

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM COMPUTAÇÃO APLICADA

TERUO MATOS MARUYAMA

**AVALIAÇÃO DE COMPRIMENTO E DIÂMETRO RADICULAR DO MILHO  
POR TÉCNICAS DE PROCESSAMENTO DIGITAL DE IMAGENS**

**PONTA GROSSA  
2016**

TERUO MATOS MARUYAMA

**AVALIAÇÃO DE COMPRIMENTO E DIÂMETRO RADICULAR DO MILHO  
POR TÉCNICAS DE PROCESSAMENTO DIGITAL DE IMAGENS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Computação Aplicada, curso de Mestrado em Computação Aplicada da Universidade Estadual de Ponta Grossa, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientação: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rosane Falate

**PONTA GROSSA  
2016**

**Ficha Catalográfica**  
**Elaborada pelo Setor de Tratamento da Informação BICEN/UEPG**

Maruyama, Teruo Matos  
M984      Avaliação de comprimento e diâmetro  
            radicular do milho por técnicas de  
            processamento digital de imagens/ Teruo  
            Matos Maruyama. Ponta Grossa, 2016.  
            113f.

            Dissertação (Mestrado em Computação  
Aplicada - Área de Concentração:  
Computação para Tecnologias em  
Agricultura), Universidade Estadual de  
Ponta Grossa.

            Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Rosane Falate.

            1.PDI. 2.Medida de precisão. 3.Raiz.  
4.Zea Mays L.. I.Falate, Rosane. II.  
Universidade Estadual de Ponta Grossa.  
Mestrado em Computação Aplicada. III. T.

CDD: 006.3

## TERMO DE APROVAÇÃO

Teruo Matos Maruyama

### **“AVALIAÇÃO DE COMPRIMENTO E DIÂMETRO RADICULAR DO MILHO POR TÉCNICAS DE PROCESSAMENTO DIGITAL DE IMAGENS”.**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Computação Aplicada da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:

Orientador:

  
Dr. Rosane Falate  
UEPG

  
Dr. Adriel Ferreira da Fonseca  
UEPG

  
Dr. Jacques Facon  
PUOPR

Ponta Grossa, 30 de setembro de 2016.

## AGRADECIMENTOS

A minha família por me apoiar, auxiliar e incentivar a nunca desistir de seguir em frente. Especialmente a minha mãe Sonia que sempre esteve presente mesmo nos momentos de maior dificuldade.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Rosane Falate, pela oportunidade, apoio, incentivo, e contribuições neste e em outros projetos.

À todos os Professores e Funcionários, em especial ao Prof. Dr. Adriel Ferreira da Fonseca, Prof. Dr. Alceu de Souza Britto Jr., Prof. Dr. José Carlos Ferreira da Rocha, Prof. Dr. Luciano José Senger, Prof<sup>a</sup>. Dr. Alaine Margarete Guimarães, Prof. Me. Jonathan de Matos, Prof. Josnei Francisco Peruzzo, Prof. Dr. Eduardo Fávero Caires e Téc. Celso Richter, por contribuírem com os conhecimentos específicos nas respectivas áreas de atuação para o desenvolvimento dessa pesquisa.

Aos acadêmicos, Jéssica Alves dos Santos, Angelo Rafael Bini e Sandoval Carpinelli, por contribuírem com os conhecimentos agronômicos práticos para o desenvolvimento da pesquisa. Aos acadêmicos, Jaqueline Rissá Franco e Wagner Luiz Weiber, por ajudarem na coleta e lavagem de amostras de raízes.

À todos os meus amigos e colegas que contribuíram para a minha formação. Especialmente aos meus amigos Marcio Hosoya Name, Luiz Antonio Zanolensi Junior, Henrique de Padua Valle, Voncarlos Marcelo de Araújo e Jaqueline Rissá Franco que compartilharam seus conhecimentos e experiências ao longo de todo o mestrado.

Aos coorientados do grupo de pesquisa, Heder Luiz Martins Junior, Lucas Vieira Werner, Felipe Roscoche e Bruna Neves Machado por me auxiliarem durante esse processo de desenvolvimento.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela oportunidade e por disponibilizar toda a sua estrutura, tanto para o programa de Mestrado quanto para esta pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo suporte financeiro e pela disponibilização de artigos por meio do portal de periódicos, possibilitando a realização dessa pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo financiamento parcial dessa pesquisa (Projeto CNPq n° 480139/2013-0).

E finalmente, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização dessa pesquisa.

