



David Alexandre Fernandes Mestre

Licenciado em Engenharia Eletrotécnica e de Computadores

Monitorização de crescimento de plantas cultivadas in-vitro usando processamento digital de imagem

Relatório intermédio para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Eletrotécnica e de Computadores

Orientador: André Teixeira Bento Damas Mora, Professor Auxiliar,
Faculdade de Ciências e Tecnologia
da Universidade Nova de Lisboa



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Julho, 2016

ÍNDICE

Lista de Figuras	v
1 Introdução	1
1.1 Motivação	1
1.2 Objetivos	2
2 Estado da Arte	3
2.1 Monitorização de plantas	3
2.1.1 Espectro Eletromagnético	3
2.1.2 Taxa de crescimento das plantas	5
2.1.3 Estimação de clorofila	5
2.2 Segmentação de plantas	7
2.2.1 Índices de vegetação	7
2.2.2 Segmentação com <i>machine learning</i>	11
2.2.3 Desafios	12
2.2.4 <i>Normalized Difference Vegetation Index</i>	13
2.3 Conclusão	14
3 Planeamento	17
Bibliografia	19

LISTA DE FIGURAS

2.1	Refletância das plantas no espectro eletromagnético. Adaptado de (Li et al. 2014)	4
2.2	Processamento digital da imagem realizado. Em <i>a</i> está a imagem original; <i>b</i> a passagem para escala de cinzentos; <i>c</i> ajustamento do brilho e do contraste; <i>d</i> o negativo da imagem <i>c</i> (Wu et al. 2009)	6
2.3	medidor <i>SPAD</i> (Yadav et al. 2010)	6
2.4	Comparação entre <i>CIVE</i> , <i>ExG</i> e o método proposto em (Zheng et al. 2009)	11
2.5	Imagem de uma planta com reflexão especular e transições de iluminação (Barbedo 2016)	13
2.6	Exemplo de um mapa global composto pelo NDVI. Adaptado de (Huete et al. 2002)	14
3.1	Plano de trabalho a realizar	18

INTRODUÇÃO

1.1 Motivação

Técnicas de processamento digital de imagens têm vindo ao longo dos anos mostrar cada vez mais vantagens na sua aplicabilidade na agricultura de precisão. Para atingir os seus objetivos torna-se importante monitorizar as culturas para se conseguir determinar e acompanhar o seu grau de crescimento e identificar antecipadamente o aparecimento de irregularidades como doenças. Existe então a necessidade de implementar sistemas que permitam monitorizar as plantações de forma automática, sem intervenção humana e idealmente de formas não invasivas. As imagens digitais tem ainda a vantagem de serem facilmente armazenáveis, não existindo qualquer tipo de deterioração com o passar do tempo, podendo depois serem pré-processadas para aumentar a sua qualidade para depois serem aplicadas com processamento digital ou outros tipos de algoritmos complexos, para atingir o objetivo final.

Micropropagação é uma técnica de cultura *in-vitro* que pode ser aplicado à produção de plantas. Esta técnica começa a partir de uma planta "mãe", sendo repartida em tecidos pequenos, originando uma nova geração de plantas. Este processo é repetido para estas plantas quando atingem um estado avançado, dando origem a grandes quantidades de plantas geneticamente iguais (Tillett et al. 1990). Como estas culturas habitualmente possuem um grande número de *stock*, torna-se exaustivo para um ser humano monitorizar cada recipiente para avaliar o estado de cada planta e o seu grau de crescimento.

Métodos de análise de imagem são importantes para o ambiente *in-vitro*, pois permitem obter dados de maneira não intrusiva para uma análise das culturas de plantas *in-vitro*. Estas culturas são trabalhadas em condições esterilizadas onde é necessário ser cauteloso para garantir que os recipientes não sejam contaminados, colocando a cultura

em risco. Existe então a necessidade de implementar métodos que não influenciam de nenhuma maneira o alvo do estudo, para garantir que seja possível obter alguma informação de monitorização das culturas *in-vitro* sem danificar parcialmente as mesmas. Processamento digital constitui estas características não intrusivas, pois é baseado de imagens digitais retiradas a partir de uma câmara fotográfica, sem interferir de algum modo a cultura *in-vitro*.

No método de micro-propagação *in-vitro* é usado um gel que é constituído por nutrientes que são alimentos para a planta. A composição deste gel pode ser alterado, podendo ou não beneficiar a planta e aumentar o seu crescimento. Por isso um método que permita avaliar qual o desempenho de cada gel é importante para determinar qual a melhor combinação para obter uma produção com a melhor qualidade e fator de crescimento possível.

Esta dissertação tem o apoio da empresa *Boereboom Invitro Portugal* nomeadamente na disponibilização para adquirir imagens da evolução de culturas *in-vitro*.

1.2 Objetivos

Esta dissertação tem como objetivo principal o desenvolvimento de métodos baseados em processamento de imagem que permitem classificar plantas cultivadas *in-vitro* e monitorizar o seu crescimento e aparecimento de doenças ou irregularidades nas plantas. Estes métodos irão analisar grupos de sequências de imagens de vários recipientes de plantas cultivadas *in-vitro* para avaliar a sua evolução seja a nível de crescimento ou aparecimento de doenças.

ESTADO DA ARTE

Este capítulo apresenta o uso de processamento digital de imagem para monitorização das plantas, começando pelas técnicas que partem de várias bandas do espectro eletromagnético e depois a aplicabilidade do processamento digital de imagem para a precisão da taxa de crescimento das plantas e a estimação do conteúdo de clorofila. Por fim, é apresentada técnicas de segmentação de plantas. Estas são divididas em índices de vegetação e *machine learning*. É discutido os vários desafios destes tipos de segmentação. Por fim, é apresentado o *Normalized Difference Vegetation Index* que usa a banda visível e a banda do infravermelho-próximo para mapear vegetação.

2.1 Monitorização de plantas

Monitorização de plantas tem como objetivo medir os vários parâmetros das plantas relacionados com o crescimento, adaptação e identificação de irregularidades na mesma. Estas medidas são geralmente realizadas através do estudo da morfologia da planta, características da folha ou da fruta e fotossíntese (Li et al. 2014).

Métodos baseados em processamento digital de imagem permitem quantificar zonas da planta, sendo fontes primárias para o estudo da monitorização das plantas (Li et al. 2014). Em (Lobet et al. 2013) é apresentada uma base de dados de aplicações de processamento digital de imagem que foram desenvolvidos para a análise de plantas, existindo uns mais específicos e outros mais gerais. Atualmente possui cerca 143 soluções de *software* (*Plant Image Analysis*).

2.1.1 Espectro Eletromagnético

Cada tipo de célula e tecido da planta tem propriedades específicas na absorção e reflexão de certos comprimentos de onda, mostrando assim aplicabilidades diferentes para cada

banda do espectro (Li et al. 2014). Por exemplo, na banda da luz visível (400 - 700 nm), devido à absorção da luz por parte da clorofila, a planta tem baixa reflexão. No entanto, na banda do infravermelho-próximo (700 - 1200 nm) a reflexão da planta é muito maior (Figura 2.1).

