



GUILHERME SOARES SALVADOR

VISÃO COMPUTACIONAL APLICADA À AVALIAÇÃO DE
Hemileia vastatrix EM *Coffea arabica*

LAVRAS – MG

2022

GUILHERME SOARES SALVADOR

VISÃO COMPUTACIONAL APLICADA À AVALIAÇÃO DE
Hemileia vastatrix EM *Coffea arabica*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de Mestre.

Flávia Maria Avelar Gonçalves
Orientadora

LAVRAS – MG

2022

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Salvador, Guilherme Soares.

Visão computacional aplicada à avaliação de *Hemileia vastatrix*
em *Coffea arabica* / Guilherme Soares Salvador. - 2022.

45 p. : il.

Orientador(a): Flavia Maria Avelar Gonçalves.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2022.

Bibliografia.

1. Coffea arabica. 2. Visao computacional. 3. Hemileia
vastatrix. I. Gonçalves, Flavia Maria Avelar. II. Título.

GUILHERME SOARES SALVADOR

VISÃO COMPUTACIONAL APLICADA À AVALIAÇÃO DE
Hemileia vastatrix EM *Coffea arabica*

COMPUTER VISION APPLIED TO THE EVALUATION OF *Hemileia vastatrix* in
Coffea arabica

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 28 de Outubro de 2022.
Prof. Dr. Cosme Damião Cruz – UFV
Profª Drª Elaine Aparecida de Souza – UFLA

Flávia Maria Avelar Gonçalves
Orientadora

LAVRAS – MG

2022

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pela oportunidade, pela força e por ser meu guia durante todo o período de pós-graduação.

Aos meus pais, Raimunda de Jesus Guerreiro Soares e Vladimir Gonçalves Salvador por todo o apoio emocional, pelo suporte durante este período e por todos os esforços realizados para que esse sonho pudesse ser possível. Aos meus irmãos, Bruno, Ana Clara, João Pedro e João Vitor, pela amizade e carinho.

A minha namorada Tassiane Del Sant, por ser minha amiga e parceira durante os bons e maus momentos desta jornada.

A minha orientadora Flavia Maria Avelar Gonçalves, por todo o suporte técnico, atenção e ensinamentos. Ao grupo de pesquisa de melhoramento de culturas perenes por todo o trabalho em equipe.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas pela estrutura, oportunidade, aprendizado e crescimento junto aos meus colegas.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio.

A todos os amigos feitos em Lavras, em especial aos amigos da República Morada Caipira, que foram a minha família na cidade.

MUITO OBRIGADO!

RESUMO

A principal doença que acomete a cultura do café é a ferrugem alaranjada, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix*. Com isso, o foco dos programas de melhoramento genético do cafeeiro na obtenção de cultivares resistentes ao patógeno se torna cada vez mais essencial, a fim de minimizar os prejuízos por ele ocasionados à cafeicultura. A principal estratégia adotada para a avaliação dos genótipos resistentes à doença é a utilização de escalas diagramáticas. A partir dela, são dadas notas referentes a reação do genótipo em relação à severidade da doença. Contudo, tais avaliações são feitas visualmente e dependem da experiência do avaliador. Uma alternativa para a avaliação da severidade da doença é a utilização de imagens fotográficas e processamento destas em softwares para obtenção da severidade real e obtenção de resultados mais assertivos e conclusivos. Diante disso, o presente trabalho objetivou-se no desenvolvimento de um algoritmo para quantificação da ferrugem alaranjada e a partir das análises obtidas por meio deste, desenvolver e validar uma nova escala diagramática de avaliação da ferrugem do cafeeiro. Foram realizados dois experimentos, no qual o primeiro consistiu na coleta de folhas de cafeeiro acometidas pela doença para o treinamento e obtenção de um modelo de algoritmo para quantificação, enquanto o segundo foi conduzido em folhas destacadas e inoculadas com o fungo, alocadas em placas de Petri, em ambiente controlado, tendo como proposta desenvolver um novo método de inoculação e avaliação da doença, utilizando as cultivares Catuaí Vermelho IAC 144, Bourbon Amarelo, MGS Aranãs, MGS Paraíso e Catiguá MG2. O processamento e análise de imagens foram realizados em linguagem de programação Python, utilizando os pacotes OpenCV e Scikit-Image. Para a elaboração da escala diagramática, foram utilizadas as imagens e estimativas obtidas pelas análises de imagem. A escala diagramática desenvolvida foi validada pelo coeficiente de correlação de concordância proposto por Lin (1989) e se mostrou eficaz na quantificação de folhas doentes de cafeeiro, enquanto o algoritmo desenvolvido também se mostrou assertivo em relação à quantificação da doença. Comparou-se métodos de avaliação visual presencial e remotamente e não foi identificada diferença significativa entre as avaliações.

Palavras-chave: *Coffea arabica*. Visão Computacional. *Hemileia vastatrix*.

ABSTRACT

The main disease that affects coffee is orange rust, caused by the fungus *Hemileia vastatrix*. As a result, the focus of coffee breeding programs is to obtain genotypes resistant to the pathogen, to minimize the damage caused by it to coffee yield. The main strategy adopted for the evaluation of disease-resistant genotypes is the use of standar area diagrams, using notes regarding the reaction of the genotype in relation to the severity of the disease. However, such evaluation are made visually and hard depends of the experience of the evaluators. An alternative for assessing the severity of the disease is the use of photographic images and processing them in a software to obtain the real severity and obtain more assertive and conclusive results. In view of this, the presente work aimed to develop an algorithm for quantifying orange rust and, based on the analyzes obtained through this, to develop and validate a new standard area diagram for evaluating coffee rust. Two experiments were conducted, in wich the first consisted of collecting coffee leaves affected by the disease for training and obtainin na algorithm model for quantification, while the second was carried out on detached leaves inoculated with the fungus, placed on Petri dishes, in a controlled enviroment conditions, with the proposal to develop a new method of inoculation end evaluation of the disease. The comercial varieties used in this study were Catuai Vermelho IAC 144, Bourbon Amarelo, MGS Aranãs, MGS Paraíso and Catiguá MG2. Image processing and analysis were performed in pytho programming language, using the OpenCV and Scikit-Image package. To elaborate the. standard area diagram, the images and estimates severities obtained by the image analysis were used. The developed standard area diagram was validated using the concordance correlation coeficiente proposed by Lin (1989) and proved to be effective in quantifying diseased coffee leaves, while the developed algorithm was also assertive in relation to the disease quantification. Visual assessment methods were compared in person and remotly and no significant difference was identified between the assessments.

Palavras-chave: *Coffea arabica*. Computer vision. *Hemileia vastatrix*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Gráfico de correlação da severidade estimada pelo script desenvolvido no presente trabalho e da severidade estimada pelo QUANT Software.	30
Figura 2 – Escala diagramática para avaliação da ferrugem alaranjada do cafeeiro (<i>Hemileia vastatrix</i>) desenvolvida no presente trabalho.	32
Figura 3 – Estimativas da severidade de <i>Hemileia vastatrix</i> em <i>Coffea arabica</i> com e sem o uso de escala diagramática de avaliação, evidenciando a proximidade de severidade real e severidade estimada para um total de 12 avaliadores. A linha tracejada representa a linha de perfeita concordância entre os dados estimados e dados reais ($v = 1$ e $v = 0$). A acurácia da avaliação foi determinada utilizando o Coeficiente de Correlação de Concordância de Lin. ...	34
Figura 4 – Estimativas do erro absoluto das avaliações de cada um dos 12 avaliadores com e sem a utilização da escala diagramática de avaliação. Erros absolutos baixos indicam que a severidade estimada e severidade real são semelhantes.	35
Figura 5 – Confiabilidade entre avaliadores estimada pelo coeficiente de determinação (R^2) sem a utilização de escala diagramática e com a utilização de escala diagramática para quantificação da severidade de <i>Hemileia vastatrix</i> estimada por 12 avaliadores que avaliaram 50 imagens de <i>Coffea arabica</i> afetadas pela doença.	36
Figura 6 – Gráfico de resultados da viabilidade de uredósporos do fungo <i>Hemileia vastatrix</i> pelo teste de germinação em meio ágar-água 2%.	37
Figura 7 – Gráfico de comportamento da severidade de <i>Hemileia vastatrix</i> nas cultivares Catigua MG2, Paraíso, Aranãs, Catuaí e Bourbon 35 dias após a inoculação. Médias seguidas pelas mesmas letras pertencem ao mesmo grupo, de acordo com o teste de Tukey, em nível de 5% de significância.	40
Figura 8 – Gráficos de correlação entre valores reais e valores estimados utilizando a escala diagramática desenvolvida por CAPUCHO et al., 2011 (a esquerda) e a escala diagramática desenvolvida no presente trabalho (a direita).	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tabela de severidades de ferrugem em folhas de cafeeiro estimadas pelo script desenvolvido e pelo QUANT. Os desvios observados entre as duas estimativas demonstram uma alta semelhança nas estimativas obtidas pelas duas ferramentas de avaliação computa..	30
Tabela 2 – Tabela de análise de variância para os resultados de severidade obtidos após 35 dias de inoculação das folhas destacadas.	38

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1. Café no Brasil	14
2.2. Melhoramento do Cafeeiro.....	15
2.3. Ferrugem alaranjada do Cafeeiro	18
2.4. Visão Computacional Aplicada ao Melhoramento de Plantas.....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1. Obtenção e Avaliação das Imagens.....	23
3.2. Desenvolvimento e Validação da Escala Diagramática	25
3.3. Experimento de Inoculação em Placas de Petri e Comparação de Escalas	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1. Obtenção e Avaliação das Imagens.....	29
4.2. Escala Diagramática para Avaliação de <i>Hemileia vastatrix</i>	31
4.3. Experimento de Inoculação em Placas de Petri e Comparação de Escalas	36
4.3.1. Inoculação do Fungo <i>Hemileia vastatrix</i>	37
4.3.2. Severidades Obtidas e Comparação de Escalas	38
5. CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS	45

1. INTRODUÇÃO

O café é a segunda bebida mais consumida em todo o mundo, sendo superado apenas pelo consumo de água e superando o consumo de bebidas populares como refrigerantes, sucos, cervejas e vinhos. A estimativa é de que são consumidas mundialmente cerca de 168 milhões de sacas de café por ano, sendo o Brasil responsável pela produção de aproximadamente 54 milhões deste total (CONAB, 2022). Portanto, a pronunciada significância do Brasil quanto às pesquisas relacionadas à esta cultura é inquestionável (PRAKASH et al., 2002).

O cafeeiro (*Coffea arabica L.*) foi introduzido no Brasil em 1727 (CHALFOUN; REIS, 2010), contudo o início do melhoramento genético da espécie se deu por volta de 1930. Desde então, os melhoristas procuram obter cultivares com alta produtividade e outras características de interesse agrônomo, tais como porte de planta baixo, floração homogênea, baixos teores de cafeína, ciclo precoce e resistência a patógenos e pragas. (CARVALHO et al., 2010).

Dentre essas características, a ocorrência de doenças tem grande importância, uma vez que é responsável por grande prejuízo econômico devido principalmente à diminuição da longevidade das lavouras (CARVALHO; CHALFOUN, 2010). Uma das principais doenças que acomete o cafeeiro é a ferrugem alaranjada, cujo agente etiológico é o fungo *Hemileia vastatrix*. Ela foi constatada no Brasil em janeiro de 1970, no sul da Bahia, e se disseminou rapidamente por toda a região cafeeira brasileira (CORREA JUNIOR, 1990). A doença causa desfolha das plantas adultas, com consequente redução das áreas fotossinteticamente ativas, ocasionando a morte dos ramos laterais, afetando o florescimento, o pegamento de frutos e consequentemente a produção na safra seguinte. Desta forma, se a desfolha das plantas provocada pela ferrugem ocorrer antes do florescimento, ou durante o desenvolvimento dos frutos, ocorrerá respectivamente a redução da floração e a má formação dos frutos (ZAMBOLIM et al., 2016).

Dependendo da altitude, das condições climáticas, do estado nutricional da planta, do nível de suscetibilidade, do tempo de molhamento foliar e da quantidade de inóculo inicial as perdas causadas pelo fungo podem variar de 27 a 50% na média do biênio (ZAMBOLIM et al., 2022). No Brasil, o problema se torna muito mais sério, uma vez que muitas lavouras brasileiras ainda são compostas por cultivares suscetíveis, como ‘Catuaí’ e ‘Mundo Novo’ (CABRAL et al., 2016). O controle químico, quando

utilizado corretamente, é um método eficiente, porém, as sucessivas aplicações prejudicam o meio ambiente e aumentam o custo de produção o que faz com que o lucro do produtor seja menor.

Com isso, o foco dos programas de melhoramento genético do cafeeiro na obtenção de cultivares resistentes ao patógeno se torna cada vez mais essencial, a fim de se evitar, ou pelo menos minimizar os prejuízos por ele ocasionados à cafeicultura brasileira. Além das vantagens de ordem econômica, deve-se também levar em consideração que o plantio de cultivares resistentes à ferrugem reduzirá ou diminuirá a contaminação do ambiente e o risco de contaminação dos trabalhadores, uma vez que possibilitará reduzir a utilização de produtos fitossanitários nas lavouras (VÁRZEA et al., 2002).