*"Não é preciso ter olhos abertos para ver o sol, nem é preciso ter ouvidos afiados para ouvir o trovão. Para ser vitorioso você precisa ver o que não está visível." (Sun Tzu)*

## RESUMO

O estudo de raízes é usado para monitorar e otimizar a utilização de água e nutrientes pelas plantas. A avaliação do sistema radicular de plantas por meio dos métodos tradicionais é demorada, exaustiva, complexa e, em muitos casos, não fornece a acurácia necessária. Este trabalho teve como objetivo desenvolver um método computacional que auxiliasse na avaliação do diâmetro médio e comprimento radicular da cultura de milho. Ele foi desenvolvido utilizando a linguagem de programação Java, a interface JavaCV, e a biblioteca OpenCV, posteriormente a acurácia dele foi comparado a dos métodos tradicionais e a da macro IJ\_Rhizo, para medição do comprimento e do diâmetro médio de raízes. Os testes foram realizados utilizando imagens de raízes de milho com 300 dpi e imagens de fios de náilon com 300 dpi e 600 dpi. A validação do método foi realizada utilizando amostras de fios de náilon com comprimento e diâmetros conhecidos. Para as medidas de comprimento, o método proposto obteve coeficientes de variação de 0,05% a 3,80% e de 0,06% a 9,27%, com imagens de 300 dpi e 600 dpi, respectivamente. Para as medidas de diâmetro, o método proposto obteve coeficientes de variação de 0,23% a 77,49% e de 0,54% a 96,61% , com imagens de 300 e 600 dpi, respectivamente. O método proposto obteve coeficientes de variação inferiores aos métodos tradicionais para a medição do comprimento e do diâmetro, e a macro IJ\_Rhizo em mais de 95% dos casos de teste. Assim, o método apresentado mostra-se o mais adequado e o com maior acurácia para a medição do comprimento e diâmetro radicular médio dentre os métodos avaliados.

**Palavras-chave:** PDI; Medida de precisão; Raiz; *Zea Mays* L.

## ABSTRACT

The study of roots is used to monitor and optimize the uptake of water and nutrients. The evaluation of the plant root system by traditional methods is slow, exhaustive, complex and in many cases does not provide the required accuracy. This research aimed to develop a computational method to assist in the assessing of the average diameter and length of root maize. It was developed using Java programming language, JavaCV interface, and OpenCV library, subsequently its accuracy was compared to the traditional methods and the macro IJ\_Rhizo accuracy, for measuring the average diameter and length of roots. The tests were performed using images of maize roots with 300 dpi and using images of nylon threads with resolutions of 300 dpi and 600 dpi. The method validation was performed using nylon thread samples with known lengths and diameters. For length measurements, the proposed method obtained coefficients of variation from 0.05% to 3.80% and 0.06% to 9,27%, with 300 dpi and 600 dpi images, respectively. For diameter measurements, the proposed method obtained coefficients of variation from 0.23% to 77.49% and 0.54% to 96,61%, with 300 dpi and 600 dpi images, respectively. The proposed method obtained coefficients of variation lower than traditional methods for length and diameter measurements, and the macro IJ\_Rhizo in more than 95% of test cases. Thus, the presented method is shown to be the most appropriate, and with greater accuracy for measurement of average diameter and length of root, among the assessed methods.

**Keywords:** DIP; Precision Measurement; Root; *Zea Mays* L.



## LISTA DE SIGLAS

BMP	Bitmap
CC	Coeficiente de Correlação
CD	Coeficiente de Determinação
CV	Coeficiente de Variação
DIP	Digital Image Processing
DP	Desvio Padrão
DPI	Dots Per Inch
EM	Erro Médio
EPM	Erro Padrão da Média
ER	Erro Relativo
ERP	Erro Relativo Percentual
JPEG	Joint Pictures Expert Group
MAT	Medial Axis Transform
NE	Não Especificado
PDI	Processamento Digital de Imagens
RAM	Random Access Memory
SPD	Sistema de Plantio Direto