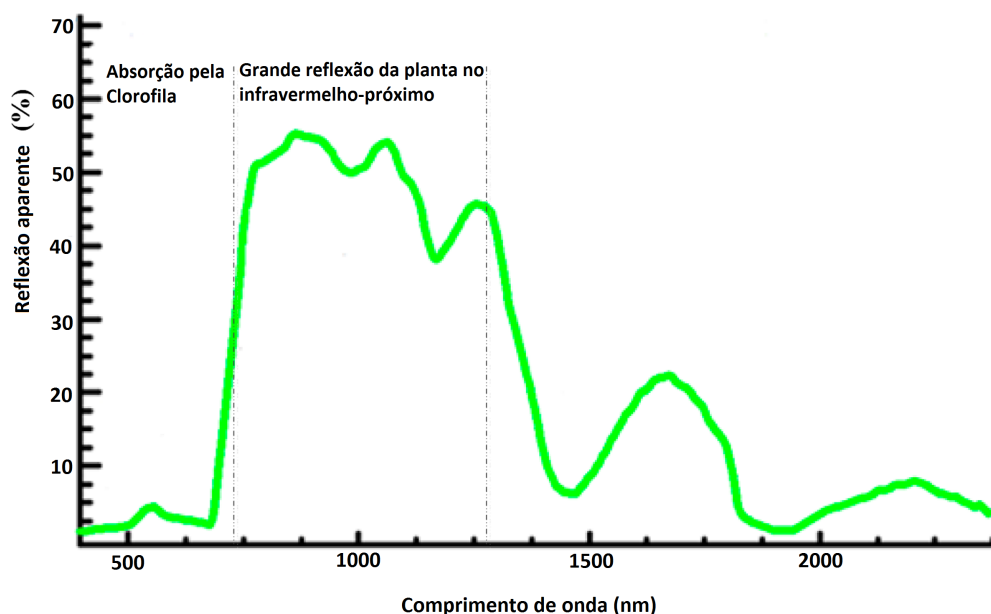


Figura 2.1: Refletância das plantas no espectro eletromagnético. Adaptado de (Li et al. 2014)

Várias técnicas de imagem são por exemplo no espectro visível de luz, imagem de fluorescência e espectrometria de imagens no infravermelho-próximo.

2.1.1.1 Espectro visível

Imagens retiradas a partir do espectro visível da luz é o método convencional das câmaras digitais, existindo atualmente uma grande variedade das mesmas a uma vasta gama de preços. Esta técnica é a mais aplicada e a mais simples, sendo usada principalmente para a determinação da área, estudo da morfologia da planta e detecção de sintomas (Barbedo 2016; Barbedo et al. 2016). Por apenas obter informação fisiológica da planta, pode ser difícil obter resultados fiáveis devido à sobreposição entre folhas (Li et al. 2014).

2.1.1.2 Imagens de Fluorescência

Fluorescência é a luz emitida pelo objeto alvo durante a absorção de radiação num certo comprimento de onda. No caso da planta, a fluorescência da mesma corresponde à clorofila. Pode ser usado para determinar a capacidade que a planta possui para metabolizar a luz absorvida através da emissão de luz azul. Esta técnica tem como aplicabilidade a detecção de doenças. No entanto, a maioria dos estudos realizados são limitados apenas a folhas individuais (Li et al. 2014).

2.1.1.3 Espectrometria de imagens no infravermelho-próximo

Espectrometria de imagens consiste na captação de luz de várias bandas do espectro eletromagnético. No espectro visível a planta tem uma baixa refletividade, ocorrendo apenas um pico na região do verde devido à clorofila (Figura 2.1). No entanto, no início do espectro do infravermelho próximo, a planta tem uma maior refletividade, onde a espessura e o porte das folhas são os fatores de reflexão determinantes neste espectro (Li et al. 2014). Esta técnica permite realizar medições da biomassa verde, conteúdo de clorofila e o estado da água na planta. No entanto, equipamentos de espectrometria de imagens tem um custo elevado (Li et al. 2014).

2.1.2 Taxa de crescimento das plantas

Em (Wu et al. 2009) é aplicado processamento digital de imagem para a modelação do crescimento de plantas *Atractylodes lancea*. Através dos valores previamente determinados da biomassa de cada planta e da contagem de píxeis que cada planta possui na imagem tratada, é construído um modelo linear que permite estimar a biomassa da planta através do número de píxeis que a mesma possui. Também determinaram uma equação logística que modela a evolução da biomassa da planta com o tempo (Wu et al. 2009). Este método foi captado num ambiente esterilizado, fundo branco e lâmpadas fluorescentes como fonte de luz. O processamento digital de imagem foi realizado manualmente no *Adobe Photoshop*, onde foi feita uma conversão da imagem para escala de cinzentos, ajustamento do brilho, contraste e negativo da imagem, sendo depois contados os píxeis pertencentes à planta (Figura 2.2). Os resultados permitiram concluir que é possível prever o crescimento das plantas *in-vitro* (Wu et al. 2009).

2.1.3 Estimação de clorofila

A cor das plantas permite obter indicações da quantidade de clorofila que a mesma tem. Nomeadamente a cor verde reflete os pigmentos de clorofila que as folhas possuem (Yao et al. 2010). O método mais usado para determinar a quantidade de clorofila presente numa folha é o uso de um medidor *SPAD* (*Soil Plant Analysis Development*) (Figura 2.3) (Menesatti et al. 2010). Este medidor, que transmite um comprimento de onda na luz vermelha e outro na luz infravermelha, calcula um valor designado por *SPAD* que está relacionado com o conteúdo de clorofila devido à absorção da luz vermelha e reflexão da luz infravermelha (Markwell et al. 1995). No entanto, este medidor não é aplicável para monitorização em tempo real (Yadav et al. 2010).