Durante os últimos anos, os programas de melhoramento genético do cafeeiro têm disponibilizado aos agricultores cultivares geneticamente resistentes à ferrugem alaranjada, como as cultivares: IAPAR 59, IPR 104, Catiguá MG2, Araponga MG1, entre outras (EMBRAPA, 2021). Porém, devido ao grande número de raças do patógeno, sendo relatadas 16 no Brasil e mais de 50 em todo o mundo e o contínuo surgimento de novas raças fisiológicas devido a mutações faz com que os programas de melhoramento continuem buscando novas cultivares que apresentem uma resistência mais ampla ao patógeno, mantendo as características de produção alta, porte baixo, ciclo precoce, alta qualidade de bebida, entre outros (VÁRZEA et al., 2002).

A principal estratégia adotada para a avaliação dos genótipos quanto a resistência à *Hemileia vastatrix* é a escala diagramática. A partir dela são dadas notas referentes a reação do genótipo em relação à severidade ocasionada pelo fungo. Contudo, tais avaliações são feitas visualmente e dependem da experiência e treinamento do avaliador, além de apresentarem, problemas quando são comparadas avaliações entre avaliadores, uma vez que estas podem ser diferentes e chegar a resultados divergentes. Na literatura, algumas escalas estão disponíveis para uso de pesquisadores que precisam de um material para realizar esse tipo de avaliação. A escala desenvolvida por Kushalappa (1978) tem sido pouco utilizada, provavelmente por ser uma escala antiga e por mostrar diagramas em preto e branco, que são pouco ilustrativos. A escala desenvolvida por Cunha (2001) tem sido utilizada por alguns pesquisadores, entretanto, por ter sido publicado em resumo de congresso tem pouca aceitabilidade por parte dos revisores de revistas científicas, causando assim, limitações na sua utilização. Tem-se ainda a escala proposta, validada e publicada por Capucho

(2011) que se mostra efetiva, porém, as imagens utilizadas para quantificação das lesões foram obtidas por meio de scanner, método que pode prejudicar a qualidade das imagens obtidas, possibilitando a perda de detalhes. A qualidade das imagens para quantificação de severidade é pré-requisito essencial para que se obtenha resultados mais confiáveis e reais, portanto, quanto maior é a qualidade da imagem obtida, melhores serão os resultados obtidos a partir das análises.

Uma alternativa para a avaliação da severidade da doença é a utilização de imagens fotográficas de alta qualidade com processamento em software para obtenção de resultados mais assertivos e conclusivos. Tal procedimento tem como vantagens: aumentar o tamanho amostral sem a demanda de maior mão-de-obra, manutenção do material avaliado, as avaliações seguem um padrão determinado e todas as amostras são analisadas por igual, não há dependência do julgamento do avaliador e assim os resultados poderão ter maior confiabilidade. Diante disso, o trabalho tem como objetivos o desenvolvimento de um algoritmo que seja capaz de reconhecer e quantificar a severidade da doença em folhas de cafeeiro e, com as imagens obtidas, elaborar uma nova escala diagramática para avaliação da doença que retrate melhor as condições reais encontradas nos campos de produção e nos experimentos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Café no Brasil

A cultura do café é uma das mais tradicionais e cobiçadas no mundo, pelo seu alto consumo no mercado e pela rentabilidade que pode trazer ao produtor quando se obtém sucesso em sua produção (OLIVEIRA NETO et al., 2017). Originário da Etiópia e muito difundido na África, o café alcançou primeiro o comércio árabe e depois foi comercializado no mercado europeu. Pelas mãos de colonizadores europeus, o café deu entrada no Suriname, São Domingos, Cuba, Porto Rico e às Guianas, e, a partir daí, o café chega ao Brasil, onde seria futuramente sua maior potência comercial (CHALFOUN; REIS, 2010).

O café chegou ao Brasil em 1727, quando o sargento Mor Francisco de Mello Palheta trouxe mudas e sementes provenientes da Guiana Francesa para o estado do Pará, a pedido do governador e capitão-general do estado do Maranhão, João da Maia da Gama (CHALFOUN; REIS, 2010). O café já tinha grande importância comercial no mundo, e se espalhou pelo Brasil, adaptando-se rapidamente, principalmente nos estados de São Paulo, Paraná e Minas Gerais. E, em curto período de tempo, tornou-se um dos produtos de maior importância para a economia nacional.

A área ocupada pela atividade cafeeira do tipo arábica no Brasil no ano de 2022 é de cerca de 1,84 milhões de hectares, divididos em 15 estados produtores, apresentando um aumento de 1,78% de área cultivada quando comparada ao ano de 2021. A produção também apresentou um aumento quanto ao ano anterior, uma vez que para a safra 2021 a estimativa de produção foi de 47,7 milhões de sacas, enquanto, para a safra 2022, a estimativa é de uma produção de 53,4 milhões de sacas, apresentando um aumento de 10,69% da produção total (CONAB, 2022). Tal aumento é explicado devido principalmente ao fato de 2022 ser um ano de bialidade positiva, uma vez que o ano de 2021 sofreu com a bialidade negativa (EMBRAPA, 2022).

O Brasil é o maior produtor mundial de café, tendo como espécies mais plantadas comercialmente no país as espécies *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* L. O cultivo do café no Brasil se restringe a algumas regiões, sendo o estado de Minas Gerais o maior produtor brasileiro com cerca de 46,4% de toda produção do país, seguido por Espírito Santo (30,8%), São Paulo (8,29%), Bahia (6,83%), Rondônia (4,94%) e Paraná (1,03%) (CONAB, 2022). O estado de Minas Gerais é o maior

produtor de *Coffea arabica*, sendo responsável por 68,56% de toda produção, e possui em sua maioria pequenos produtores nas regiões de elevada altitude: Sul de Minas e Matas de Minas (VILELA; RUFINO, 2010).

O Brasil também ocupa o primeiro lugar na exportação do café em todo o mundo, de acordo com o Conselho dos Exportadores de Café do Brasil (Cecafé), em 2021, foram exportados cerca de 40 milhões de sacas. Entre janeiro e julho de 2022 foram exportados 20,5 milhões de sacas, apresentando um decréscimo de 6,5% quando comparado aos dados do ano anterior. Neste mesmo período, pode-se destacar os cinco maiores clientes do Brasil relacionados pela ordem de grandeza: Estados Unidos, Alemanha, Bélgica, Itália e Japão (CECAFÉ, 2022).

2.2. Melhoramento do Cafeeiro

Embora a diversidade de espécies de café seja ampla, apenas duas destas são utilizadas comercialmente: *Coffea arabica* e *Coffea canephora*. No entanto, espécies consideradas selvagens, como *C. congensis*, *C. sessiliflora*, *C. stenophylla*, *C. kapakata*, *C. eugenoides*, *C. liberica*, *C. dewevrei* e *C. racemosa*, por mais que não sejam aproveitadas comercialmente, apresentam uma grande variabilidade genética. Essa variabilidade é largamente utilizada nos programas de melhoramento em busca de características como resistência a pragas e doenças e também características de interesse agrônomo como ciclo, porte e teores de cafeína e sólidos solúveis, bem como caracteres associados a qualidade de bebida, por meio de cruzamentos interespecíficos (SAKIYAMA et al., 2005).

A maioria das espécies de café são diploides ($2n=2x=22$), alógamas e auto incompatíveis, exceto o *Coffea arabica* que é naturalmente alotetraploide ($2n=4x=44$), autógama e com taxa de autofecundação de 95% (CHARRIER; BERTHAUD, 1985). No que se diz respeito a sua origem, aponta-se que o *C. arabica* é originado do cruzamento natural entre duas espécies selvagens *C. canephora* (genitor masculino) e *C. eugenoides* (genitor feminino) (CHARRIER; BERTHAUD, 1985).

Até o ano de 1859, os cafezais brasileiros descendiam somente de uma planta do jardim botânico de Amsterdã, que deu origem aos cafezais de Suriname, Guiana e Brasil. Portanto, tais cafezais eram uma enorme progênie de um só cafeeiro, denominada Típica (CARVALHO, 2007). Desta forma, o Governo Federal introduziu no Brasil o café Bourbon Vermelho da Ilha da Reunião, que era considerado um

material mais produtivo e com uma boa qualidade na época (PEREIRA et al., 2010). Além do Bourbon vermelho, outra importante introdução se deu com a cultivar Sumatra, provindo da ilha de Sumatra no ano de 1896, essa cultivar era descrita como bem produtiva, vigorosa e de sementes maiores do que as do Bourbon Vermelho. Contudo, quando introduzida, suas produções não eram satisfatórias, portanto, não teve a mesma expansão do Bourbon (KRUG et al., 1939).

O melhoramento genético da cultura do cafeeiro no Brasil se deu início em meados da década de 1930 pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) cerca de 200 anos depois da introdução da cultura no país. Até então o melhoramento só teria acontecido de forma empírica, pelos próprios agricultores que selecionavam as plantas superiores, provavelmente provenientes de mutações ou recombinações tais como Bourbon Amarelo, Mundo Novo, Maragogipe (PEREIRA et al., 2010), e até mesmo plantas provenientes de outros lugares do mundo como Bourbon Vermelho e Sumatra que eram multiplicadas com o intuito de formar novas lavouras (CARVALHO et al., 1952, BERTHAUD; HARRIER, 1988).

Em 1943, o IAC foi informado sobre uma lavoura da cultivar Sumatra no município de Urupês, que tinha suas plantas excepcionalmente desenvolvidas e produtivas, além de possuírem variação. Posteriormente, com alguns estudos sobre a origem deste cafezal, concluiu-se que as plantas ali presentes eram oriundas de um cruzamento natural entre as cultivares Sumatra e Bourbon. Inúmeras plantas foram selecionadas daquela lavoura e deram origem a 14 cultivares, que foram denominadas Mundo Novo (MENDES et al., 2008).

Dentre as diversas seleções feitas no IAC, merece atenção especial a realizada entre as progênes de Caturra Amarelo que apresentam porte baixo e Mundo Novo. Esta seleção teve início em 1949, e, após várias gerações, obtiveram recombinações valiosas que foram denominadas Catuaí Amarelo e Catuaí Vermelho, que apresentavam o porte pequeno do Caturra e a rusticidade do Mundo Novo (PEREIRA et al., 2010).

Assim como em outras culturas, o café também apresenta susceptibilidade a pragas, doenças e outras condições desfavoráveis a sua produção, causadas por fungos, vírus, bactérias e nematoides. As perdas mais significantes derivadas dessa origem são doenças causadas por fungos, como a ferrugem do cafeeiro, antracnose, murcha do cafeeiro e mancha-de-olho-pardo (HINDORF e OMONDI, 2011; MARTINS et al., 2008).

Das 141 cultivares de *C. arabica* que estão registradas no Registro Nacional de Cultivares (RNC) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (2021) 66 são do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), 40 da Fundação de Apoio à Tecnologia Cafeeira (FUNPROCAFÉ), 20 da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) e 15 do Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IAPAR) (MAPA, 2022), porém, ainda hoje, 95% das variedades utilizadas pelos produtores são suscetíveis à ferrugem (CABRAL et al., 2016). Entre essas cultivares, estão Catuaí e Mundo Novo, que são preferidas pelos agricultores pela rusticidade, produtividade, capacidade de adaptação e alta qualidade de bebida (SOUZA, 2015).

Com a chegada da ferrugem alaranjada do cafeeiro no Brasil, o melhoramento genético do *C. arabica* tomou um novo rumo (CARVALHO, 2007). Novos programas de melhoramento tiveram de ser criados, tais como os do Instituto Brasileiro do Café (IBC), extinto na década de 90, a Universidade Federal de Viçosa (UFV), o Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR), a Universidade Federal de Lavras (UFLA) e a Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), com o intuito de lançar cultivares que apresentassem alta produtividade e tolerância à ferrugem (FILHO et al., 2008).

Mesmo com a existência de um número considerável de genótipos que apresentam certo nível de resistência, os programas de melhoramento continuam buscando incorporar novos genes de resistência, devido ao fato de que o fungo *Hemileia vastatrix* possui uma alta variabilidade genética, que dificulta muito a previsão da durabilidade da resistência das cultivares lançadas (VÁRZEA; MARQUES, 2005).

Além do melhoramento visando a resistência a ferrugem, existem outras linhas de pesquisas do cafeeiro que são desenvolvidas pelos órgãos públicos, tais como: resistência a nematoides, resistência ao bicho mineiro (*Leucoptera coffeella*), baixos teores de cafeína nos grãos, maior uniformidade de maturação, resistência a broca dos frutos (*Hypothenemus hampei*), maior tamanho de grão e melhor qualidade de bebida (MEDINA FILHO et al., 2008).

