os resultados (área, perímetro, orientação, etc) permite que estes sejam exportados para um arquivo, como por exemplo, no formato XLS (Microsoft Excel). No ImageJ, o cálculo das áreas é feito pela contagem de pixels das regiões selecionadas pelo usuário ou por um algoritmo específico (RASBAND, 2014).

O software ImageJ apresentou-se como uma importante ferramenta no tratamento de imagens e análise quantitativa de imagens, oferecendo muitos recursos como parte de seu pacote padrão e outros tantos como plugins e extensões do software, que se adaptam para cada tipo de uso (DIAS, 2008). No trabalho de Martin et. al (2013), conclui-se que o método para estimativa da área foliar em feijão que utiliza o *software* ImageJ pode ser usado em substituição ao método do integrador de área foliar (LI3100 LI-COR).

A utilização de imagens digitais para avaliação de controle de plantas daninhas por herbicidas é ainda incipiente. São quase inexistentes na literatura trabalhos que relatem ou comparem a avaliação por meio de imagens digitais com o método empírico de avaliação de controle visual. A acuidade visual é proporcional ao logaritmo do estímulo, o que limita a capacidade do olho humano de diferenciar com precisão variações nas densidades de plantas ou sintomas de danos causados por herbicidas (COSTA, et al. 2012).

O objetivo deste trabalho foi comparar os métodos de avaliação de controle do herbicida glyphosate por escala visual e através de imagens processadas com o software Image J em erva quente (*Borreria latifolia*) e poaia-branca (*Richardia brasiliensis*).

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em estufa da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, Câmpus Pato Branco, entre os meses de janeiro a abril de 2014. As sementes dos biótipos das espécies daninhas *B. latifolia* e *R. brasiliensis* foram coletadas em lavouras das regiões Sudoeste do Paraná e Norte de Santa Catarina. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições.

Utilizou-se a associação de tratamentos com aquecimento a 60°C por 30 min + imersão em nitrato de potássio 2% por 3 h, para a superação da dormência da *B. latifolia*. *R. brasiliensis* não necessita de superação de dormência. As sementes das duas espécies daninhas foram acondicionadas em caixas gerbox contendo duas camadas de papel para germinação umedecido com água destilada. As caixas foram alocadas em câmaras de germinação tipo BOD reguladas 25°C e fotoperíodo de 12 horas.

Aproximadamente 15 dias após a realização da superação de dormência/incubação das sementes, duas plântulas de cada uma das espécies foram transplantadas para vasos de polietileno de 5 dm<sup>3</sup> de capacidade, contendo solo do tipo Latossolo Vermelho distroférico, previamente peneirado. Após 20 dias efetuou-se o desbaste, deixando-se uma plântula/vaso. Quando as plantas atingiram o estágio de 6 a 8 folhas totalmente expandidas,

foi realizada a aplicação dos tratamentos, que consistiram das doses 0, 74, 163, 360, 792 e 1742 g e.a. ha<sup>-1</sup> de glyphosate. Os tratamentos foram aplicados com pulverizador costal pressurizado a CO<sub>2</sub> e volume de calda de 200 l. ha<sup>-1</sup>.

Aos 28 dias após a aplicação (DAA) do herbicida realizou-se as avaliações de controle visual e efetuou-se o registro de imagem de cada unidade experimental. Para escala visual, a avaliação foi baseada na escala proposta por Frans et al. (1986), em que 0% indica efeito nulo dos herbicidas sobre as plantas e 100% a morte das plantas.

As imagens foram geradas a partir da Câmera Digital Canon PowerShot SX50 HS, fixada em um tripé fotográfico, com o objetivo de padronizar a distância focal entre a câmera e o vaso. Entre a câmera e o local onde os vasos foram posicionados, foi fixado no tripé um quadrado metálico de 25 cm de lado, forrado com um tecido preto. No centro deste, realizou-se um corte em formato de círculo de mesmo diâmetro do bocal dos vasos, para delimitar a área de interesse e assim, evitar imagens que abrangessem algo além das plantas em estudo. Posteriormente, as imagens foram processadas com o software "Image J". No programa, realizou-se a separação dos canais de cores no padrão RGB (Red, Green and Blue). Selecionou-se o canal verde e realizou-se a transformação dos pixels verdes de cada imagem em pixels brancos ajustando o valor do limiar ótimo "t" (threshold). Por meio deste limiar, foi classificada e obtida uma nova imagem binarizada (área vegetal anteriormente da cor verde transformada na cor branca e fundo na cor preta). A partir de então, através do histograma de pixels, foram registrados o número de pixels brancos.

