Nota Científica

Un nuevo método de análisis digital para la determinación de los niveles de consumo foliar

Leonardo Sandrini-Neto¹, Leonardo Hostin¹, Paulo Lana¹ & Franciane Pellizzari¹

¹Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná,
Av. Beira Mar s/n, Pontal do Paraná, Paraná CEP 83255-000, Brasil

RESUMEN. Se propone un protocolo de utilización del programa computacional Adobe Photoshop CS2, versión 9,0, para la determinación de los niveles de herbivoría en hojas intactas y consumidas, tomando como ejemplo árboles de manglar. Los métodos manuales usuales consisten en el dibujo de la forma de la hoja en papel milimetrado, restaurando el formato original en caso que tenga los márgenes damnificados. Los métodos computacionales tienen como objetivo acelerar el tiempo de medición de la hoja con aplicativos, digitalizadores y medidores de áreas portátiles, que son más eficientes, veloces y económicamente viables que los manuales. La necesidad de restaurar los bordes de las hojas ya consumidas es un obstáculo en todas las metodologías. Sin embargo, la reconstrucción de los márgenes foliares consumidos se mostró más realista en el Adobe Photoshop por posibilitar un mayor ajuste al formato original de la hoja. Además, esta aplicación soporta la utilización de archivos compactados, como el formato JPEG, posibilitando un método sencillo, rápido y preciso para la determinación de los niveles o tasas de herbivoría foliar.

Palabras clave: área foliar, tasa de herbivoría, metodología, Adobe Photoshop, digitalización, manglar.

A new method of digital analysis to determine foliar consumption levels

ABSTRACT. A protocol using the computer program Adobe Photoshop CS2 (version 9.0) is proposed for determining the level of herbivory on intact and consumed leaves, using mangroves as an example. The usual manual methods consist of drawing the leaf on graph paper, restoring the original shape in cases of damaged edges. The computerized methods are intended to accelerate the leaf measurement time with applications, digitalization equipment, and portable area measurers that are more efficient, faster, and more economically viable than the manual methods. The need to restore the edges of the consumed leaves is an obstacle to all methodologies. Nonetheless, the reconstruction of the consumed foliar edges is shown to be more realistic with Adobe Photoshop, as this allows a better fit to the original shape of the leaf. Moreover, this application allows the use of compacted files such as JPEG, permitting a simple, rapid, and precise method for determining the levels or rates of foliar herbivory.

Key words: leaf area, herbivory rate, methodology, Adobe Photoshop, scanning, mangrove.

Autor corresponsal: Leonardo Sandrini-Neto (leonardosandrini@ufpr.br).

El área de la hoja consumida por herbívoros en florestas de mangle es altamente variable entre especies de árboles y las diferentes localidades del bosque. La importancia de esos consumidores en los modelos de flujo de energía ha sido muchas veces subestimada (Robertson *et al.*, 1992).

Diferentes métodos manuales y computacionales han sido aplicados para la determinación de la tasa de herbivoría. Los métodos manuales consisten básicamente en el dibujo de la hoja sobre un papel milimetrado, restaurando su forma original en caso de tener los bordes damnificados (Schaeffer-Noveli

& Cintrón, 1986). El área es medida contándose directamente los cuadrados englobados en el perímetro de la hoja. Variaciones en este método son frecuentes en varios trabajos de herbivoría en manglares. Lee (1986) determinó diferentes niveles de daños en las hojas de *Kandelia candel* (Rhizophoraceae), a partir de los cuales estableció qué procedimientos adoptaría para el cálculo del área foliar. Mediante ecuaciones de regresión, relacionó el área de hojas intactas usando medidas como altura y ancho, para estimar indirectamente el área de las hojas damnificadas.

Por otro lado, los métodos computacionales

buscan acelerar el tiempo de medición del área foliar a través de aplicativos, digitalizadores de mesa y medidores portátiles. Feller (1995) e Ignácio *et al.* (2005) citan la utilización del programa Autocad para el establecimiento del contorno de la hoja y el cálculo de las áreas consumidas e intactas, mientras que Filip *et al.* (1995) utilizaron el medidor del área foliar modelo LI-COR 3100. O'Neal *et al.* (2002) compararon la eficiencia del programa Scion Image Beta 4.0.2 para Windows con el medidor LI-COR-3000, obteniendo resultados con alta correlación ($R^2 = 0,99$) y concluyen que la utilización del programa computacional es más ventajosa por ser más rápida y viable económicamente. No obstante, el programa Scion Image, de uso libre (SCION Corporation, 2006), presenta limitaciones por trabajar con archivos más pesados y por poseer herramientas computacionales con menos recursos que los de uso comercial como el Adobe Photoshop.

En este trabajo, se propone un nuevo protocolo de ejecución rápida y simple para la determinación de los niveles de herbivoría en hojas, usando como ejemplo árboles de mangle, utilizando el programa Adobe Photoshop CS2, versión 9,0 y un digitalizador de mesa simple. El protocolo se realizó considerando un estudio previo relacionado con el reclutamiento y cobertura de macroalgas *Monostroma* sp. (Pellizzari, 2005).