Também é importante ressaltar que os programas de melhoramento do cafeeiro, assim como na grande maioria das espécies perenes, são muito onerosos e necessitam de uma grande quantidade de colheitas e avaliações. Segundo relatos na literatura, são necessárias no mínimo quatro colheitas para a validação das melhores progênies (MISTRO et al., 2008; VIERA et al., 2019; PEREIRA et al., 2013), deste modo, o

tempo mínimo necessário desde a hibridação até o lançamento da cultivar é de aproximadamente 30 anos.

Devido ao número de genes que controla a resistência à ferrugem do cafeeiro, a metodologia mais utilizada nos programas de melhoramento para este caráter é a seleção recorrente. Um sistema cíclico e dinâmico que visa aumentar gradativamente a frequência de alelos favoráveis para a característica em questão, utilizando de repetidos ciclos de seleção, avaliação e recombinação (GERALDI, 2005). Desde que foi originalmente proposta em 1940, no melhoramento do milho, e adotada no melhoramento de autógamas em 1960, houve uma aceitação progressiva desta metodologia, que tem sido utilizada para várias culturas, como arroz (MORAIS et al., 2003) e feijão (RAMALHO et al., 2003).

A seleção recorrente se baseia em três etapas básicas: a obtenção da população segregante, a avaliação e seleção destas progênies e a recombinação das progênies selecionadas para formar o próximo ciclo de seleção. O método também tem a vantagem de permitir a obtenção de linhagens superiores a cada ciclo, maior eficiência no acúmulo de alelos favoráveis, viabilidade de inserção de germoplasma exótico na população e maior oportunidade de recombinação genética (GERALDI, 1997).

2.3. Ferrugem alaranjada do Cafeeiro

A ferrugem alaranjada do cafeeiro é a principal doença do cafeeiro no Brasil, mas ocorre em plantações da cultura espalhadas por todo o mundo. Causada pelo fungo *Hemileia vastatrix*, esta doença foi encontrada pela primeira vez em cafeeiros silvestres, no ano de 1861 na região do Lago Vitória, no Quênia (CHAVES et al., 1970). Nos primeiros 100 anos após a sua constatação, o patógeno disseminou-se por todos os países produtores da África, Ásia e Oceania. A identificação do patógeno ocorreu no Ceilão (atual Sirilanka) em 1869, país que atualmente é produtor de chá devido à alta gravidade da doença na área (MATIELO; ALMEIDA, 2006). O nome da espécie como *vastatrix*, deve-se a sua rápida disseminação e o nome do gênero *Hemileia* ao fato de os esporos possuírem metade da parede celular com aspecto liso e a outra metade de aspecto rugoso (BERKELEY, 1869).

No Brasil, a doença foi constatada pela primeira vez no sul da Bahia, em janeiro de 1970, e a partir disso, apesar dos esforços concentrados em conter a disseminação do patógeno, a doença encontra-se em todas as regiões cafeeiras do Brasil (CORREA

JUNIOR, 1990). Em lavouras adultas, a desfolha chega a ser tão intensa que reduz drasticamente a área fotossintética causando a morte dos ramos produtivos e conseqüentemente o pegamento de frutos e a produção na próxima safra (CHALFOUN; ZAMBOLIN, 1985), causando perda na produção de até 50% (ZAMBOLIN et al., 1999).

O patógeno é altamente influenciável pelas condições ambientais, tem como condições ideais para infecção temperaturas entre 20 e 25°C e molhamento foliar (ZAMBOLIN et al., 1985), com estas condições e em anos de alta produção, há um aumento significativo no ataque do patógeno (MARIOTO et al., 1974). O controle da ferrugem é feito utilizando os princípios de proteção e de terapia. Na proteção utilizam-se fungicidas chamados de protetores, principalmente os cúpricos, que têm sido mais eficientes. Na terapia se utiliza de fungicidas sistêmicos, aplicados via solo ou via foliar (ZAMBOLIN et al., 1997). Por mais que o controle químico venha se mostrando eficiente, devem ser levados em consideração outros fatores, como o custo, que pode ser alto, dependendo do produto utilizado, reduzindo assim a lucratividade da lavoura; o risco de contaminação apresentado aos trabalhadores e ao ambiente; e também a dificuldade de aplicação destes produtos em lavouras de difícil acesso, como lavouras implantadas e regiões de alta declividade.

Com isso, o mercado vem exigindo cada vez mais dos programas de melhoramento cultivares resistentes à ferrugem. Mas, o contínuo aparecimento de novas raças fisiológicas do fungo tem ocasionado a quebra da resistência das cultivares utilizadas pelos agricultores (VÁRZEA et al., 2002). Isso evidencia a necessidade de se obter cultivares com boas características agrônômicas e contendo uma resistência durável à *Hemileia vastatrix*.

Quando se fala sobre melhoramento visando resistência a doenças é de extrema importância o conhecimento sobre as raças fisiológicas do patógeno e dos genes que conferem esta resistência na planta. Bem como, a região onde se pretende introduzir esta resistência. O Centro de Investigação da Ferrugem do Cafeeiro (CIFC) em Oeiras, Portugal, caracterizou até o momento 50 raças de *H. vastatrix* no mundo (TALHINHAS et al., 2017). No Brasil foram identificadas 16 raças fisiológicas do fungo (I, II, III, VII, X, XIII, XV, XVI, XVII, XXI, XXII, XXIII, XXIV, XXV ou XXI, XXXIII, XXXVII) (ZAMBOLIM et al., 2005; CABRAL et al., 2009; CAPUCHO et al., 2012). Sendo que a raça II ocorre em maior frequência (ZAMBOLIM et al., 2005).

Estudos demonstram que a resistência à ferrugem do cafeeiro é determinada por pelo menos onze genes denominados S_{H1} a S_{H11} (ZAMBOLIM; CAIXETA, 2020). Em *C. arabica* foram identificados quatro genes de efeitos dominantes: S_{H1}, S_{H2}, S_{H4} e S_{H5} (BETTENCOURT; NORONHA-WAGNER, 1971), enquanto em *C. canephora* estão presentes os genes S_{H6}, S_{H7}, S_{H8} e S_{H9} (BETTENCOURT et al., 1980), também temos o gene S_{H3}, oriundo da introgressão de *C. liberica* em *C. arabica*, que tem tido bons resultados quanto a duração da sua resistência, sendo assim muito importante nos programas de melhoramento. Os genes S_{H10} e S_{H11} foram recentemente descobertos em clones de Híbrido de Timor, a partir de técnicas de biologia molecular (BARKA et al., 2010 e ALMEIDA et al., 2020).

Uma das maneiras em que se pode conferir ou testar a resistência de genótipos à ferrugem, sem utilizar das ferramentas de biologia molecular, é a inoculação do fungo no genótipo de interesse e a avaliação da sua reação quanto à infecção. Desta forma, se garantida uma boa inoculação, com concentração de inóculo adequada, temperatura, umidade e intensidade de luz ideal para o desenvolvimento da doença, podemos identificar os genótipos que se comportam de maneira mais ou menos suscetível à *Hemileia vastatrix*.

A principal forma de avaliação da severidade de doenças de plantas em geral é por meio da utilização de escalas diagramáticas (BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996). Tal forma de avaliação é de ampla aplicabilidade, fácil manuseio e também capaz de gerar dados adequados tanto para análise epidemiológica quanto para avaliação de perdas e danos causados às lavouras (AMORIM et al., 1993).

A elaboração de escalas diagramáticas, segundo Campbell e Madden (1990) deve levar em consideração quatro pontos principais: I – o limite superior da escala deve corresponder à severidade máxima da doença observada no campo. Tal limite, na escala, pode ser representado por um valor real, que geralmente é observado em torno de 50%, ou por um valor relativo igual a 100%; II – A necessidade de uma alta precisão da determinação da quantidade real de doença no campo e a sua representação de referência na escala; III – As subdivisões da escala elaborada devem respeitar os limites da acuidade visual humana estabelecidos pela lei de estímulo visual de Weber Fechner (JAMES, 1974), que afirma que a percepção da distância entre dois intervalos é aumentada quando a distribuição dos níveis é regulada por incrementos logarítmicos (ANGELOTTI et al., 2008; BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1996); IV – A capacidade visual humana lê tecido doente para severidades abaixo de 50%, enquanto lê tecido

sadio para severidades superiores a 50% (CUNHA, 2011). Caso esses critérios sejam respeitados, as escalas podem ser desenvolvidas para avaliar a severidade de várias doenças em inúmeras culturas, como feito em cana-de-açúcar (AMORIM et al., 1987), feijão (JAMES, 1971; DÍAZ et al., 2001), trigo (HORSFALL; BARRATT, 1945; EYAL et al., 1983), entre outros.

2.4. Visão Computacional Aplicada ao Melhoramento de Plantas

Com o avanço das tecnologias de computação, a automatização dos processos antes considerados demorados e totalmente dependentes da experiência de avaliadores tornou-se possível. Desta forma, a utilização da fenotipagem de alto rendimento com rápida e precisa mensuração de uma grande quantidade de amostras é uma poderosa ferramenta a ser utilizada em programas de melhoramento (ARAUS; CAIRNS, 2014). Estas ferramentas vêm cada dia mais sendo desenvolvidas e adotadas pelos pesquisadores, e, com o avanço tecnológico, se tornando mais acessíveis à comunidade científica em geral. No melhoramento de plantas, a obtenção de fenótipos e construção de bancos de dados pode ser feita utilizando-se imagens obtidas a partir de câmeras de alta resolução até imagens obtidas via smartphones, dependendo da característica a ser estudada. Tal característica chama atenção para o seu uso, uma vez que as ferramentas são capazes de avaliar caracteres agronômicos e morfofisiológicos de centenas ou milhares de amostras de diferentes plantas, em um pequeno intervalo de tempo, sem a demanda de grande mão-de-obra (GEBREMEDHIN et al., 2019).

A visão computacional é um conjunto de métodos utilizados para a extração e interpretação de informações geradas a partir de imagens obtidas, tendo como foco a mínima intervenção humana. Este sistema busca simular a visão humana, utilizando como entrada uma imagem, e como saída uma interpretação da imagem, seja por meio de gráficos, números ou outras formas de interpretação (MARENGONI; STRINGHINI, 2009). O sistema de processamento de imagens é feito em etapas, sendo estas: aquisição, pré-processamento, segmentação, extração de características e classificação (PEDRINI; SCHWARTZ, 2008). A aquisição da imagem pode ser feita por vários dispositivos, como scanners, câmeras digitais, câmeras de vídeo, imagens via satélite, smartphones, entre outros. A imagem obtida a partir deste processo precisa de um pré-processamento, uma vez que, na maioria das vezes, possui algumas imperfeições, esse pré-processamento constitui-se de ajustes de brilho e contraste, diminuição de ruídos e

melhoria nas cores obtidas. A segmentação é realizada a fim de extrair e identificar as regiões de interesse que serão utilizadas na análise da imagem, excluindo o que não se é necessário. Tendo então a imagem segmentada, realiza-se as extrações e classificações de interesse ao avaliador (RIBEIRO, 2016).

Uma imagem é constituída por um enorme conjunto de pixels, os pixels são definidos como o menor ponto de uma imagem. Este se torna um elemento de uma matriz de vários pixels, que representará a imagem que foi obtida anteriormente, assumindo determinados níveis de escalas de cinza (0 a 255) em uma imagem monocromática, no qual, zero representa os tons mais escuros possíveis, enquanto 255 os tons mais claros possíveis (PEDRINI; SCHWARTZ, 2008).

Conhecendo os valores dos pixels de nosso interesse, podemos utilizar essa referência para inúmeras avaliações, como quantidade de pixels de interesse em um espaço amostral, área que determinados valores de pixels ocupam em um espaço amostral, entre outros. Desta forma, pode-se então chegar a níveis de severidade de doenças, quantidade de pústulas em uma folha, intensidade de desfolha por pragas, entre outras inúmeras avaliações.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi dividido em duas etapas, nas quais as atividades de desenvolvimento do algoritmo, coleta de folhas, captura de imagens e avaliação antecederam o experimento de inoculação de folhas de cafeeiro em ambiente controlado. A divisão das etapas permitiu um bom estabelecimento e validação da metodologia antes desta ser utilizada no segundo experimento, garantindo maior confiabilidade e assertividade nas avaliações.

3.1. Obtenção e Avaliação das Imagens

Para se desenvolver a ferramenta de visão computacional utilizada neste trabalho, foram coletadas, em cafezais, cerca de 1.000 folhas que apresentassem alguma manifestação da ferrugem alaranjada do cafeeiro. A coleta das folhas foi realizada nos experimentos implantados na área experimental de cafeicultura do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (DAG – UFLA), não se levando em consideração quais cultivares estavam sendo analisadas, e sim a presença da doença para quantificação. O processo de captura das imagens foi realizado no Laboratório de Fenômica, no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (DBI – UFLA), mediante um estúdio fotográfico composto por uma câmera Canon EOS 60D, utilizando um tecido de fundo infinito preto para evitar reflexos durante a obtenção das imagens. Cada folha coletada foi fotografada individualmente no mesmo ponto no interior do estúdio, para garantir que o foco da câmera fotográfica se mantivesse sempre o mesmo.