Como a atividade fotossintética está relacionada com o conteúdo de clorofila (MacIntyre et al. 2002), é importante avaliar as suas propriedades para otimização das culturas *in-vitro* para atingir uma produção eficiente. Como qualquer cor pode ser decomposta nas componentes *RGB*, é possível desenvolver correlações entre as intensidades destas cores com o conteúdo de clorofila da planta. Isto é verificado em (Yadav et al. 2010), onde

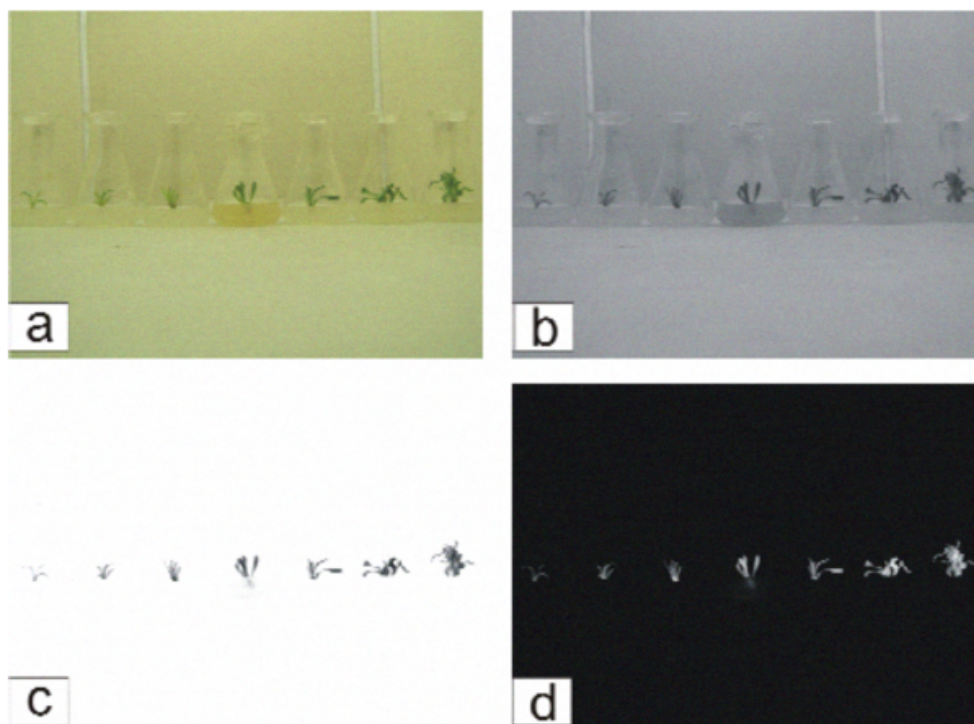


Figura 2.2: Processamento digital da imagem realizado. Em *a* está a imagem original; *b* a passagem para escala de cinzentos; *c* ajustamento do brilho e do contraste; *d* o negativo da imagem *c* (Wu et al. 2009)



Figura 2.3: medidor SPAD (Yadav et al. 2010)

é desenvolvido um método não invasivo para determinar o conteúdo de clorofila em culturas de micropropagação de plantas de batatas. Estes realizaram a aquisição de imagem das folhas através de um *scanner*, tendo sido depois obtido o histograma das componentes RGB (*Red-Green-Blue*) via *Adobe Photoshop*. Daqui, retiraram os valores médios das componentes RGB e HSL e os seus respetivos rácios. Estes valores foram usados para a obtenção de modelos descritos em (Su et al. 2008), sendo os outros parâmetros desses modelos calculados posteriormente. Os autores concluíram que as componentes vermelha e verde são inversamente proporcionais ao conteúdo de clorofila na planta enquanto que a componente azul é diretamente proporcional. O uso do rácio das componentes melhorou estes resultados (Yadav et al. 2010) e também se verificou que a luminosidade e saturação

correlacionam negativamente com o conteúdo de clorofila.

2.2 Segmentação de plantas

A maioria da literatura encontrada é focada no processo de segmentação de plantas em ambientes não controlados, ou seja, em campos exteriores. Condições de iluminação trazem consigo grandes desafios para estes métodos, como por exemplo situações em que a iluminação é forte, provocando zonas de reflexo nas folhas das plantas, podendo-se tornar mal segmentadas. Também a presença de sombras das folhas na imagem podem originar uma segmentação em que essas sombras sejam consideradas como parte da folha. Visto que o objetivo é separar as plantas do resto que não são plantas, fundos complexos também podem induzir os métodos a erro (Hamuda et al. 2016).

Grande parte das técnicas de processamento de imagem para segmentação de plantas encontradas ao longo da literatura são em geral técnicas baseadas em índices de cor, nomeadamente índices de vegetação. Encontram-se também várias técnicas baseadas em *thresholds* que são usualmente combinadas com índices de cor, nomeadamente a junção destes índices com o método *Otsu* (Otsu 1979). As mais avançadas e as que permitem obter melhores resultados, apesar da maior complexidade computacional são técnicas de *machine learning* que também são aplicáveis para a segmentação de plantas e podem ser combinadas com os índices de vegetação (Hamuda et al. 2016).

2.2.1 Índices de vegetação

Estes métodos são úteis apenas para plantas onde a cor dominante é a verde, estando relacionados com características da planta como a massa fotossintética, clorofila e água (Li et al. 2014). Não são recomendáveis para ambientes com fraca ou forte iluminação.

Em seguida é enumerado vários índices de vegetação. Estes índices são calculados a partir das componentes *RGB* da imagem, originando uma imagem em escala de cinzentos, sendo que a maioria resulta numa imagem quase binária. As imagens em escala de cinzentos são constituídas por apenas um canal de cor com intensidades entre 0 a 255. Para convenção, define-se a componente vermelha, verde e azul de uma imagem como R, G e B.

- **Normalised Difference Index (NDI)** (Woebbecke et al. 1993)

Em (Woebbecke et al. 1993) foram testados vários índices de cor baseados nas componentes RGB da imagem com o objetivo de avaliar a eficácia dos mesmos em separar as plantas do fundo. O índice $\frac{G-R}{G+R}$ foi o que obteve melhores resultados, tendo sido o mesmo adaptado para formar o *NDI*:

$$NDI = 128 * \left(\frac{(G - R)}{(G + R)} + 1 \right) \quad (2.1)$$

Como $\frac{G-R}{G+R}$ produz valores entre -1 e 1, é necessário somar 1 e adicionar um fator de 128 para produzir uma imagem em escala de cinzentos entre 0 a 255. Este índice produz uma imagem quase binária (Hamuda et al. 2016).

- **Excess Green Index (ExG)** (D. M. Woebbecke et al. 1995)

Em (D. M. Woebbecke et al. 1995) o seguinte índice de cor foi o que obteve melhores resultados para a separação das plantas do solo descoberto:

$$ExG = 2g - r - b \quad (2.2)$$

As componentes r , g e b são as coordenadas cromáticas:

$$r = \frac{R^*}{(R^* + G^* + B^*)}, \quad g = \frac{G^*}{(R^* + G^* + B^*)}, \quad b = \frac{B^*}{(R^* + G^* + B^*)} \quad (2.3)$$

R^* , G^* e B^* são os valores normalizados das componentes RGB que possuem valores entre 0 e 1:

$$R^* = \frac{R}{R_{max}}, \quad G^* = \frac{G}{G_{max}}, \quad B^* = \frac{B}{B_{max}} \quad (2.4)$$

R_{max} , G_{max} e B_{max} são os valores máximos de cada canal de cor, no caso do RGB estes parâmetros possuem o valor de 255.

Este índice de cor também produz uma imagem quase binária, sendo o mais usado na separação das plantas (Hamuda et al. 2016).