Os dados de controle visual foram transformados para 100 - controle e para os pixels foi atribuído 100 para testemunha (Dose 0) e os demais tratamentos foram calculados como porcentagem em relação a testemunha obtendo-se a porcentagem de pixels em relação a testemunha. As relações entre variáveis dependentes e as concentrações de herbicidas foram ajustadas através do modelo de regressão não linear, empregando-se o modelo logístico de três parâmetros com auxílio do software SigmaPlot 10.0. As correlações foram calculadas com auxílio do programa Genes.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a Figura 1, pode-se observar uma grande similaridade entre as curvas geradas pelas avaliações de controle visual e pela avaliação dos pixels verdes da área vegetal tanto para *B. latifolia* (Figura 1A e 1B), quanto para *R. brasiliensis* (Figura 1C e 1D). Ainda em relação aos gráficos, pode-se observar que as barras de erro padrão apresentam-se maiores para os gráficos de pixels. Isto ocorre, devido a variação do tamanho das plantas dentro do mesmo tratamento. Portanto, é interessante e necessário, que as plantas desenvolvam uniformemente nos experimentos, para obter-se maior exatidão nos dados.

Uma das desvantagens do método de avaliação por pixels é a demanda de trabalho

exigida. Enquanto que para avaliação por controle visual, basta dirigir-se até as unidades experimentais e atribuir uma nota (escala de 0-100) para determinar os níveis de controle, para realização das imagens, é necessário mover os vasos até o local preparado para a câmera digital, em todas as avaliações. Além disso, na sequência é exigido, mais algumas horas de dedicação em frente a um computador para o processamento das imagens.