O processamento e a análise das imagens obtidas foram realizados em linguagem de programação Python, utilizando os pacotes OpenCV (BRADISKI, 2000) e Scikit-Image (VAN DER WALT et al, 2014). As imagens obtidas pela câmera fotográfica são compostas por três matrizes de cores, sendo estas R, G, e B, que utilizam de intensidade das cores vermelho, verde e azul, respectivamente. Para a manipulação e o melhor resultado das quantificações de severidade, as imagens foram convertidas por outras matrizes de cores existentes, sendo utilizadas imagens em escala de cinza para a obtenção da segmentação da folha com o fundo da imagem, e YCRCB para a segmentação das pústulas desenvolvidas pelo fungo com as folhas afetadas pela doença.

Para a segmentação da folha com o fundo, as imagens em RGB foram convertidas em imagens de escala de cinza e utilizou-se a técnica de Canny, que consiste na detecção de bordas pela similaridade de intensidade de cor de pixels vizinhos, para o reconhecimento do contorno da folha e conseqüentemente a sua segmentação do fundo utilizado. Desta forma, obtêm-se o maior contraste possível para a imagem e então uma máscara é criada, esta máscara é utilizada para a obtenção de uma imagem que possua apenas a folha, sem o fundo.

Para as pústulas desenvolvidas pela doença, foi utilizado o espaço de cores YCRCB, que foi separado em suas três matrizes e então utilizado o canal CR em escalas de cinza para criar uma máscara que permitiu a binarização da imagem, esse processo tem como função impor valores de zero (preto) para o tecido foliar sadio e valores de 255 (branco) para o tecido foliar afetado pelo fungo. Desta forma, obtêm-se o maior contraste possível também para essa etapa de processamento das imagens, assim, a máscara é utilizada para a obtenção de uma imagem que possua apenas as pústulas do fungo, sem o fundo da foto original e também sem a área de tecido foliar sadio.

Feitas as segmentações e obtidas as imagens, calculou-se a área em pixels das duas imagens segmentadas, folhas e lesões, e então, a partir destas informações estimou-se a severidade calculada com base nestas áreas, utilizando a razão:

$$\text{Severidade} = \frac{\text{Área Foliar Afetada}}{\text{Área Foliar Total}} * 100$$

Deste modo, têm-se uma estimativa do dano causado pela doença calculada por meio da visão computacional, que pode diminuir o erro relacionado a avaliações baseadas na visão humana, que têm uma tendência de superestimar a severidade causada pela ferrugem alaranjada do cafeeiro, como observado em outros trabalhos (SHERWOOD *et al.*, 1983; NEWTON; HACKETT, 1994; PARKER *et al.*, 1995; DIAZ *et al.*, 2001; LEITE; AMORIM, 2002).

Para fins de verificação da qualidade de avaliação da ferramenta desenvolvida, foram tomadas ao acaso 50 imagens de folhas doentes, na qual a severidade da doença foi calculada por meio tanto do *script* desenvolvido, quanto do *Quant Software* (VALE *et al.*, 2003) programa desenvolvido para avaliação e quantificação de doenças em plantas já utilizado e consolidado em outros estudos de quantificação de severidade de doenças por imagens (CUNHA *et al.*, 2001; CAPUCHO *et al.*, 2011; RIOS *et al.*, 2013; MONZANI *et al.*, 2018). Os dados obtidos foram submetidos a análise de correlação

para compreensão do quão correlacionadas foram as duas estimativas obtidas e também foi calculado o desvio entre as duas avaliações.

3.2. Desenvolvimento e Validação da Escala Diagramática

A partir das imagens de folhas afetadas pela ferrugem alaranjada do cafeeiro anteriormente obtidas, o material foi aproveitado para a elaboração e validação de uma nova escala diagramática para avaliação de *Hemileia vastatrix*. Para isso, foram utilizadas as fotos de alta resolução e o algoritmo desenvolvido para aumentar a qualidade da avaliação e quantificar as diferentes severidades da doença em cada uma das imagens. Após estimadas e selecionadas as imagens que melhor representavam as severidades calculadas, foi elaborada uma escala diagramática com sete níveis (1-7), na qual cada nível é representado por três imagens contendo folhas de cafeeiro afetadas por *Hemileia vastatrix*, com exceção do nível 1, que representa folhas saudáveis, portanto, com severidades iguais a zero, enquanto que, para os outros níveis, a severidade apresentada na escala diagramática é ilustrada de maneira progressiva, dessa forma, o limite inferior de um nível é menor que o limite superior do mesmo, favorecendo a compreensão da abrangência de cada nível para o avaliador.

A escala diagramática desenvolvida foi validada por 12 avaliadores sem experiência em avaliação visual de doenças em plantas, dessa forma, foi feita uma avaliação sem o auxílio da escala, em que os avaliadores definiram porcentagens de severidade para as folhas doentes e, posteriormente, foi realizada outra avaliação utilizando-se da escala elaborada. As fotos foram disponibilizadas para todos os avaliadores e estes realizaram suas avaliações por seus próprios computadores. As severidades e as notas atribuídas de cada avaliador foram comparadas com as severidades e notas estipuladas pela análise de visão computacional, considerada como a verdadeira severidade e nota de referência. A quantidade de acessos de uma escala diagramática depende dos intervalos mínimo e máximo encontrados por meio das análises de imagens e é necessário que sejam respeitados os limites da acuidade visual humana estabelecidos pela lei de estímulo-resposta de Weber Fechner (JAMES, 1974).

Obtidas as severidades e as notas de todos os avaliadores, avaliou-se a concordância entre as estimativas e os valores reais para cada avaliador, esta avaliação foi feita a partir da análise do coeficiente de correlação de concordância proposto por Lin (1989) (ρ_c), representado por $\rho_c = C_b * r$, em que C_b é dado pela medida da

exatidão, que expressa a proximidade entre a melhor reta ajustada aos dados, enquanto r é dado pelo coeficiente de correlação entre a severidade estimada (Y) e a severidade real (X), que medirá a precisão da melhor linha ajustada. O coeficiente C_b é derivado de $C_b = \frac{2}{(v+1/v+u^2)}$, em que $v = \frac{\sigma_y}{\sigma_x}$, cujo σ_y e σ_x são os desvios padrões de Y e X, e $\mu = \frac{(\mu_x - \mu_y)}{\sigma_x \sigma_y}$, cujo μ é ao valor médio de Y e X (DOMICIANO et. al, 2014). O componente v mede a diferença entre os valores reais e estimados a partir da diferença na inclinação das duas linhas, portanto, retas igualmente inclinadas resultarão em um $v = 1$. O componente μ mede a diferença entre a posição das duas retas traçadas em relação à altura, portanto, alturas iguais resultam em $\mu = 0$. Desta forma, o ideal para este sistema de avaliação é que, para que se tenha uma perfeita concordância, os valores dos componentes sejam $v = 1$, $\mu = 0$ (NITA et al., 2003; BOCK et al., 2010).

3.3. Experimento de Inoculação em Placas de Petri e Comparação de Escalas

Foi realizado um experimento para o desenvolvimento de um novo método de inoculação e manutenção de experimentos de *Hemileia vastatrix* em *Coffea arabica*, no qual o material vegetal utilizado foram folhas de cafeeiro destacadas, que após inoculadas são levadas a ambiente controlado para armazenamento e manutenção em Placas de Petri. O intuito do experimento foi solucionar problemas que fogem ao controle do experimentador quando é necessário realizar experimentos de inoculação desta doença, como quantidade de material vegetal disponível, espaço, quantidade de inóculo para realizar a inoculação, dificuldade de manter uma grande quantidade de plantas no escuro em condições de campo, devido à necessidade de horas de escuro para infecção do fungo, entre outros.

O experimento foi conduzido em delineamento experimental fatorial triplo inteiramente casualizado, em ambiente controlado, realizado no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (DBI – UFLA), no qual os fatores foram: cultivares, método de avaliação e avaliadores. Para realizar o trabalho foram utilizadas as cultivares comerciais de café Catiguá MG2, MGS Aranãs e MGS Paraíso 2, consideradas resistentes à doença; Bourbon Amarelo e Catuaí Vermelho IAC 144, que apresentam reação de susceptibilidade. Para cada tratamento, utilizou-se um total de 15 repetições, na qual cada repetição representada por uma folha destacada o que correspondeu a uma parcela, formando então 75 parcelas em todo o experimento.

Quanto ao método de avaliação, avaliou-se a diferença entre avaliações realizadas presencialmente, ou seja, o avaliador tendo o material avaliado em mãos, e também a avaliação remota, no qual cada avaliador fez as suas estimativas utilizando fotografias do material a ser avaliado. Foi avaliada também a diferença entre avaliadores, para compreensão da diferença de avaliação entre avaliadores e se essa diferença seria significativa em um estudo de ranqueamento de tratamentos, além da avaliação dos tratamentos individualizados.

Foram coletadas das cinco cultivares, folhas saudáveis, jovens e totalmente expandidas, cujo desenvolvimento estivesse completo e que não apresentassem nenhuma característica de dano foliar. A inoculação foi realizada a partir de uredósporos do fungo *Hemileia vastatrix* presentes nas lavouras de café da Universidade Federal de Lavras, pelo método sugerido por Tozzi et al (2013), modificando o método de pipeta para inoculação por aspersão, no qual inoculou-se as folhas imediatamente após a sua remoção da planta mãe.

Os uredósporos do fungo foram coletados com cápsulas de gelatina por meio da raspagem em folhas infectadas presentes na lavoura e posteriormente foram armazenados em ambiente controlado, na ausência de luz e sob uma temperatura de 21°C (ZAMBOLIM; CHAVES, 1974). A partir destes uredósporos, foi feita uma suspensão aquosa, utilizando água destilada + Tween 20, sendo o Tween 20 um agente facilitador do espalhamento dos esporos na suspensão, fazendo com que a inoculação seja mais uniforme e homogênea. A concentração de uredósporos do fungo por ml de suspensão foi quantificada via câmara de Neubauer, no qual foi encontrada uma concentração de $1,8 \times 10^6$ e a viabilidade do inóculo foi avaliada pelo teste de germinação em meio ágar-água a 2% (RABELLO et al., 2021). O conhecimento da viabilidade dos uredósporos é fundamental para quantificar a real pressão de inóculo a que as folhas serão submetidas (GODOY & FLAUSINO, 2004; POSADA & VEJA, 2006).

A suspensão obtida foi despejada em um borrifador que foi utilizado para a inoculação da face abaxial de folhas de cafeeiro totalmente sadias oriundas das plantas selecionadas previamente. As folhas destacadas foram então borrifadas com a suspensão de modo que toda a área foliar fosse coberta e que a suspensão não escorresse, mantendo as gotículas da suspensão sobre todas as folhas inoculadas e preservando uma umidade próxima a 100%, uma vez que os uredósporos necessitam desta umidade presente para que possam germinar e então infectar o tecido foliar. As folhas inoculadas

foram alocadas em placas de Petri contendo meio ágar-água a 2%, e armazenadas em saco de autoclave, para que a umidade desejada se mantivesse. Posteriormente, todas as placas de Petri foram transferidas à uma câmara de ambiente controlado, as quais foram submetidas inicialmente a um período de 48 horas de ausência de luz e temperatura de 24°C, e, após esse período, foram submetidas a fotoperíodo de 12 horas de luz e 24°C, condições consideradas ótimas para o processo de germinação e infecção da doença (CAPUCHO et al. 2009, TALHINHAS et al., 2017).

A avaliação do experimento, foi realizada 35 dias após a inoculação, período médio para que se obtenha o desenvolvimento do patógeno e uma severidade considerável da doença a ser avaliada, e levando em consideração evitar a degradação do material vegetal a ser avaliado (VÁRZEA; MARQUES, 2005). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, conforme o seguinte modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + A_j + M_k + CA_{ij} + CM_{ik} + AM_{jk} + CAM_{ijk} + E_{ijk}$$

em que:

Y_{ijk} é o valor observado na i-ésima cultivar, pelo j-ésimo avaliador e pelo k-ésimo método de avaliação;

μ é a média geral do experimento;

C_i é o efeito da i-ésima cultivar;

A_j é o efeito do j-ésimo avaliador;

M_k é o efeito do k-ésimo método de avaliação;

CA_{ij} é o efeito da interação entre cultivar i e avaliador j;

CM_{ik} é o efeito da interação entre a cultivar i e método de avaliação k;

AM_{jk} é o efeito da interação entre o avaliador j e o método de avaliação k;

CAM_{ijk} é o efeito da interação entre a cultivar i, o avaliador j e o método de avaliação k;

E_{ijk} é o efeito do erro associado ao valor observado na i-ésima cultivar, pelo j-ésimo avaliador e pelo k-ésimo método de avaliação.