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Etapas do processamento digital de imagens. ....	15
Figura 2. Imagem monocromática e convenção adotada para o par de eixos (x,y). ....	17
Figura 3. Vizinhanças entre pixels: (a) 4-vizinhança, (b) vizinhança diagonal e (c) 8-vizinhança. ....	18
Figura 4. Limiarização utilizando histograma de tons de cinza de uma imagem. ....	20
Figura 5. Exemplo de malha utilizada para a medição do comprimento de raízes. ....	27
Figura 6. Sonda Amostradora de Raízes composta por: (a) sonda; (b) haste e copo; (c) peso; (d) cabo em L. ....	48
Figura 7. Área de coleta. ....	49
Figura 8. Amostra de solo contendo raízes. ....	50
Figura 9. Peneiras para separação de raízes do solo. ....	51
Figura 10. Contador Manual de Quatro Dígitos. ....	52
Figura 11. Escâner com as molduras de isopor e bandeja posicionadas. ....	54
Figura 12. Distorções provocadas pela raiz imersa em água. ....	55
Figura 13. Imagem de raízes com tampa do escâner aberta. ....	56
Figura 14. Imagem de raízes com tampa do escâner fechada. ....	57
Figura 15. Fluxograma das etapas presentes no método proposto. ....	58
Figura 16. Imagens resultantes das etapas do método proposto. ....	59
Figura 17. Histograma da Imagem de: (a) Fios de náilon e (b) Raízes de milho. ....	60
Figura 18. Algoritmo de afinamento desenvolvido. ....	62
Figura 19. 8-vizinhança adotada para o processo de afinamento. ....	63
Figura 20. Representação Geométrica do Cálculo do diâmetro. ....	64
Figura 21. Imagem de fios de náilon com tampa do escâner aberta. ....	71
Figura 22. Relação obtida entre os comprimentos medidos e os estimados por meio do método de Tennant para as amostras de fios de náilon. ....	75
Figura 23. Relação obtida entre os comprimentos medidos e os estimados pela macro IJ_Rhizo para as imagens de fios de náilon com 300dpi. ....	78
Figura 24. Relação entre os comprimentos medidos e os comprimentos estimados pela macro IJ_Rhizo para as imagens de fios de náilon com 600dpi. ....	80
Figura 25. Relação entre os comprimentos medidos e os comprimentos do método proposto para as imagens de fios de náilon com 300dpi. ....	82
Figura 26. Relação entre os comprimentos medidos e os comprimentos do método proposto para as imagens de fios de náilon com 600dpi. ....	83
Figura 27. Resultados obtidos com algoritmos de segmentação automática. ....	85
Figura 28. Casos de segmentação de fios de náilon. ....	86
Figura 29. Relação entre os comprimentos estimados pelo método de Tennant (1975) e pela macro IJ_Rhizo, por meio de imagens de raízes de milho com 300 dpi. ....	88
Figura 30. Relação entre os comprimentos estimados pelo método de Tennant (1975) e pelo método proposto, por meio de imagens de raízes de milho com 300 dpi. ....	89
Figura 31. Relação entre os diâmetros nominais e os estimados pelo método tradicional com fios de náilon. ....	94
Figura 32. Relação entre os diâmetros nominais e os estimados pela macro IJ_Rhizo com imagens de fios de náilon de 300 dpi. ....	96
Figura 33. Relação entre os diâmetros nominais e os estimados pela macro IJ_Rhizo com imagens de fios de náilon de 600 dpi. ....	97
Figura 34. Relação entre os diâmetros nominais e os obtidos pelo método proposto para imagens de fios de náilon com 300 dpi. ....	99

Figura 35. Relação entre os diâmetros nominais e os estimados pelo método proposto para imagens de fios de náilon com 600 dpi. ....	101
Figura 36. Relação entre os diâmetros estimados pelo método tradicional e pela macro IJ_Rhizo, para imagens de raízes de milho com 300 dpi. ....	103
Figura 37. Relação entre os diâmetros estimados pelo método tradicional e pelo método proposto, para imagens de raízes de milho com 300 dpi. ....	104

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Equipamentos para a Determinação de Parâmetros Radiculares.....	40
Tabela 2. Métodos Computacionais para a Determinação de Parâmetros Radiculares..	42
Tabela 3. Comprimento Radicular de Plantas de Milho.....	47
Tabela 4. Conjunto de 20 amostras de fios de náilon para a validação do método.....	68
Tabela 5. Comprimentos medidos e estimados com o método de Tennant (1975), a macro IJ_Rhizo, e com o método proposto, no intervalo de 1000 a 30000 mm. ....	73
Tabela 6. Diâmetros nominais e estimados com o método tradicional, com a macro IJ_Rhizo, e com o método proposto. ....	91