- **Excess Red Index (ExR)** (Meyer et al. 1999)

Este índice de cor foi inspirado na retina do olho humano, focando-se na componente vermelha:

$$ExR = 1.3R - G \quad (2.5)$$

Não possui melhores resultados que o ExG , mas ambos são usados em conjunto para um novo índice de cor (Meyer et al. 2004).

- **Excess Green minus Excess Red Index (ExGR)** (Meyer et al. 2004)

Este índice de cor consiste na combinação de dois índices apresentados anteriormente, nomeadamente o ExG (Eq. 2.2) e o ExR (Eq. 2.5). O primeiro permite extrair a zona da planta enquanto o segundo reduz o ruído de fundo, seja solo ou possíveis resíduos.

Como o nome indica, este componente resulta de uma subtração entre os dois índices:

$$ExGR = ExG - ExR \quad (2.6)$$

- **Colour Index of Vegetation Extraction (CIVE)** (Kataoka et al. 2003)

Introduzido em (Kataoka et al. 2003), *CIVE* apresentou melhor segmentação de planta do que o espectro infravermelho-próximo (Kataoka et al. 2003). Este índice é calculado através das componentes *R*, *G* e *B* da imagem:

$$CIVE = 0.441R - 0.811G + 0.385B + 18.78745 \quad (2.7)$$

- **Vegetative Index (VEG)** (Hague et al. 2006)

Produz uma imagem em escala de cinzentos através da seguinte fórmula:

$$VEG = \frac{G}{R^a B^{(1-a)}} \quad (2.8)$$

A componente *a* é constante de valor 0.667.

- **Modified Excess Green Index (MExG)** (Burgos-Artizzu et al. 2011)

Desenvolvido por (Burgos-Artizzu et al. 2011), onde para as experiências realizadas obteve melhores resultados que o índice de vegetação *ExG*. É definido como:

$$MExG = 1.262G - 0.884R - 0.311B \quad (2.9)$$

- **Combined Indices 1 (COM1)** (Guijarro et al. 2011)

Consiste na aplicação simultânea de quatro índices de vegetação referidos anteriormente. Quando estes são aplicados conjuntamente, permitiram obter resultados melhores do que individualmente (Hamuda et al. 2016).

$$COM1 = ExG + CIVE + ExGR + VEG \quad (2.10)$$

- **Combined Indices 2 (COM2)** (Guerrero et al. 2012)

É semelhante ao *COM1*, no entanto combina três índices em vez de quatro: *ExG*, *CIVE* e *VEG*. O *ExGR* foi retirado pois no ambiente usado (plantas de milho), este índice segmentava a sombra das plantas como parte da mesma. O índice é definido pela seguinte fórmula:

$$COM2 = 0.36ExG + 0.47CIVE + 0.17VEG \quad (2.11)$$

Aqui foi introduzido a contribuição por parte de cada índice de vegetação através de fatores de peso, nomeadamente 0.36, 0.47 e 0.17.

Estes métodos de índice de vegetação são usados frequentemente como medidas padrão para avaliar novos métodos de segmentação de vegetação propostos (Hamuda et al. 2016). Em várias técnicas novas propostas é usado índices de vegetação para avaliar o desempenho dos novos métodos em relação aos índices.

Em (Meyer e Neto 2008) os índices *ExG* e *NDI* são aplicados individualmente com o método de *threshold Otsu* (Otsu 1979), enquanto o *ExGR* é aplicado apenas um *threshold* de zero. Aqui o *ExGR* possui melhores resultados e o *threshold* a zero neste mostrou-se suficiente para segmentar as plantas, poupando tempo computacional em relação ao *Otsu*.

Outros métodos de segmentação foram propostos (Hamuda et al. 2016), e para avaliar estes métodos, foram usados vários índices de vegetação para comparação. Estes métodos são mais complexos, logo no geral obtiveram resultados superiores de precisão de segmentação das plantas em relação aos índices de vegetação. No entanto é importante ver quais dos índices obteve melhores resultados, apesar do desempenho ter dependido dos ambientes onde estes foram testados.

Em (Zheng et al. 2009) foi usado *ExG* e *CIVE* como medidas de comparação ao método proposto. Foi testado em várias plantas e tipos de solo e iluminação, sendo que de entre os dois índices de vegetação, o *CIVE* obteve melhores resultados. Encontra-se um exemplo na Figura 2.4.

No ambiente usado em (Bai et al. 2013) foi usado *ExG*, *CIVE* e *ExGR*, sendo que o índice que obteve melhores resultados foi novamente o *CIVE*.

Em (Zheng et al. 2010) foi comparado *NDI*, *ExGR* e *CIVE*, onde obtiveram resultados semelhantes em desempenho médio, apesar das inconsistências ocorridas, nomeadamente imagens onde um método dava melhores resultados que os restantes.

Em (Guijarro et al. 2011) para demonstrar o desempenho do *COM1*, foi testado individualmente os índices *ExG*, *CIVE*, *ExGR* e *VEG*. Como resultado, o *COM1* foi o demonstrou melhor desempenho, sendo que os restantes individualmente provocavam em certas situações sobre-segmentação e sub-segmentação.

Em (Yu et al. 2013) foi usado novamente os índices *ExG*, *CIVE*, *ExGR* e *VEG* para avaliar o desempenho do método proposto. Aqui, o *ExG* demonstrou outra vez melhores resultados, enquanto o *CIVE* foi o pior.

Em (Guo et al. 2013) o *ExG* já não foi o obteve melhores resultados, tendo sido neste caso os métodos *MExG* e *ExGR*.

Em (Torres-Sánchez et al. 2014) com o objetivo de medir a precisão de mapeamento da fração de vegetação em campos de trigo, foi usado os seguintes índices de vegetação: *ExG*, *ExGR*, *CIVE*, *NGRDI*, *VEG*, *COM1* e *COM2*. Destes índices, o *ExG* foi o que obteve maior nível médio de precisão, sendo que os restantes possuíram valores similares entre si à exceção do *CIVE* que foi o pior.

Em suma, não é possível retirar conclusões sobre qual o melhor índice de vegetação, sendo que o desempenho de cada um dependeu das condições em que as imagens foram retiradas (Hamuda et al. 2016). Na maioria, todos os índices mostram boa adaptação em ambientes em ar livre, embora não possuem um bom desempenho quando a iluminação é