Foi avaliado também a proximidade das avaliações de cada avaliador, para cada escala diagramática, com os dados reais de severidade da doença, estimados pelo algoritmo desenvolvido neste trabalho, por meio de análise de correlação. O teste de Tukey foi realizado para agrupar as médias de cultivares de café quando detectadas diferenças significativas na reação em relação a ferrugem.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Obtenção e Avaliação das Imagens

Para avaliar a eficiência de quantificação da severidade de ferrugem nas folhas coletadas pela ferramenta desenvolvida neste presente trabalho, avaliou-se a diferença entre as estimativas obtidas pelo *script* desenvolvido e pelo *QUANT Software* (VALE *et al.*, 2003), programa desenvolvido para quantificação de doenças em plantas e utilizado na maioria dos trabalhos que desenvolvem escalas diagramáticas para avaliações (CAPUCHO *et al.*, 2011; RIOS *et al.*, 2013; MONZANI *et al.*, 2017).

Alguns processos durante a quantificação de doenças de plantas pelo QUANT demandam maiores esforços do avaliador para a utilização da ferramenta. Uma das etapas que diminuem a velocidade da quantificação da doença pelo QUANT é a retirada do fundo da imagem, que deve ser feita manualmente pelo usuário da ferramenta antes de importar a imagem para o *software*. Caso esse fundo não seja retirado, o programa não reconhece os padrões de fundo da foto, folha e lesões. Outro fato é a seleção manual da área afetada pela doença para que o programa reconheça os padrões dos sintomas, dessa forma, o mesmo consegue separar o que é tecido sadio e o que é tecido doente, e posteriormente fazer o cálculo da severidade. Porém, é um processo que demanda tempo e quanto maior a severidade da doença, maior o tempo requisitado por esta etapa. Ainda citando as carências do programa, é necessário que o avaliador faça a gravação de cada imagem quantificada manualmente e separadamente, folha a folha, para o computador.

Devido às observações referentes a utilização do QUANT, o *script* desenvolvido no presente trabalho se mostrou mais interessante na avaliação de imagens de folhas de cafeeiro afetadas por ferrugem, principalmente quando se tem a intenção de avaliar um grande número de materiais, pelos seguintes motivos: 1) A segmentação da folha, fundo e lesões é feita automaticamente; 2) O tempo gasto para avaliar centenas de imagens é de apenas alguns minutos; 3) A ferramenta tem como característica a gravação no computador das imagens segmentadas automaticamente, separando as máscaras de folha e lesões; 4) Não requer trabalhos manuais do avaliador durante o processo de quantificação; 5) A ferramenta se mostrou tão efetiva quanto o principal programa utilizado para quantificação de doenças em plantas.

Baseado nos resultados de correlação entre as duas variáveis e no desvio entre os valores estimados pelo script desenvolvido e pelo QUANT Software, pode-se observar que há uma grande correlação entre as duas avaliações, apresentando um $r = 0,99$, valor muito próximo a 1.

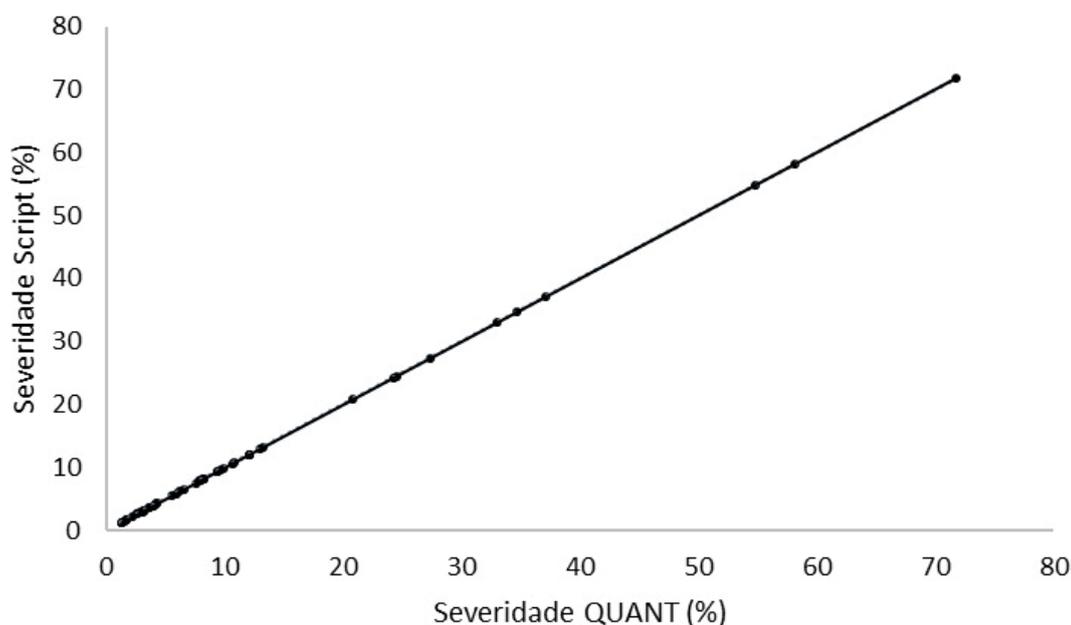


Figura 1 - Do autor (2022)

Figura 2 – Gráfico de correlação da severidade estimada pelo script desenvolvido no presente trabalho e da severidade estimada pelo QUANT Software.

Tabela 1 – Tabela de severidades de ferrugem em folhas de cafeeiro estimadas pelo script desenvolvido e pelo QUANT. Os desvios observados entre as duas estimativas demonstram uma alta semelhança nas estimativas obtidas pelas duas ferramentas de avaliação computacional.

Imagem	SCRIPT	QUANT	Desvio	Imagem	SCRIPT	QUANT	Desvio
1	2,54	2,60	-0,06	26	9,44	9,45	-0,01
2	6,49	6,51	-0,02	27	9,37	9,40	-0,03
3	2,19	2,18	0,01	28	24,54	24,51	0,03
4	1,63	1,60	0,03	29	58,15	58,18	-0,03
5	3,09	3,11	-0,02	30	20,76	20,84	-0,08
6	12,08	12,06	0,02	31	54,79	54,69	0,10
7	1,69	1,72	-0,03	32	7,58	7,53	0,05
8	6,17	6,14	0,03	33	71,72	71,71	0,01
9	9,63	9,58	0,05	34	37,04	37,01	0,03

10	5,58	5,61	-0,03	35	7,88	7,85	0,03
11	2,58	2,55	0,03	36	2,80	2,81	-0,01
12	12,12	12,11	0,01	37	24,25	24,21	0,04
13	4,26	4,25	0,01	38	1,25	1,22	0,03
14	4,09	4,11	-0,02	39	1,25	1,24	0,01
15	3,54	3,53	0,01	40	3,62	3,61	0,01
16	13,18	13,17	0,01	41	10,68	10,64	0,04
17	34,64	34,68	-0,04	42	1,57	1,57	0,00
18	12,02	12,04	-0,02	43	12,98	12,93	0,05
19	7,99	7,98	0,01	44	10,74	10,78	-0,04
20	8,27	8,25	0,02	45	3,96	3,86	0,10
21	8,23	8,23	0,00	46	9,93	9,87	0,06
22	4,24	4,25	-0,01	47	3,03	2,98	0,05
23	8,07	8,10	-0,03	48	5,85	5,82	0,03
24	27,31	27,33	-0,02	49	3,21	3,17	0,04
25	32,96	32,99	-0,03	50	1,29	1,25	0,04

Figura 3 - Fonte: Do autor (2022)

4.2. Escala Diagramática para Avaliação de *Hemileia vastatrix*

A escala diagramática desenvolvida no presente trabalho apresenta sete níveis de avaliação de folhas de cafeeiro, no qual encontrou-se intervalos de severidades de 0% (folha livre de doença), 1,25% (limite inferior) à 80% (limite superior) (FIGURA 2). Observou-se que, quando folhas doentes apresentam uma severidade superior a 50%, estas tenderam à senescência e conseqüente queda da planta mãe, por tal razão, não se observa uma grande quantidade de folhas com severidade superiores a esta em condições de campo.

Figura 4 – Escala diagramática para avaliação da ferrugem alaranjada do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*) desenvolvida no presente trabalho.

<p>Level 1 Severity 0%</p>	
<p>Level 2 0<Severity< 2,5%</p>	
<p>Level 3 2,5<Severity<5%</p>	
<p>Level 4 5<Severity<10%</p>	
<p>Level 5 10<Severity<20%</p>	
<p>Level 6 20<Severity<40%</p>	
<p>Level 7 Severity > 40%</p>	

Figura 5 Fonte: Do autor (2022)

Baseado nos resultados de análise de regressão, nos coeficientes estimados pela análise do coeficiente de concordância de correlação linear de Lin (ρ_c , C_b , v e μ) e nos gráficos elaborados a partir dos dados obtidos, pode-se observar uma expressiva melhora nos indicadores de qualidade de avaliação, quando utilizada a escala diagramática desenvolvida, para todos os 12 avaliadores que colaboraram com a realização do trabalho, demonstrando que tanto a acurácia quanto a precisão das

estimativas foram aumentadas. Quando observados os valores de indicadores de qualidade de avaliação, sem a utilização da escala diagramática, o coeficiente de correlação obteve uma média de $r = 0,82$, enquanto, com a utilização da escala, o coeficiente de correlação médio foi de $r = 0,97$, confirmando o aumento na precisão da avaliação. Para os outros indicadores obtidos pelo coeficiente de correlação linear de Lin, as médias obtidas sem a utilização da escala diagramática foram $C_b = 0,67$, $v = 1,45$, $\mu = 0,65$ e $\rho_c = 0,51$, enquanto, com a utilização da escala diagramática, estes valores foram $C_b = 0,99$, $v = 1,03$, $\mu = 0,06$ e $\rho_c = 0,97$, cujos valores se aproximaram mais dos valores de uma linha de perfeita concordância (FIGURA 3). Os valores obtidos sem a utilização da escala diagramática foram inferiores aos valores encontrados na literatura, o que demonstra a falta de experiência dos avaliadores em avaliações visuais, porém, quando se usou a escala diagramática desenvolvida, os valores obtidos se assemelham significativamente a outros trabalhos que desenvolveram escalas diagramáticas, como realizado por Capucho et al., (2011) e Rios et al., (2013). Além destes indicadores de melhoria na precisão da avaliação, outro indicador que evidencia a melhora da precisão da avaliação com a utilização da escala diagramática é a redução dos erros absolutos dos avaliadores (FIGURA 4).

A confiabilidade das estimativas foi determinada utilizando uma análise de regressão linear entre avaliadores para cada folha utilizando o coeficiente de determinação (R^2) para cada par de avaliações, quando avaliações entre dois avaliadores são idênticas, o coeficiente de determinação é igual a 1,00. Dessa forma, a confiabilidade das severidades estimadas se apresentou maior com a utilização da escala diagramática proposta no presente estudo. Para avaliações feitas sem a utilização da escala, os valores encontrados apresentam uma frequência de 92% em intervalos de R^2 menores que 0,9, enquanto, para as avaliações feitas com a utilização da escala diagramática, 100% das avaliações da confiabilidade entre avaliadores apresentaram R^2 superior a 0,9 (FIGURA 4).

Figura 7 – Estimativas da severidade de *Hemileia vastatrix* em *Coffea arabica* com e sem o uso de escala diagramática de avaliação, evidenciando a proximidade de severidade real e estimada para um total de 12 avaliadores. A linha tracejada representa a linha de perfeita concordância entre os dados estimados e dados reais ($v = 1$ e $v = 0$). A acurácia da avaliação foi determinada utilizando o Coeficiente de Correlação de Concordância de Lin