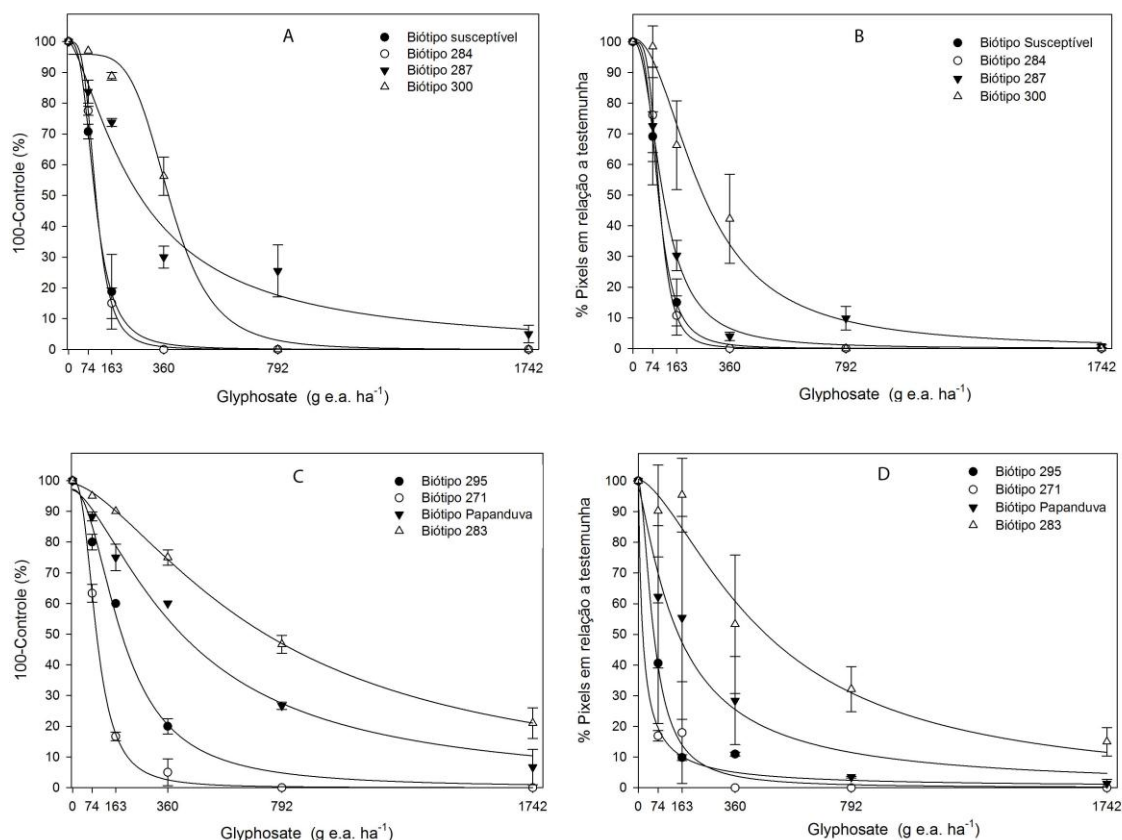


Figura 1: Regressões não lineares para redução do controle (A e C) e redução do número de pixels em relação à testemunha (B e D) para *Borreria latifolia* e *Richardia brasiliensis*, respectivamente. UTFPR- Pato Branco, 2014. \*Barras verticais representam o erro padrão da média de cada tratamento.

De acordo com a Tabela 1, observa-se que os valores de correlação entre 100-control por avaliação visual e redução do número de pixels é alta e significativa para todos os biótipos e também para análise geral de cada espécie estudada. Percebe-se que as correlações são mais elevadas para *B. latifolia* em comparação a *R. brasiliensis*. Isto pode estar relacionado ao maior erro visivelmente observado ao se realizar a transformação dos pixels verdes de cada imagem em pixels bancos ajustando o valor do limiar ótimo “t” (threshold), podendo estar relacionado às diferenças na arquitetura das plantas. Enquanto as plantas de *B. latifolia* são de porte mais ereto, facilitando a atuação do software na transformação, *R. brasiliensis* é de porte mais rasteiro e no momento da transformação pode ocorrer confundimento dos pixels da planta com pixels do solo. Portanto, essa variação pode ocorrer de acordo com a espécie em estudo, porém, este erro pode ser minimizado com a captura de imagens de melhor qualidade, adequando a metodologia conforme a situação.

Tabela 1 - Correlação dos valores redução de controle por avaliação visual e redução do número de pixels, para os biótipos Susceptível, 284, 287 e 300 de *B. latifolia* e dos biótipos 295, 271 Papanduva e 283 de *R. brasiliensis*, aos 28 dias após aplicação do herbicida. UTFPR, Pato Branco - PR, 2014.

Espécie	Biótipo	Correlação
<i>B. latifolia</i>	Susceptível	0.97*
	284	0.93*
	287	0.88*
	300	0.98*
	Geral	0.93*
<i>R. brasiliensis</i>	295	0.79*
	271	0.78*
	Papanduva	0.83*
	283	0.87*
	Geral	0.82*

\*Significativo,  $p < 0,05$ .

## CONCLUSÕES

O método de avaliação por conversão de imagem em pixels, apesar da alta demanda de trabalho, é mais preciso na avaliação do efeito fitotóxico do herbicida glyphosate sobre *Borreria latifolia* e *Richardia brasiliensis*, por reduzir a subjetividade inerente à realização das avaliações de controle visual.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMI, M.; et al. Estimativa de área de folíolos de soja usando imagens digitais e dimensões foliares. *Bragantia*, v.67, p.1053-1058, 2008.

COSTA, L.B.; et al. Análise comparativa entre pixels de imagens digitais e a avaliação visual de sintomas de herbicidas em duas espécies dicotiledôneas. Salão de Iniciação Científica, UFRGS, Porto Alegre/RS, 2012. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/65022>.

DIAS, F.C. Uso do software Image J para análise quantitativa de imagens de microestruturas de materiais. 2008. 148 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia Espaciais) – Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos/SP, 2008.

FRANS, R., R. et al. Experimental design and techniques for measuring and analyzing plant responses to weed control practices. In N. D. Camper, ed. *Research Methods in Weed Science*. 3<sup>rd</sup> ed. Champaign, IL: Southern Weed Science Society. p. 37–38, 1986.

LOPES S.J.; et al. Estimativa da área foliar de meloeiro em diferentes estádios fenológicos por fotos digitais. *Ciência Rural*, v.37, p.1153-1156, 2007.

MARTIN, T.M.; et al. Uso do software ImageJ na estimativa de área foliar para a cultura do feijão. *Interciência*, v. 38 n° 12, 2013.

RASBAND, W. ImageJ documentation. Disponível em: <http://imagej.nih.gov/ij/docs/>, acesso em: 12/06/2014.

TAVARES JUNIOR, J.E.; et al. Análise comparativa de métodos de estimativa de área foliar em cafeeiro. *Bragantia*, v. 61, p.199-203, 2002.