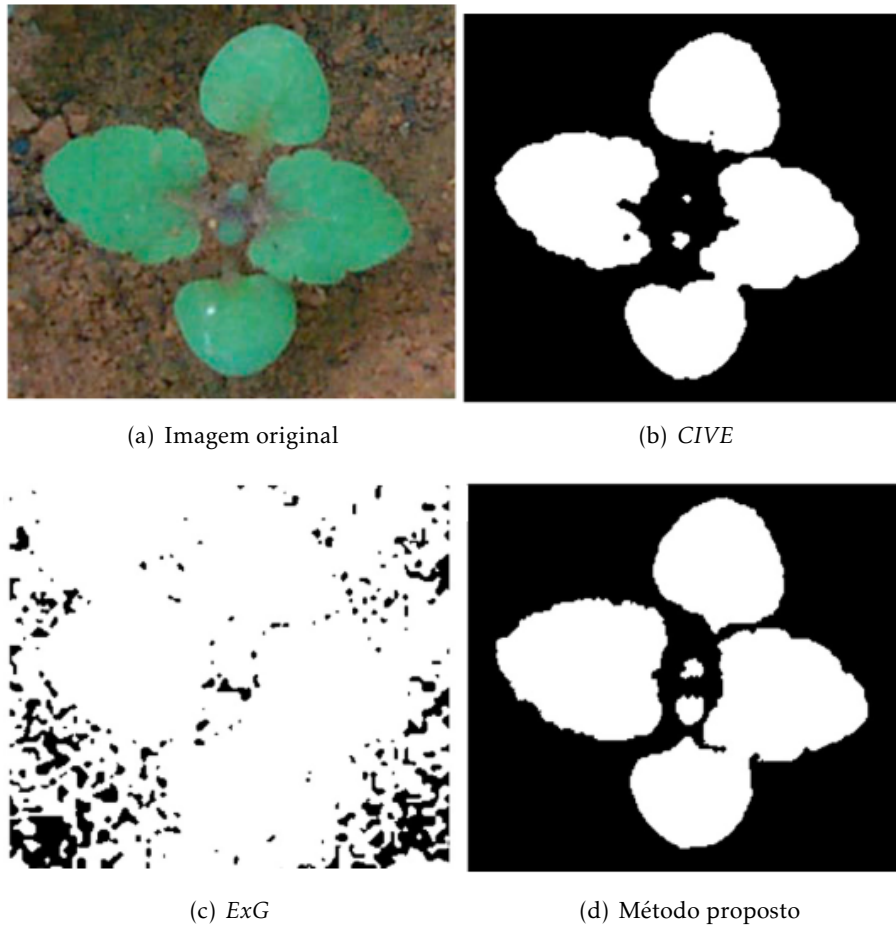


Figura 2.4: Comparação entre CIVE, ExG e o método proposto em (Zheng et al. 2009)

bastante forte ou fraca e falham na presença de sombras e zonas realçadas pela luz (Ye et al. 2015). A nível de tempo computacional, o COM1 e COM2 tem um aumento em relação aos restantes métodos, o que é de esperar visto que estes índices são uma combinação dos restantes. No entanto, estes métodos são fáceis de implementar, modificar e criar novas adaptações.

2.2.2 Segmentação com *machine learning*

Estes métodos são os que possuem maior eficácia na deteção da vegetação, incluindo ambientes claros ou escuros. Como estes dependem da sua fase de treino, são métodos muito mais complexos que os índices de vegetação (Secção 2.2.1), possuindo um tempo computacional mais elevado (Hamuda et al. 2016).

Existem várias aplicações de métodos de aprendizagem aplicados para a segmentação de plantas, desde a redes neuronais, *fuzzy clustering* e árvores de decisão (Hamuda et al. 2016).

Em (Meyer et al. 2004) é aplicado *fuzzy clustering* para extrair a região de uma planta através de imagens onde são previamente aplicados os índices de vegetação ExG e ExR.

As árvores de decisão mostraram-se também como um método interessante a aplicar para a segmentação das plantas. Em (Guo et al. 2013) é apresentado um modelo de árvore de decisão para segmentar a planta do fundo da imagem através das componentes *RGB* da mesma. Este método mostrou-se eficaz pois não é necessário aplicar ajustamentos de *thresholds* para cada imagem.

Uma rede neuronal com um conjunto de treino suficientemente bom, isto é, que engloba todos os tipos de condições que possam acontecer a nível de iluminação, variação de cor, entre outros, consegue ser eficaz para lidar com estas condições noutras imagens (Smedt et al. 2011).

Aplicações de redes neuronais encontram-se em (Zheng et al. 2009) onde é usada uma rede neuronal com *back propagation* que através das componentes *RGB* e *HSI* identifica se regiões da imagem são parte da planta ou não.

Em (Smedt et al. 2011) é apresentada também uma simples rede neuronal que tira partido do espectro de infravermelho-próximo para a segmentação da planta. As plantas refletem uma boa parte da luz pertencente à gama dos infravermelhos-próximo, enquanto o solo tende a absorver toda a luz nesse espectro. Logo a captação de imagens neste espectro pode-se mostrar vantajoso para uma boa segmentação das plantas (Smedt et al. 2011). Esta rede neuronal tem como entrada os valores *RGB* de um píxel da imagem captada no espectro dos infravermelho-próximo. É uma rede simples, composta apenas por 2 camadas, *back propagation* para a aprendizagem e como saída tem a classificação do píxel como pertencente à planta ou ao fundo (Smedt et al. 2011).

Deep Learning tem vindo a surgir como novo método para a segmentação e identificação de objetos. Através de uma rede neuronal convolucional é possível obter bons resultados para segmentação e classificação (Zheng et al. 2015). O conjunto de treino torna-se essencial para a classificação correta sendo necessário um grande conjunto de imagens que engloba todas as condições possíveis. Em (Mohanty et al. 2016) encontra-se um exemplo da aplicação de uma rede neuronal convolucional para a deteção de doenças nas plantas. Esta rede é treinada com um conjunto de treino de 54306 imagens de plantas saudáveis e doentes sobre várias condições, que identifica 14 espécies de culturas.

2.2.3 Desafios

Apesar das várias soluções já apresentadas para a segmentação das plantas, ainda se encontra vários desafios por superar (Barbedo 2016). Como já foi referido, o fundo da imagem e a iluminação presente na altura da obtenção da imagem podem dificultar o processo de segmentação.

No caso do fundo, a solução mais fácil seria remover o mesmo manualmente, o que não é vantajoso. No entanto, condições mais controladas, como um laboratório, permitem facilitar a separação da planta, visto que o fundo pode ser por exemplo um quadro branco (Barbedo 2016).

A iluminação pode variar dependendo da sua intensidade e da posição da fonte de luz

em relação ao objeto, o que pode afetar características da imagem. Conforme a iluminação, pode surgir zonas de reflexão especular nas plantas que podem dificultar o trabalho de segmentação, pois zonas da planta estarão muito claras em relação a outras devido a este fenómeno (Figura 2.5). Com isto ainda vêm o problema das sombras. Neste caso estes fenómenos podem ser minimizados regulando o ângulo de captura ou a posição da planta (Barbedo 2016).



Figura 2.5: Imagem de uma planta com reflexão especular e transições de iluminação (Barbedo 2016)

2.2.4 *Normalized Difference Vegetation Index*

A clorofila possui uma grande refletividade no início do espectro do infravermelho-próximo, maior que no espectro visível (Secção 2.1.1.3). Logo o estudo do comportamento das plantas no espectro do infravermelho-próximo poderá ser vantajoso para a identificação das mesmas.