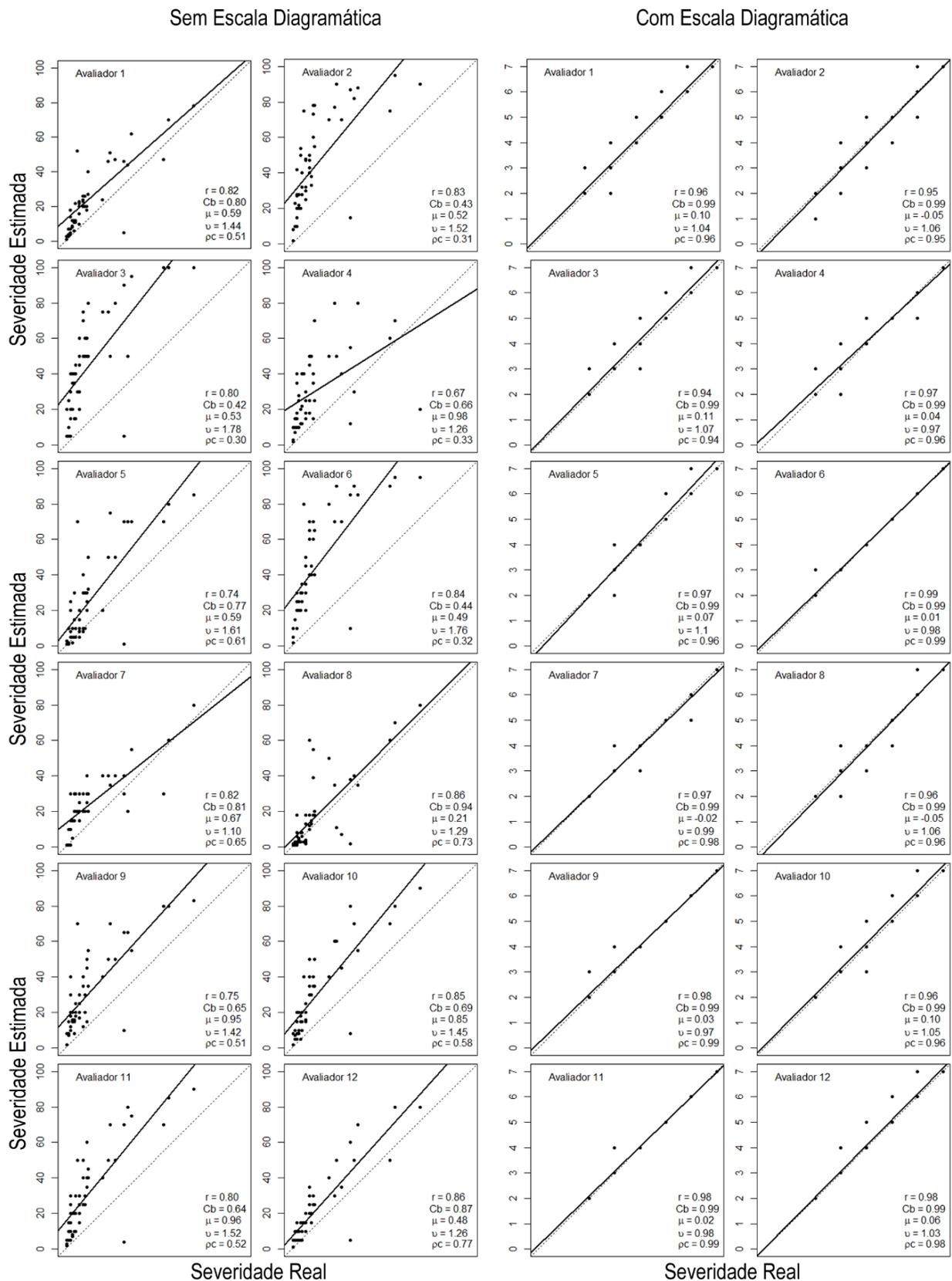
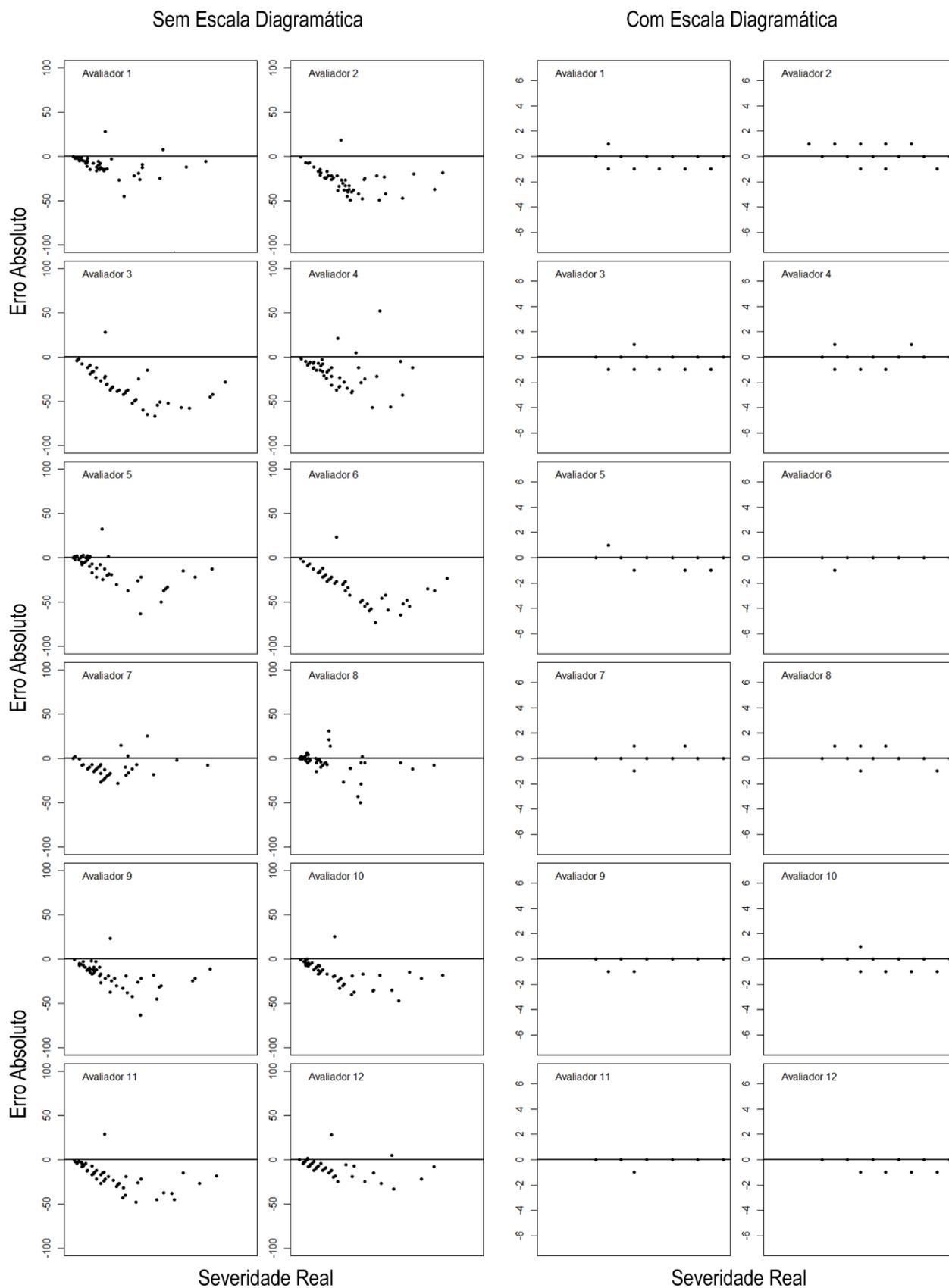


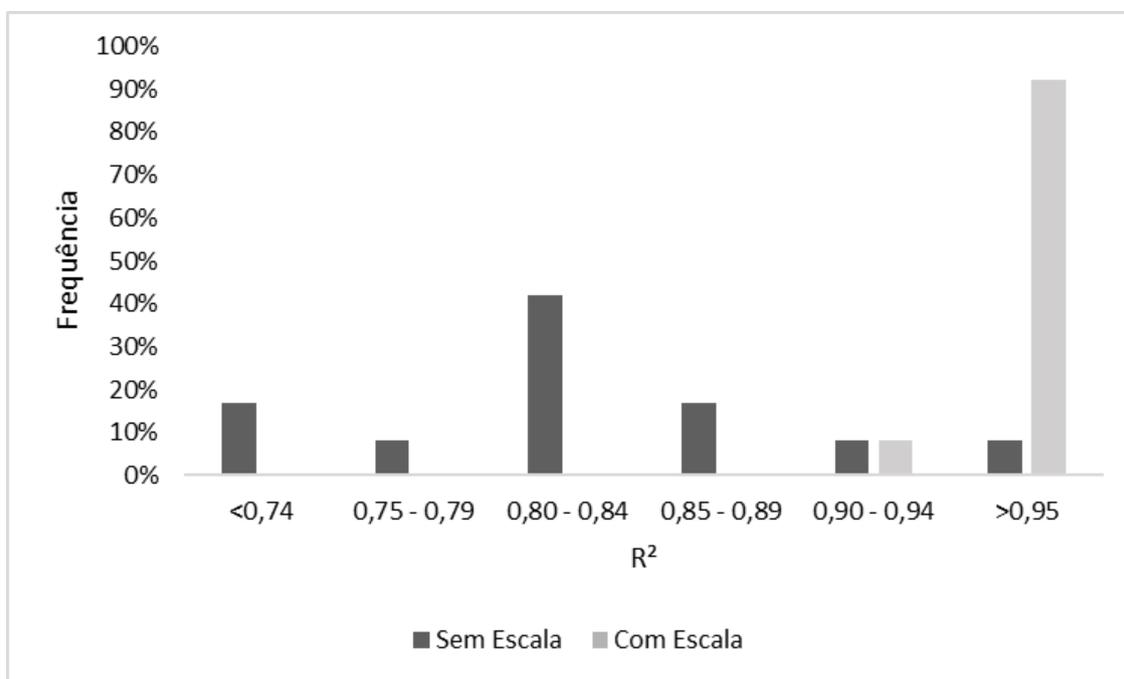
Figura 6 Fonte: Do autor (2022)

Figura 8 – Estimativas do erro absoluto de cada um dos 12 avaliadores com e sem a utilização da escala diagramática de avaliação.



Fonte: Do autor (2022)

Figura 9 – Confiabilidade entre avaliadores estimada pelo coeficiente de determinação (R^2) sem a utilização de escala diagramática e com a utilização de escala diagramática para quantificação da severidade de *Hemileia vastatrix* estimada por 12 avaliadores que avaliaram 50 imagens de *Coffea arabica* afetadas pela doença.



Fonte: Do autor (2022)

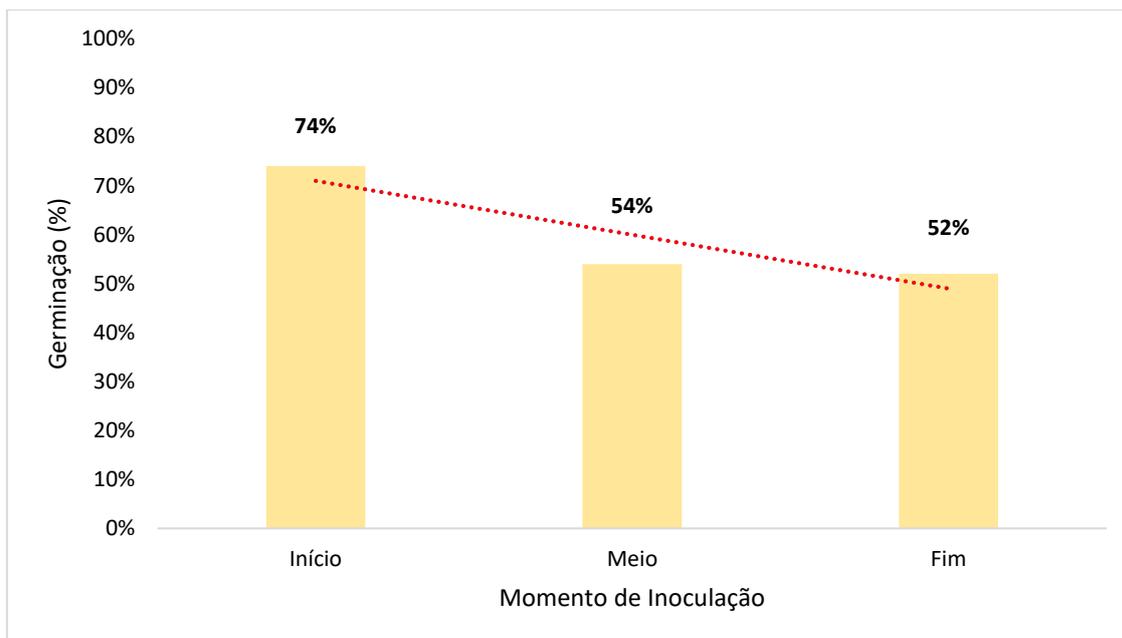
Quando comparadas as avaliações entre severidades reais e estimadas, a maioria dos avaliadores mantiveram uma tendência de superestimar os valores estimados, como observado em outros trabalhos de quantificação de doenças (DIAZ et al., 2001; LEITE et al., 2002; CAPUCHO et al., 2009) porém, essa superestimativa se mostrou inferior com a utilização da escala diagramática, diminuindo os erros associados de tais estimativas. Desta forma, os resultados apresentados no presente estudo evidenciam que a escala diagramática desenvolvida auxiliou os avaliadores a realizarem avaliações mais próximas dos valores reais, aumentando a confiabilidade dos resultados apresentados e diminuindo os erros associados à tal avaliação, podendo então auxiliar pesquisadores e instituições de pesquisa em avaliações futuras, tanto para o controle da doença, quanto para o processo de melhoramento visando a resistência a *Hemileia vastatrix*.

4.3. Experimento de Inoculação em Placas de Petri e Comparação de Escalas

4.3.1. Inoculação do Fungo *Hemileia vastatrix*

A viabilidade dos uredósporos de *Hemileia vastatrix* foi avaliada realizando teste de germinação do fungo em meio ágar-água 2%, dessa forma, avaliou-se a porcentagem de germinação dos esporos no início da inoculação, quando metade da inoculação tinha sido realizada, e no final da inoculação. Observou-se uma germinação de esporos maior que as encontradas na literatura por De Jong et al., (1987) e Rabello et al., (2021), entretanto, a porcentagem de germinação se aproximou à máxima encontrada (79,6%) por Mahfud et al., 2006. Uma explicação para tal divergência entre os resultados encontrados neste trabalho com o da literatura é que o teste foi realizado em três etapas, no qual o tempo pós-suspensão pode ter influenciado na viabilidade do inóculo. Observou-se uma queda brusca na capacidade de germinação dos uredósporos quando se avaliou a germinação entre início e meio da inoculação, tendo um decréscimo de 20% da capacidade de germinação do fungo. Esse decréscimo não foi tão brusco quando considero o tempo entre o meio e o final da inoculação, apresentando um decréscimo da capacidade de germinação de apenas 2% entre as duas etapas (FIGURA 10).