El método consiste básicamente en la determinación de las áreas consumidas e intactas de hojas de especies de manglar previamente digitalizadas. Se sugiere una digitalización a color, en el formato JPEG y con 200 dpi de resolución, para proporcionar imágenes de alta calidad, así como archivos de tamaño reducido, que pueden ser rápidamente procesados en computadores con baja capacidad de memoria.

Las hojas digitalizadas deben pasar por un proceso que busque eliminar las sombras, restaurar el contorno original cuando sea necesario y estimar tanto el área efectivamente consumida como el área total en número de píxeles. El primer paso a ejecutar consiste en la eliminación de las sombras provenientes de la digitalización. Este proceso es crucial para la correcta determinación del área de las hojas porque impide que la porción ocupada por las sombras sea erróneamente contabilizada. Con la herramienta *paint bucket* seleccionada y el color blanco atribuido al primer plano, se efectúan *clicks* en diversas partes del fondo blanco. Un ajuste más fino en el borde de las hojas se obtiene con *clicks* en el área adyacente, estableciendo para la función

tolerance un valor situado entre 10 y 20 (Figs. 1a y 1b). Cuando la herramienta *paint bucket* no produce resultados satisfactorios, el retiro de las sombras puede efectuarse con la herramienta *erase*. Esta es particularmente útil también para el retiro de los peciolo de las hojas, que no son considerados en el cálculo del área.

Para restaurar los bordes de las hojas damnificadas se aplica la herramienta *freeform pen*. Con esta herramienta y la función *path* habilitada, se diseña el margen de la hoja de la mejor manera posible (Fig. 2a). Un ajuste más preciso es posible con la adición de puntos de anclaje con la herramienta *add anchor point* en el margen diseñado, seguida de su eliminación con *delete anchor point* (Fig. 2b). Un mayor ajuste del contorno se alcanza manteniendo el botón izquierdo del *mouse* presionado cuando cada punto de anclaje es eliminado, permitiendo una reconstitución más adecuada a la forma de la hoja. Después se aplica el color negro al primer plano y con el botón derecho del *mouse* se selecciona *stroke path/ pencil*. De esta manera, el contorno antes vectorial, puede ser representado en píxeles.

Para una diferenciación completa entre las áreas consumidas e intactas, las imágenes se pasan a una escala de gris en *image/mode/grayscale* (Fig. 3a), para luego aumentar el contraste a 100% en *image/adjustments/brightness & contrast*. El brillo se mantiene en cero.

El área de las hojas debe ser individualmente contabilizada en píxeles, con ayuda de la herramienta *magic wand*. El área consumida debe ser primeramente calculada, utilizando el efecto sumatorio, activado cuando se mantiene la tecla *shift* presionada mientras se hace *click* en las partes deseadas. La lectura del número de píxeles se efectúa en la visión expandida de la función *histogram*, habilitada en el menú *window*. Se debe dar especial atención para que el *cache level* permanezca siempre en uno, en caso contrario, este valor necesita ser retomado en *uncached refresh*, localizado en el propio *histogram* (Fig. 3b). Ignorar esta información lleva a subestimar el número real de píxeles, generando errores sistemáticos. El área total de la hoja se obtiene sumando el área consumida a la intacta, utilizando nuevamente el efecto sumatorio. Finalmente, se determina el nivel de herbivoría, expresado en porcentaje, usando la razón entre el número de píxeles del área consumida y el número de píxeles del área total de la hoja.

El método presentado busca conciliar la obtención de resultados más precisos en la determinación

Figura 1. a) Proceso de eliminación de sombras con la herramienta *paint bucket* (*pb*). Herramienta *switch* (*s*) para selección de los colores. *Tolerance* = 10-20. Las sombras están indicadas con las flechas rojas. b) Resultado del proceso de retiro de las sombras indicado por las flechas rojas.

Figure 1. a) Shadow elimination process with the *paint bucket* tool (*pb*). *Switch* tool (*s*) for color selection. *Tolerance* = 10-20. Shadows are indicated with the red arrows. b) Result of the process of shadow removal pointed by red arrows.

Figura 2. a) Margen reconstituido con la herramienta *freeform pen* y la función *path* (*p*) habilitada. **b)** Puntos de anclaje (*ap*) adicionados con la herramienta *add anchor point*, posibilitando un ajuste más preciso después de su eliminación con la herramienta *delete anchor point*.

Figure 2. a) Restored edge with the *freeform pen* tool and the function *path* (*p*) selected. **b)** Anchor points (*ap*) added to the restored edge with the *add anchor point* tool, enabling an accurate adjustment after its removal with the *delete anchor point* tool.