O *Normalized Difference Vegetation Index* (NDVI) é um índice de cor que permite identificar vegetação verde e medir a vitalidade da mesma. Esta parte do fato da clorofila refletir mais radiação no infravermelho-próximo do que no espectro do vermelho (Huete et al. 2002). É uma transformação espectral da banda do infravermelho e a banda do vermelho, que permite realçar as propriedades da vegetação, sendo a fórmula seguinte:

$$NDVI = \frac{\rho_{NIR} - \rho_{red}}{\rho_{NIR} + \rho_{red}} \quad (2.12)$$

As componentes ρ_{NIR} e ρ_{red} são respetivamente os fatores de refletância da banda do infravermelho-próximo e da banda do vermelho. Os valores do NDVI varia entre -1 a 1. No caso de um píxel possuir um grande valor na componente do infravermelho-próximo

ρ_{NIR} e baixo valor na componente do vermelho ρ_{red} , significa que se trata de vegetação saudável pois a mesma absorve grande parte da radiação visível e reflete uma grande porção no infravermelho-próximo. No caso da vegetação não saudável é o oposto, tende a absorver mais luz visível e menos luz do infravermelho-próximo (Weier e Herring 2000).

O sistema MODIS (*Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer*) utiliza o NDVI que ao captar imagens via satélite da superfície da Terra, constrói mapas globais da vegetação 2.6. Os mapas são depois usados para várias aplicações como classificação da cobertura de vegetação da Terra, deflorestação e estudo da variabilidade sazonal da vegetação global (Huete et al. 2002; MODIS 2002). O NDVI reduz vários tipos de ruído como diferenças de iluminação, sombras, atenuação atmosférica e variações topográficas. Contudo, possui problemas de escalabilidade devido à saturação sobre a presença de grande biomassa (Huete et al. 2002).

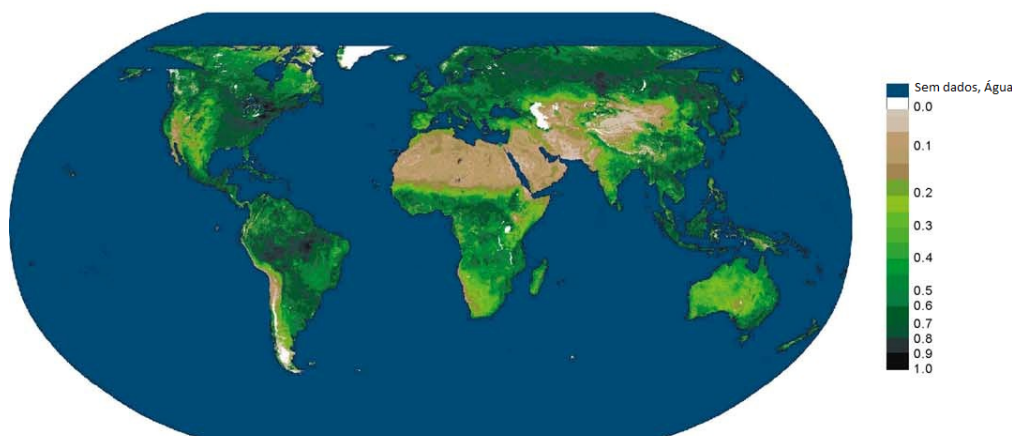


Figura 2.6: Exemplo de um mapa global composto pelo NDVI. Adaptado de (Huete et al. 2002)

2.3 Conclusão

Foi apresentado várias técnicas de monitorização de plantas através do processamento digital de imagem. Vê-se que o comportamento da vegetação em cada banda do espectro eletromagnético mostra características interessantes para o estudo da vegetação, como por exemplo a baixa reflexão da luz visível e alta reflexão da banda do infravermelho-próximo devido à clorofila.

São abordadas as várias técnicas que utilizam bandas do espectro eletromagnético. No espectro visível é retirado essencialmente as imagens através do método convencional das câmaras digitais, sendo a técnica mais simples de implementar que permite o estudo da morfologia da planta e deteção de sintomas. Imagens de fluorescência tem como aplicabilidade a deteção de doenças, embora a maioria dos seus estudos estão limitados a folhas individuais. Espectrometria de imagens no infravermelho-próximo é uma técnica

promissora pois é nesta banda que a clorofila possui os maiores valores de refletividade, o que permite obter medições da biomassa e conteúdo de clorofila.

Estudos foram realizados no ramo da taxa de crescimento das plantas onde através de imagens *RGB* retiradas do espectro visível foi possível modelar a taxa de crescimento de plantas *in-vitro*. Também é apresentado a aplicabilidade do processamento digital de imagem para a estimação de clorofila nas plantas como um novo método em relação ao medidor *SPAD* que não é aplicável para monitorização em tempo real.

Foi indicado várias técnicas de segmentação, começando pelos índices de vegetação que usam as componentes *RGB* da imagem onde é apresentado resultados da performance destes índices em vários ambientes, geralmente para avaliar a performance de novos métodos. É introduzido também técnicas de *machine learning* e as vantagens que estas têm em relação aos métodos tradicionais de processamento digital de imagem. Os vários desafios da segmentação de plantas foram enunciados.

Por fim é introduzido o *NDVI*, que através da combinação da banda do vermelho e da banda do infravermelho-próximo, é possível determinar um rácio que permite quantificar a vegetação em cada píxel. Esta técnica é principalmente usada no mapeamento global da vegetação através de imagens via satélite.

PLANEAMENTO

Um diagrama do planeamento a realizar está representado na Figura 3.1.

Como parte da implementação do planeamento a realizar nesta dissertação, é necessário criar uma base de dados de fotografias das plantas *in-vitro*. Isto já está a decorrer, estando a ser adquirido fotografias de plantas *in-vitro* de várias espécies, tanto em imagens *RGB* como imagens captadas no infravermelho-próximo em escala de cinzentos. As fotografias dos recipientes *in-vitro* são retiradas num espaço de intervalo de 1 semana.

Seguindo para o próximo passo, vai ser necessário realizar um pré-processamento às imagens adquiridas, nomeadamente *white balance* entre as imagens pertencentes a cada planta e correções como rotação na imagem. Para além destes métodos poderá ser necessário usar outros.

Tendo o registo da imagem concluído, segue-se o alinhamento das folhas entre as várias imagens recolhidas por cada série. Depois parte-se para a segmentação das imagens *RGB* e infravermelho-próximo, realizando o cálculo de índices de vegetação. Conforme os resultados será escolhido os índices a usar. Isto permitirá retirar conclusões da área ocupada pela folha e possíveis diferenças entre imagens *RGB* e imagens do infravermelho-próximo.

Esta última parte poderá sofrer alterações com a realização da dissertação, podendo até adaptar-se métodos mais complexos como por exemplo redes neuronais se eventualmente mostrar-se vantajoso.

Os processos aqui descritos serão implementados em *MATLAB*, onde será desenvolvido uma interface gráfica para o utilizador usar estas ferramentas.