Figura 10 – Gráfico de resultados da viabilidade de uredósporos do fungo *Hemileia vastatrix* pelo teste de germinação em meio ágar-água 2%.



Fonte: Do autor (2022)

Levando em consideração as porcentagens de germinação apresentadas e o tempo médio gasto para realização da inoculação de todo o experimento, cujo foi de em média uma hora, pode-se observar que experimentos de inoculação deste fungo necessitam de uma agilidade entre a preparação da suspensão e a finalização da inoculação do material vegetal a ser inoculado. Desta forma, a queda da viabilidade do inóculo pode contribuir na diminuição da precisão experimental dos estudos que envolvem a doença e causar dificuldades nas análises dos dados obtidos.

4.3.2. Severidades Obtidas e Comparação de Escalas

Para comparação dos resultados obtidos das avaliações entre as duas escalas diagramáticas, primeiramente foi realizada uma análise de variância com os resultados das notas estimadas presencialmente e também das notas estimadas remotamente. Essa avaliação nos permitiu inferir, além das respostas entre cultivares, que não houve diferença significativa entre os dois métodos de avaliação, desta forma, avaliações que envolvam *Hemileia vastatrix* podem ser feitas a partir de fotos capturadas em um momento e serem avaliadas posteriormente, conforme o tempo hábil do avaliador.

Tabela 2 – Tabela de análise de variância para os resultados de severidade obtidos após 35 dias de inoculação das folhas destacadas.

FV	GL	SQ	QM	FC	Pr>Fc
Cultivares (C)	4	130.446	32.611	362.715	0*
Métodos de Avaliação (M)	1	0.089	0.089	0.999	0.318
Avaliadores (A)	3	2.777	0.925	10.298	0*
C x M	4	0.284	0.071	0.791	0.531
C x A	12	1.905	0.158	1.766	0.051
M x A	3	0.112	0.037	0.415	0.742
C x M x A	12	0.511	0.042	0.474	0.930
Erro	560	50.349	0.089		
Total	599	186.477			

CV = 19,91%

FV: Fator de Variação; GL: Graus de liberdade; SQ: Soma de quadrados; QM: Quadrado médio; FC: F calculado; Pr>Fc: P valor

Fonte: Do autor (2022)

Observou-se diferença significativa entre cultivares e avaliadores (TABELA 2), situação que já era esperada, por envolver cultivares de reações diferentes em relação a infecção por *Hemileia vastatrix* e por envolver diferentes avaliadores, que apresentam individualidade em relação a análise visual de doenças. Quanto às interações entre C x M, M x A, C x A, e C x M x A, nenhuma apresentou diferença significativa, desta forma, podemos concluir que não houve diferença no ranqueamento e estimativa de médias entre as diferentes cultivares por todos os avaliadores e métodos de avaliação. O resultado obtido se mostra satisfatório, pois confirma a não existência de diferenças na estimativa de médias envolvendo diferentes avaliadores e métodos de avaliação, fator que facilita a realização de mais estudos envolvendo a avaliação não somente de *Hemileia vastatrix*, mas também de outras doenças que podem acometer a cultura do café e outras culturas de importância econômica.

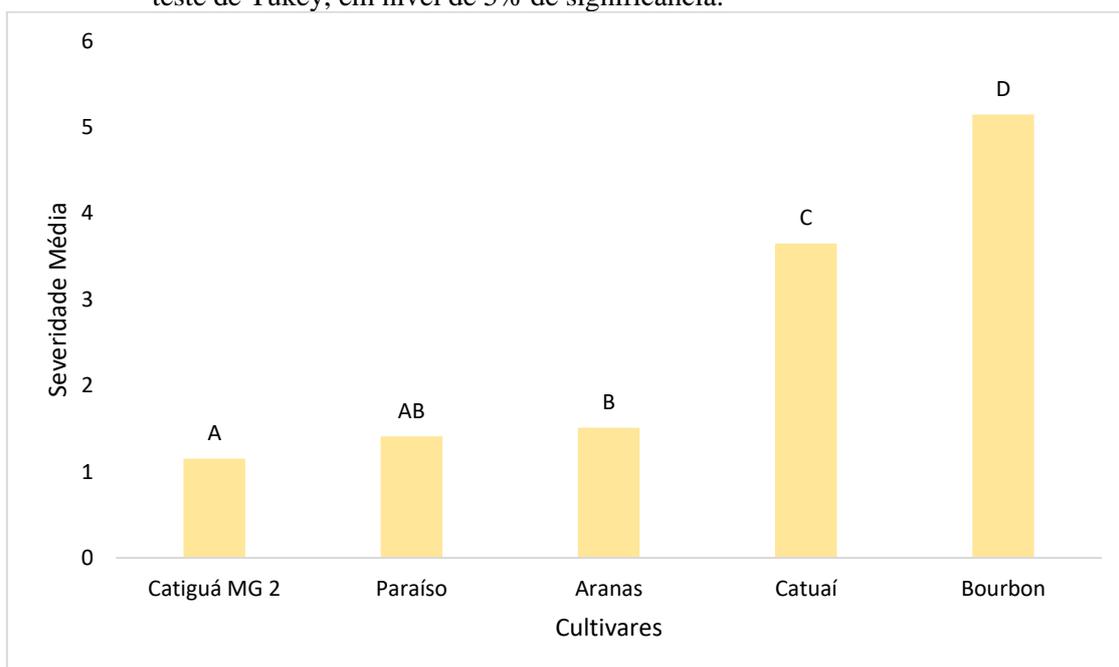
Quanto ao método de avaliação, é importante ressaltar que ambos os métodos mostraram-se efetivos em relação a estimativa das médias entre cultivares, podendo assim ser realizado tanto a avaliação presencial, com o material a ser avaliado em mãos, que já é realizada na maioria dos estudos envolvendo o uso de escalas diagramáticas e avaliação de doenças, quanto a avaliação remota via fotografias, com esta segunda se demonstrando como mais uma das estratégias para auxiliar pesquisadores em seus experimentos, por motivos como a não perda do material a ser avaliado por senescência,

o material avaliado continua disponível para futuras consultas e o conforto do avaliador em poder realizar as suas estimativas do próprio computador. Desta forma, a constatação de que não existe diferença entre os dois métodos de avaliação contribui para a facilidade deste tipo de avaliação e incentiva outros pesquisadores a inferir se para outras doenças essa diferença entre métodos seria significativa, aumentando a abrangência deste tipo de estudo.

A cultivar Catiguá MG 2, que apresentou uma média de severidade de 1,15 foi a única colocada no ranqueamento máximo entre as cultivares quanto ao comportamento de resistência à ferrugem, seguida das cultivares Paraíso, Aranãs, Catuaí Vermelho IAC 144 e Bourbon Amarelo, que apresentaram médias de severidade de 1,41, 1,51, 3,65 e 5,15 respectivamente (FIGURA 7). Os resultados de maiores severidades para as cultivares Catuaí Vermelho IAC 144 e Bourbon Amarelo já eram esperados, uma vez que estas cultivares são conhecidamente com suscetíveis a *Hemileia vastatrix*. Sendo assim, pode-se confirmar que, apesar do diferente método de inoculação realizado, o comportamento de cultivares suscetíveis e resistentes à doença não se alterou, evidenciando a manutenção da resistência de cultivares mesmo quando o material vegetal é separado da planta mãe. Da mesma forma, considerando as cultivares suscetíveis, estas não demonstraram comportamento diferente do esperado em relação a infecção pelo fungo quanto se retiraram as folhas da planta mãe, indicando a não indução diferenciada de resistência a doença.

Figura 11 – Gráfico de comportamento da severidade de *Hemileia vastatrix* nas cultivares Catigua MG2, Paraíso, Aranãs, Catuaí e Bourbon 35 dias após a inoculação.

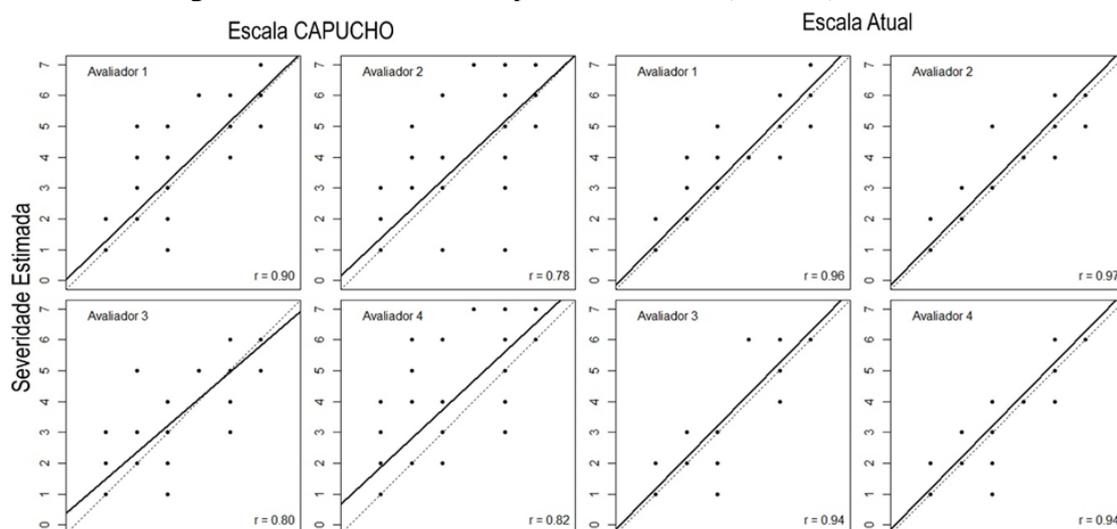
Médias seguidas pelas mesmas letras pertencem ao mesmo grupo, de acordo com o teste de Tukey, em nível de 5% de significância.



Fonte: Do autor (2022)

Quando utilizada a escala diagramática desenvolvida por Capucho et al., 2011 para avaliação da proximidade entre os dados reais e estimados de severidade de ferrugem utilizando os dados do experimento observou-se uma boa correlação, resultando em uma média de 0,83, considerada muito alta segundo a classificação de Hopkins (2000), em que o avaliador 1 obteve a maior correlação (0,9). Os demais avaliadores obtiveram correlações iguais a 0,78, 0,80 e 0,82, respectivamente (FIGURA 8). Os valores obtidos permitem inferir que a escala diagramática utilizada como referência neste estudo pode auxiliar pesquisadores na avaliação de plantas de café afetadas pela ferrugem, porém, apesar da média obtida pelos avaliadores em relação a acurácia da avaliação ser satisfatória, esta pode ser incrementada para que apresente valores superiores, aumentando o nível de confiança dos experimentos que envolvam a doença. Da mesma forma, foi avaliada a correlação entre os valores reais e estimados da doença para os mesmos tratamentos, desta vez utilizando a escala diagramática desenvolvida no presente trabalho, a correlação média, quando utilizada a escala diagramática atual foi de $r = 0,95$, considerada quase perfeita de acordo com a classificação de Hopkins (2000), em que o avaliador 2 foi o que obteve a maior correlação em relação aos dados reais de severidade (0,97). Os demais avaliadores obtiveram correlações iguais a 0,96, 0,94 e 0,94, respectivamente (FIGURA 8).

Figura 12 – Gráficos de correlação entre valores reais e valores estimados utilizando a escala diagramática desenvolvida por CAPUCHO et al., 2011 (a esquerda) e a escala diagramática desenvolvida no presente trabalho (a direita).



Fonte: Do autor (2022)

A escala diagramática desenvolvida se apresentou como uma boa alternativa no auxílio de pesquisadores que necessitam de um material auxiliar para realizar avaliações que envolvem *Hemileia vastatrix* em *Coffea arabica*, demonstrando a sua eficácia tanto em sua validação, quanto em um experimento de avaliação de desempenho de cultivares em relação a reação à ferrugem alaranjada do cafeeiro. Os resultados obtidos nos permitem inferir que a utilização de uma escala que utilize fotos reais e com boa resolução de folhas acometidas pela doença é benéfica para esse tipo de avaliação, aumentando então a precisão experimental e a acurácia de todos os avaliadores. Além disso, a utilização de fotografias para avaliação da severidade da doença se mostra de grande importância para a mensuração da proximidade dos avaliadores em relação aos valores reais, podendo assim os avaliadores treinarem as suas habilidades quando estão desenvolvendo projetos que envolvam a avaliação visual de doenças em plantas.

O presente trabalho apresenta uma importante contribuição no desenvolvimento tecnológico de ferramentas de análise de imagens para auxiliar os programas de melhoramento do cafeeiro, podendo ser estendidas à outras culturas, uma vez que difundidas as rotinas de análise de imagens, para melhorias e adaptações de outros pesquisadores.