Figura 3. a) Transformación de la imagen para escala gris (*grayscale*). b) Recuento del número del pixeles del área consumida de la hoja (flechas rojas/área blanca) con la herramienta *magic wand* (*mw*) leída en la función *histogram*. Si *cache level* no es 1, hacer click en *uncached refresh* (*ur*).

Figure 3. a) Image conversion to *grayscale*. b) Counted pixels of the leaf consumed area (red arrows/white area) with the *magic wand* tool (*mw*) through *histogram* function. If *cache level* is not 1, click in *uncached refresh* (*ur*).

de los niveles o tasas de herbivoría en hojas de mangle con rapidez y eficiencia en el procesamiento de muestras.

Esta propuesta es más ventajosa que las metodologías que utilizan transparencias con grids o papel milimetrado por trabajar con una reducción y velocidad de procesamiento considerablemente mayores. Al establecerse 200 dpi como resolución para la digitalización de las hojas, se tienen 200 píxeles por pulgada, valor muy superior a aproximadamente 25 puntos que se obtienen con la utilización del papel milimetrado cuando se considera la misma medida.

No obstante, la necesidad de restaurar la forma original de las hojas con los bordes dañados representa un obstáculo en todas las metodologías. Por ser prácticamente simétricas, las hojas de *Rhizophora* y *Avicennia* permiten una estimación bastante realista de su área, inclusive en los casos de daños intensos (Tomlinson, 1986). La reconstitución de las hojas de *Laguncularia racemosa* es menos eficiente y más problemática, a causa de su elevada tasa de consumo (Faraco & Lana, 2004) y por la morfología más variable de sus hojas. Sin embargo, la reconstrucción de los bordes de las hojas dañadas, cuando se compara con otros métodos, es más precisa con Photoshop ya que posibilita un ajuste adecuado con la forma original de la hoja. Otra ventaja de esta aplicación es la posibilidad de utilización de archivos compactos (e.g. JPEG), opción no disponible en el programa Scion Image. De esta forma, se concluye que este es un método fácil, rápido y preciso para la determinación de los niveles o tasas de herbivoría foliar, pudiendo ser aplicado en cualquier otro sistema vegetal.

AGRADECIMIENTOS

A Laura Sordo de las Nieves por la revisión ortográfica de este manuscrito.

REFERENCIAS

- Faraco, L.F.D. & P.C. Lana. 2004.** Leaf-consumption levels in subtropical mangroves of Paranaguá Bay (SE Brazil). *Wetl. Ecol. Manag.*, 12: 115-122.
- Feller, I.C. 1995.** Effects of nutrient enrichment on growth and herbivory of dwarf red mangrove (*Rhizophora mangle*). *Ecol. Monogr.*, 65(4): 477-505.
- Filip, V., R. Dirzo, J.M. Maass & J. Sarukhán. 1995.** Within-and among- year variation in the levels of herbivory on the foliage of trees from a Mexican tropical deciduous forest. *Biotropica*, 27(1): 78-96.
- Ignácio, G.M., D. Domingues, L. Kotler, P.C. Lana & J.C. Carrilho. 2005.** Variação nos níveis de herbivoria foliar em dois manguezais da Baía de Paranaguá (Paraná-Brasil). *Braz. J. Aquat. Sci. Technol.*, 9(2): 1-4.
- Lee, S.Y. 1986.** The intensity and consequences of herbivory on *Kandelia candel* (L.) Druce leaves at the Mai Po marches, Hong Kong. *Proceedings of the Second International Marine Biological Workshop: The marine flora and fauna of Hong Kong and Southern China, Hong Kong*, pp. 717-725.
- O'Neal, M.E., D.A. Landis & R. Isaacs. 2002.** An inexpensive, accurate method for measuring leaf area and defoliation through digital image analysis. *J. Econ. Entomol.*, 95(6): 1190-1194.
- Pellizzari, F.M. 2005.** Desenvolvimento das bases biológicas e de técnicas para o cultivo de algas verdes de talo monostromático (Chlorophyta) no litoral do Paraná, Sul do Brasil. Tesis (Doctorado en Botánica). Instituto de Biociências da USP, São Paulo, 202 pp.
- Robertson, A.I., D.M. Alongi & K.G. Boto. 1992.** Food chains and carbon fluxes. En: A.I. Robertson & D.M. Alongi (eds.). *Tropical mangrove ecosystems*. American Geophysical Union, Washington, pp. 293-326.
- SCION Corporation. 2006.** Scion Image for Windows. [<http://www.scioncorp.com>]. Revisado: 28 de marzo 2007.
- Schaeffer-Noveli, Y. & G. Cintrón. 1986.** Guia para estudos de áreas de manguezal: estrutura, função e flora. *Caribbean Ecological Research*, São Paulo, 150 pp.
- Tomlinson, P.B. 1986.** The botany of mangroves. Cambridge University Press, Cambridge, 413 pp.

Recibido: 10 marzo 2006; Aceptado: 29 marzo 2007