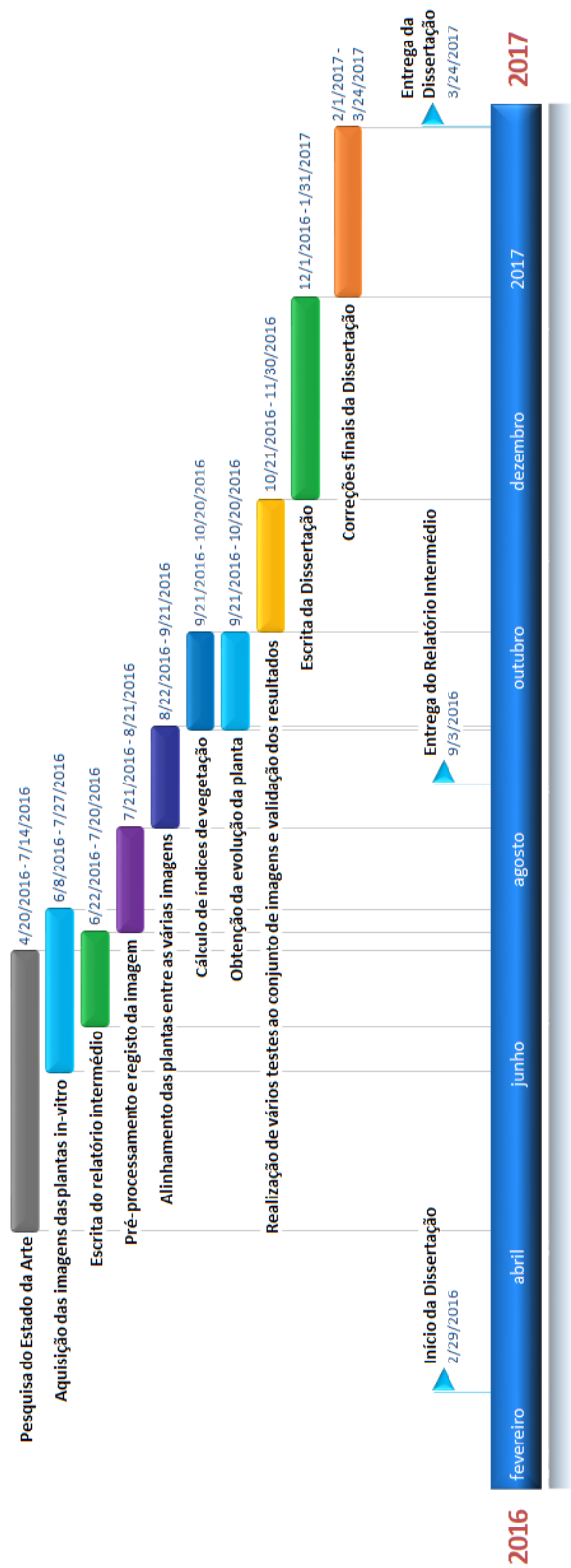


Figura 3.1: Plano de trabalho a realizar

BIBLIOGRAFIA

- Bai, X. D., Z. G. Cao, Y Wang, Z. H. Yu, X. F. Zhang e C. N. Li (2013). "Crop segmentation from images by morphology modeling in the {CIE} L*a*b* color space". Em: *Computers and Electronics in Agriculture* 99, pp. 21–34.
- Barbedo, J. G. A. (2016). "A review on the main challenges in automatic plant disease identification based on visible range images". Em: *Biosystems Engineering* 144, pp. 52–60. DOI: [10.1016/j.biosystemseng.2016.01.017](https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2016.01.017).
- Barbedo, J. G. A., L. V. Koenigkan e T. T. Santos (2016). "Identifying multiple plant diseases using digital image processing". Em: *Biosystems Engineering* 147, pp. 104–116. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2016.03.012>.
- Burgos-Artizzu, X. P., A. Ribeiro, M. Guijarro e G. Pajares (2011). "Real-time image processing for crop/weed discrimination in maize fields". Em: *Computers and Electronics in Agriculture* 75.2, pp. 337–346.
- D. M. Woebbecke, D. M., G. E. G. E. Meyer, K. V. K. Von Bargen e D. A. D. A. Mortensen (1995). "Color Indices for Weed Identification Under Various Soil, Residue, and Lighting Conditions". Em: *Transactions of the ASAE* 38.1, pp. 259–269. DOI: [10.13031/2013.27838](https://doi.org/10.13031/2013.27838).
- Guerrero, J. M., G Pajares, M Montalvo, J Romeo e M Guijarro (2012). "Support Vector Machines for crop/weeds identification in maize fields". Em: *Expert Systems with Applications* 39.12, pp. 11149–11155.
- Guijarro, M, G Pajares, I Riomoros, P. J. Herrera, X. P. Burgos-Artizzu e A Ribeiro (2011). "Automatic segmentation of relevant textures in agricultural images". Em: *Computers and Electronics in Agriculture* 75.1, pp. 75–83.
- Guo, W., U. K. Rage e S. Ninomiya (2013). "Illumination invariant segmentation of vegetation for time series wheat images based on decision tree model". Em: *Computers and Electronics in Agriculture* 96, pp. 58–66.
- Hague, T, N. D. Tillett e H Wheeler (2006). "Automated Crop and Weed Monitoring in Widely Spaced Cereals". Em: *Precision Agriculture* 7.1, pp. 21–32. DOI: [10.1007/s11119-005-6787-1](https://doi.org/10.1007/s11119-005-6787-1).
- Hamuda, E., M. Glavin e E. Jones (2016). "A survey of image processing techniques for plant extraction and segmentation in the field". Em: *Computers and Electronics in Agriculture* 125, pp. 184–199. DOI: [10.1016/j.compag.2016.04.024](https://doi.org/10.1016/j.compag.2016.04.024).