A escala diagramática desenvolvida possibilitará aos avaliadores que não utilizem a ferramenta computacional, uma melhor confiabilidade no momento de estabelecerem severidades em suas avaliações utilizando notas.

5. CONCLUSÃO

O algoritmo desenvolvido no presente trabalho mostrou-se eficiente em identificar e quantificar lesões causadas pelo fungo *Hemileia vastatrix* em folhas de cafeeiro.

A escala diagramática desenvolvida no presente trabalho mostrou-se eficiente na quantificação da severidade de ferrugem do cafeeiro.

Não foi identificada diferença significativa entre avaliações realizadas por imagens e presencialmente.

A inoculação do fungo *Hemileia vastatrix* deve ser realizada de forma ágil, a fim de evitar uma redução drástica na viabilidade do inóculo.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. (2005) **Plant Pathology**. 5. ed. New York: Academic Press.
- BETTENCOURT, A.J.; NORONHA-WAGNER, M. (1971). Genetic factors conditioning resistance of *coffea arabica* L. to *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. **Agronomia Lusitana**, v. 31, p. 285-292.
- BETTENCOURT, A.J.; NORONHA-WAGNER, M.; LOPES, J. (1980). Factor genético que condiciona a resistência do clone 1343/269 (“Híbrido de Timor”) à *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. **Broteria Genética**, v.1, n. 76, p. 53-8.
- BETTENCOURT, A.J.; RODRIGUES Jr., C.J. (1988). Principles and practice of coffee breeding for resistance to rust and other disease. In: Clarke RJ, Macrae R (Eds) Coffee. Agronomy, vol 4. **Elsevier Applied Science**, London, pp 199–234.
- BRADSKI, G. (2000). The OpenCV Library. Dr. Dobb's. **Journal of Software Tools**.
- BRUNELLI, K.R.; SILVA, H.P.; CAMARGO, L.E.A. (2002). Mapeamento de genes de resistência quantitativa a *Puccinia polysora* em Milho. **Fitopatologia Brasileira** 27:134-140.
- BUFFARA, CLÁUDIA REGINA SCAPIN et al (2014). Elaboration and validation of a diagrammatic scale to assess downy mildew severity in grapevine. **Ciência Rural [online]**, v. 44, n. 8, p. 1384-1391.
- CABRAL, P.G.C.; MACIEL-ZAMBOLIM, E.; ZAMBOLIM, L.; LELIS, T. de P.; CAPUCHO, A.S.; CAIXETA, E.T. (2009). Identification of a new race of *Hemileia vastatrix* in Brazil. **Australasian plant disease notes**, v. 4, p. 129-130.
- CAPUCHO, A.S., ZAMBOLIM, L., DUARTE, H.S.S.; VAZ, G.R.O. (2011), Development and validation of a standard area diagram set to estimate severity of leaf rust in *Coffea arabica* and *C. canephora*. **Plant Pathology**, 60: 1144-1150.
- CAPUCHO, A.S.; ZAMBOLIM, E.M.; FREITAS, R.L.; HADDAD, F.; CAIXETA, E.T.; ZAMBOLIM, L. (2012). Identification of race XXXIII of *Hemileia vastatrix* on *Coffea arabica* Catimor derivatives in Brazil. **Australasian Plant Disease Notes** 7:1-3.
- CARVALHO, V. L.; CHALFOUN, S. M.; CUNHA, R. L. **Café Arábica do plantio a colheita**. 2010, v. 1, cap. 11, p 694. 2010.
- CARVALHO, N. L. (2012) Resistência genética induzida em plantas cultivadas. **Rev, Elet, em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**. 7(7), 1379-1390.
- CHALFOUN, S. M.; REIS, P. R. **Café Arábica do plantio a colheita**. 2010, v. 1, cap. 1, p 24. 2010.

CHIN, E.C.L.; SENIOR, M.L.; SMITH, J.S.C. (1996). Maize simple repetitive DNA sequences: abundance and allele variation. **Genome** 39:866-873.

CONAB. 2020. **Acomp. safra brasileira de café**, v. 6– Safra 2021, n. 2 – Segundo Levantamento, Brasília, p. 1-63, Maio, 2021.

CORREA JÚNIOR, A (1990). Estudos bioquímicos e fisiológicos da diferenciação de estruturas de infecção da ferrugem do café (*Hemileia vastatrix* Berk e Br.). 146 p. **Tese (Doutorado)** – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

CUNHA, R. L.; POZZA, E. A.; DIAS, W. P.; BARRETTI, P. B. (2011), Desenvolvimento e Validação de Uma Escala Diagramática Para Avaliar a Severidade da Ferrugem (*Hemileia vastatrix*) do Cafeeiro. **II Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**.

DE JONG, E.J., ESKES, A.B., HOOGSTRATEN, J.G.J., and ZADOKS, J.C. (1987), Temperature requirements for germination, germ tube, growth and appressorium formation of urediospores of *Hemileia vastatrix*. **Plant Pathol**, 93: 61-71.

DOMICIANO, G.P., DUARTE, H.S.S., MOREIRA, E.N. and RODRIGUES, F.A. (2014), Development and validation of a set of standard area diagrams to aid in estimation of spot blotch severity on wheat leaves. **Plant Pathol**, 63: 922-928.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. (1998). **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética** (3). Brasília: Embrapa-Cenargen. p. 220.
GAZOLLA, L. Modelagem do metabolismo do café durante a infecção por *Hemileia vastatrix* em plantas susceptíveis e resistentes. 2018. 78 p. **Dissertação (Mestrado em Bioquímica Aplicada)** – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

GERALDI, I. O. Por que realizar seleção recorrente? In: **Simpósio de Atualização em Genética e Melhoramento de Plantas**, 9., 2005, Lavras. Anais, Lavras: UFLA, 2005. 97 p.

GERALDI, I. O. Selección recurrente en el mejoramiento de plantas. In: GUIMARÃES, E. P. (Ed.). **Selección recurrente en arroz**. CIAT: Cali., p. 3-11, 1997

GICHURU, E.K.; ITHIRU, J.M.; SILVA, M.C.; PEREIRA, A.P.; VÁRZEA, V.M.P. (2012). Additional physiological races of coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*) identified in Kenya. **Tropical Plant Pathology** 37:424-427.

ICO (INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION) (2019). **ANNUAL REVIEW 2017-18**. LONDON: INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION.

JAMES, W.C. Assessment of plant diseases and losses. **Ann. Rev Phytopathol.**, 12:27-48, 1974.

MAHÉ, L.; COMBES, M.C.; VÁRZEA, V.M.P.; GUILHAUMON, C.; LASHERMES, P. (2008). Development of sequence characterized DNA markers linked to leaf rust

(*Hemileia vastatrix*) resistance in coffee (*Coffea arabica* L.). **Mol Breeding**. 21:105–113.

MARTINS, MÔNICA C. et al (2004). Escala diagramática para a quantificação do complexo de doenças foliares de final de ciclo em soja. **Fitopatologia Brasileira [online]**, v. 29, n. 2, pp. 179-184.

MEDINA FILHO, H.P.; RITA, B.; CARVALHO, C.H.S. Desenvolvimento de Novas Cultivares e Café Arabica. In CARVALHO, C.H.S. de (Ed.). **Cultivares de café: origem, características e recomendações**. Brasília: EMBRAPA Café, 2008. p. 79-102.

MISTRO, J.; FAZUOLI, LC.; FILHO, OG. (2008). Determination of the number of years in Arabic coffee progenies selection through repeatability. **Crop Breed Appl Biotechnol** 8: 79-84.

MORAIS, P. de M.; CASTRO, E. da M. de; SOARES, A. A.; PEREIRA, J. de A.; UTUMI, M. **Performance da população CG1 em seu terceiro ciclo de seleção**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2., 2003, Porto Seguro. Anais... Porto Seguro, 2003. 1CD-ROM.

OLIVEIRA, C.B.O.; CAIXETA, E.T.; MACIEL-ZAMBOLIM, E.; ZAMBOLIM, L.; SAKIYAMA, N.S. (2007). **Aplicação técnica de marcadores moleculares no melhoramento de plantas**. Documentos IAC, 81. Campinas: Instituto Agrônomo. P. 17.

PARAN, I.; MICHELMORE, R.W. (1993). Development of reliable PCR-based markers linkage to downy mildew resistance genes in lettuce. **Theoretical and Applied Genetics**, 85:985-993.

PEDRINI, H.; SCHWARTZ, W. R. **Análise de imagens digitais: Princípios, Algoritmos e Aplicações**, São Paulo: Thomson Learning, 2008. 508p.

PEREIRA, TB.; CARVALHO, JPF.; BOTELHO, CE. (2013). Eficiência da seleção de progênies de café F4 pela metodologia de modelos mistos (REML/BLUP). **Bragantia** 72: 230-236.

POSADA, F., VEGA, F. Inoculation and colonization of coffee seedlings (*Coffea arabica* L.) with the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). **Mycoscience**, 47 284–289 (2006).

PRAKASH, N.S.; MARQUES, D.V.; VARZEA, V.M.P.; SILVA, M.C.; COMBES, M.C.; LASHERMES, P. 2004. Introgression molecular analysis of a leaf rust resistance gene from *Coffea liberica* into *Coffea arabica* L. **Theoretical and Applied Genetics** 109:1311-1317.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. de F. B.; SANTOS, J. B. dos. **Progresso genético após quatro ciclos de seleção recorrente no melhoramento do feijoeiro**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2., 2003, Porto Seguro. Anais... Porto Seguro, 2003. 1CD-ROM.

RIBEIRO, S. S. **Métodos computacionais aplicados a agricultura: Phytos & Weka**. Rio de Janeiro: NovaTerra, 2016. 122p.

SOTO, B. **Análisis molecular de poblaciones segregantes de Pinus radiata**. 2001. 78 f. Monografía (Graduação em Engenharia Florestal)- Universidad Católica de Temuco, Temuco-Chile, 2001.

SOUZA, A. S. **Revista cafeeira. (Org.) 2015**. Disponível em:
<https://revistacafeicultura.com.br/index.php?tipo=revista>.

STANGARLIN, J.R., KUHN, O. J., TOLEDO, M. V., PORTZ, R. L., SCHWAN-ESTRADA, K. R. F., & PASCHOLATI, S. F. (2011) **A defesa vegetal contra fitopatógenos**. Scientia Agraria Paranaensis, 10(1), 18-46.

STINTZI, A. HEITZ, T., PRASAD, V., Wiedemann-Merdinoglu, S., Kauffmann, S., Geoffroy, P., LEGRAND, M., FRITIG, B. (1993) Plant 'pathogenesis-related' proteins and their role in defense against pathogens. **Biochimie**, 75(8), 687-706.
 against pathogens. **Biochimie**, 75(8), 687-706.

TALINHAS, P.; BATISTA, D.; DINIZ, I.; VIEIRA, A.; N. SILVA, D.; LOUREIRO, A.; TAVARES, S.; PEREIRA, A.P.; AZINHEIRA, H.G.; GUERRA-GUIMARÃES, L.; VÁRZEA, V.; DO CÉU SILVA, M. (2017). The coffee leaf rust pathogen *Hemileia vastatrix* one and a half centuries around the tropics. **Mol Plant Pathol**, 18(8), 1039-1051.

VAN DER WALT, S.; SCH'ONBERGER, S.; JOHANNES, L.; NUNEZ-IGLESIAS, J.; WARNER, J.D.; YAGER, N. (2014). Scikit-image: Image processing in Python. **PeerJ**, 2, e453.

VÁRZEA, V.M.P.; MARQUES, D.V. (2005). Population variability of *Hemileia vastatrix* vs. coffee durable resistance. In: ZAMBOLIM, L.; ZAMBOLIM, E. M.; VÁRZEA, V. M. P. (Eds.). **Durable resistance to coffee leaf rust**. Viçosa, MG: DFT/UFV. p.53-74.

VIEIRA JUNIOR, IC.; PEREIRA DA SILVA, C.; NUVUNGA, JJ. (2019) Mixture mixed models: biennial growth as a latent variable in coffee bean progenies. **Crop Science** 59: 1424-1441.

YU, Y.G.; SAGHAI MARROF, M.A.; BUSS, G.R.; MAUGHAN, P.J.; TOLIN, S.A. (1994). RFLP and microsatellite mapping of a gene for *Soybean mosaic virus* resistance. **Phytopathology** 84:60-64.

ZAMBOLIM, L.; MACIEL-ZAMBOLIM, E.; VALE, F.X.R.; PEREIRA, A.A.; SAKIYAMA, N.S.; CAIXETA, E.T. (2005). Physiological races of *Hemileia vastatrix* in Brazil: physiological variability, current situation and future prospects. In: ZAMBOLIM, L., ZAMBOLIM, E. M., VÁRZEA, V. M. P. (Orgs.). **Durable resistance to coffee leaf rust**. 1. ed. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema Gráfica e Editora Ltda. v. 1, p. 75-98.