- Huete, A, K Didan, T Miura, E. P. Rodriguez, X Gao e L. G. Ferreira (2002). "Overview of the radiometric and biophysical performance of the {MODIS} vegetation indices". Em: *Remote Sensing of Environment* 83.1–2, pp. 195–213. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0034-4257\(02\)00096-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0034-4257(02)00096-2).
- Kataoka, T, T Kaneko, H Okamoto e S Hata (2003). "Crop growth estimation system using machine vision". Em: *Advanced Intelligent Mechatronics, 2003. AIM 2003. Proceedings. 2003 IEEE/ASME International Conference on*. Vol. 2, b1079–b1083 vol.2. DOI: [10.1109/AIM.2003.1225492](https://doi.org/10.1109/AIM.2003.1225492).
- Li, L., Q. Zhang e D. Huang (2014). "A Review of Imaging Techniques for Plant Phenotyping". Em: *Sensors* 14.11, pp. 20078–20111. DOI: [10.3390/s141120078](https://doi.org/10.3390/s141120078).
- Lobet, G., X. Draye e C. Périlleux (2013). "An online database for plant image analysis software tools". Em: *Plant Methods* 9.1, pp. 1–8. DOI: [10.1186/1746-4811-9-38](https://doi.org/10.1186/1746-4811-9-38).
- MacIntyre, H. L., T. M. Kana, T. Anning e R. J. Geider (2002). "Photoacclimation of photosynthesis irradiance response curves and photosynthetic pigments in microalgae and cyanobacteria". Em: *Journal of Phycology* 38.1, pp. 17–38. DOI: [10.1046/j.1529-8817.2002.00094.x](https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2002.00094.x).
- Markwell, J., J. C. Osterman e J. L. Mitchell (1995). "Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter". Em: *Photosynthesis Research* 46.3, pp. 467–472. DOI: [10.1007/BF00032301](https://doi.org/10.1007/BF00032301).
- Menesatti, P, F Antonucci, F Pallottino, G Roccuzzo, M Allegra, F Stagno e F Intrigliolo (2010). "Estimation of plant nutritional status by Vis-NIR spectrophotometric analysis on orange leaves [Citrus sinensis (L) Osbeck cv Tarocco]". Em: *Biosystems Engineering* 105.4, pp. 448–454.
- Meyer, G. E. e J. C. Neto (2008). "Verification of color vegetation indices for automated crop imaging applications". Em: *Computers and Electronics in Agriculture* 63.2, pp. 282–293.
- Meyer, G. E., T. W. Hindman e K. Laksmi (1999). "Machine vision detection parameters for plant species identification". Em: *Proc. SPIE*. Vol. 3543, pp. 327–335. DOI: [10.1117/12.336896](https://doi.org/10.1117/12.336896).
- Meyer, G., J. C. Neto, D. D. Jones e T. W. Hindman (2004). "Intensified fuzzy clusters for classifying plant, soil, and residue regions of interest from color images". Em: *Computers and Electronics in Agriculture* 42.3, pp. 161–180.
- MODIS. URL: <http://modis.gsfc.nasa.gov/> (acedido em 18/07/2016).
- Mohanty, S. P., D. P. Hughes e M. Salathé (2016). "Using Deep Learning for Image-Based Plant Disease Detection". Em: *CoRR* abs/1604.03169.
- Otsu, N. (1979). "A threshold selection method from gray level histograms". Em: *{IEEE} Trans. Systems, Man and Cybernetics* 9, pp. 62–66. DOI: [10.1109/TSMC.1979.4310076](https://doi.org/10.1109/TSMC.1979.4310076).
- Plant Image Analysis. URL: <http://www.plant-image-analysis.org/> (acedido em 07/07/2016).

- Smedt, F. D., I. Billauws e T. Goedemé (2011). “Neural Networks and Low-Cost Optical Filters for Plant Segmentation”. Em: *International Journal of Computer Information Systems and Industrial Management Applications (IJCISIM)* 3, pp. 804–811.
- Su, C.-H., C.-C. Fu, Y.-C. Chang, G. R. Nair, J.-L. Ye, I.-M. Chu e W.-T. Wu (2008). “Simultaneous estimation of chlorophyll a and lipid contents in microalgae by three-color analysis”. Em: *Biotechnology and Bioengineering* 99.4, pp. 1034–1039. DOI: [10.1002/bit.21623](https://doi.org/10.1002/bit.21623).
- Tillett, R. D., F. R. Brown, N. J. B. McFarlane, C. M. Onyango, P. F. Davis e J. A. Marchant (1990). “Image-guided robotics for the automation of micropropagation”. Em: *Intelligent Robots and Systems '90. 'Towards a New Frontier of Applications', Proceedings. IROS '90. IEEE International Workshop on*, 265–270 vol.1. DOI: [10.1109/IROS.1990.262396](https://doi.org/10.1109/IROS.1990.262396).
- Torres-Sánchez, J, J. M. Peña, A. I. de Castro e F López-Granados (2014). “Multi-temporal mapping of the vegetation fraction in early-season wheat fields using images from UAV”. Em: *Computers and Electronics in Agriculture* 103, pp. 104–113.
- Weier, J. e D. Herring (2000). *Measuring Vegetation (NDVI & EVI)*. URL: <http://earthobservatory.nasa.gov/Features/MeasuringVegetation/> (acedido em 18/07/2016).
- Woebbecke, D. M., G. E. Meyer, K. Von Bargen e D. A. Mortensen (1993). “Plant species identification, size, and enumeration using machine vision techniques on near-binary images”. Em: *Proc. SPIE*. Vol. 1836, pp. 208–219. DOI: [10.1117/12.144030](https://doi.org/10.1117/12.144030).
- Wu, Y. Y., X. Y. Yang, P. P. Li e Z Liang (2009). “The technique of the acquiring dynamic information on the growth of plantlets in vitro”. Em: *2009 International Conference on Future BioMedical Information Engineering (FBIE)*, pp. 13–16. DOI: [10.1109/FBIE.2009.5405855](https://doi.org/10.1109/FBIE.2009.5405855).
- Yadav, S. P., Y. Ibaraki e S Dutta Gupta (2010). “Estimation of the chlorophyll content of micropropagated potato plants using RGB based image analysis”. Em: *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 100.2, pp. 183–188. DOI: [10.1007/s11240-009-9635-6](https://doi.org/10.1007/s11240-009-9635-6).
- Yao, X, W. Du, S. Feng e J. Zou (2010). “Image-based plant nutrient status analysis: An overview”. Em: *Intelligent Computing and Intelligent Systems (ICIS), 2010 IEEE International Conference on*. Vol. 1, pp. 460–464. DOI: [10.1109/ICICISYS.2010.5658601](https://doi.org/10.1109/ICICISYS.2010.5658601).
- Ye, M., Z. Cao, Z. Yu e X. Bai (2015). “Crop feature extraction from images with probabilistic superpixel Markov random field”. Em: *Computers and Electronics in Agriculture* 114, pp. 247–260.
- Yu, Z., Z. Cao, X. Wu, X. Bai, Y. Qin, W. Zhuo, Y. Xiao, X. Zhang e H. Xue (2013). “Automatic image-based detection technology for two critical growth stages of maize: Emergence and three-leaf stage”. Em: *Agricultural and Forest Meteorology* 174–175, pp. 65–84.
- Zheng, L., J. Zhang e Q. Wang (2009). “Mean-shift-based color segmentation of images containing green vegetation”. Em: *Computers and Electronics in Agriculture* 65.1, pp. 93–98.

- Zheng, L., D. Shi e J. Zhang (2010). "Segmentation of green vegetation of crop canopy images based on mean shift and Fisher linear discriminant". Em: *Pattern Recognition Letters* 31.9, pp. 920–925.
- Zheng, S., S. Jayasumana, B. Romera-Paredes, V. Vineet, Z. Su, D. Du, C. Huang e P. H. S. Torr (2015). "Conditional Random Fields as Recurrent Neural Networks". Em: *The IEEE International Conference on Computer Vision (ICCV)*.