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
1.1	OBJETIVO GERAL .....	14
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	14
1.3	ESTRUTURA .....	14
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>15</b>
2.1	PROCESSAMENTO DIGITAL DE IMAGENS .....	15
2.1.1	Imagens Digitais .....	16
2.1.2	Vizinhança, conectividade e cálculo de distância.....	18
2.1.3	Segmentação .....	19
2.1.4	Afinamento .....	20
2.2	ANÁLISE DE SISTEMAS RADICULARES.....	22
2.2.1	Comprimento de raízes .....	23
2.2.2	Diâmetro de raízes .....	25
2.2.3	Método tradicional.....	26
2.2.4	Método baseado em processamento digital de imagens .....	29
2.3	CULTURA DE MILHO .....	44
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>48</b>
3.1	COLETA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS DE RAÍZES .....	48
3.2	DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS RADICULARES .....	52
3.2.1	Método Tradicional.....	52
3.2.2	Método Proposto.....	53
3.3	TESTE E VALIDAÇÃO .....	64
3.3.1	Fios de Náilon.....	64
3.3.2	Raízes de Milho .....	69
3.3.3	Análise Estatística.....	69
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>72</b>
4.1	MEDIÇÃO DO COMPRIMENTO .....	72
4.1.1	Teste e Validação com Fios de Náilon .....	72
4.1.1.1	Método de Tennant.....	75
4.1.1.2	IJ_Rhizo .....	77
4.1.1.3	Método Proposto .....	81
4.1.2	Teste com Raízes de Milho.....	87
4.1.2.1	Método de Tennant e IJ_Rhizo .....	88
4.1.2.2	Método de Tennant e Método Proposto .....	89
4.2	MEDIÇÃO DO DIÂMETRO MÉDIO.....	90

4.2.1	Teste e Validação com Fios de Náilon .....	90
4.2.1.1	Método Tradicional .....	90
4.2.1.2	IJ_Rhizo .....	95
4.2.1.3	Método Proposto .....	99
4.2.2	Teste com Raízes de Milho.....	102
4.2.2.1	Método de Tradicional e IJ_Rhizo .....	103
4.2.2.2	Método de Tradicional e Método Proposto.....	104
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>105</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>107</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A análise de sistemas radiculares é utilizada para investigar a influência dos fatores ambientais no desenvolvimento de determinada cultura (BÖHM, 1979). Segundo Newman (1966), a principal dificuldade em determinar o comprimento de raízes advém da possibilidade de obter grandes comprimentos em pequenos volumes de solo. A ocorrência de tal possibilidade torna o processo manual muito demorado (NEWMAN, 1966). Devido ao referido problema, Newman (1966) propôs o método das linhas intersecção para estimar o comprimento total de amostras de raiz. Esse método posteriormente foi adaptado por Marsh (1971) e Tennant (1975). Os métodos manuais, para a medição do comprimento e para a medição do diâmetro radicular, ainda são bastante utilizados (BÖHM, 1979), apesar da existência e viabilidade de abordagens baseadas em processamento de imagens (SMIT et al., 2000).

Um sistema que utilizou o processamento digital de imagens e o método da intersecção para a obtenção do comprimento total foi apresentado por Richards et al. (1979). Nesse caso, eles desenvolveram um escâner optoeletrônico para adquirir as imagens das raízes e obtiveram um erro relativo de 12% para o comprimento com relação ao método da linha de intersecção. Posteriormente, Lebowitz (1988) propôs um método utilizando técnicas de processamento digital de imagens juntamente com relações matemáticas, para a obtenção do comprimento total e do diâmetro. O método utilizou uma câmera para a coleta de imagens e era baseado na técnica de afinamento. O método foi validado utilizando amostras de fios de cobre com comprimentos conhecidos. Ao comparar o comprimento real com o obtido, o maior erro padrão da média observado foi de 1,09% para o método de Lebowitz (1988), enquanto o método de Tennant (1975) apresentou 7,75% para a mesma amostra. Diversos métodos foram propostos posteriormente. Em 2013, uma técnica computacional utilizando um escâner de mesa e abordagens de processamento digital de imagens para a estimativa do comprimento e diâmetro médio radicular foi proposta por Pierret et al. (2013). Ao comparar o método proposto por Pierret et al. (2013) com o sistema comercial WINRHIZO<sup>TM</sup>, obteve-se um coeficiente de determinação de 0,998.

Apesar da avaliação do sistema radicular de plantas por meio dos métodos tradicionais ser demorada, exaustiva, complexa e, em muitos casos, não fornecer a acurácia necessária, ela ainda é bastante utilizada (SMIT et al., 2000). Ainda, poucas das soluções apresentadas utilizando processamento digital de imagens para a avaliação

do comprimento e diâmetro radicular estão disponíveis tanto comercialmente quanto gratuitamente (ARSENAULT et al., 1995; PIERRET et al., 2013). Este trabalho apresenta um sistema computacional capaz de auxiliar na avaliação do crescimento radicular do milho, obtendo informações de comprimento e diâmetro com maior acurácia em relação aos métodos tradicionais (TENNANT, 1975; SCHENK e BARBER, 1979) e em relação ao método desenvolvido por Pierret et al. (2013).

### 1.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um método computacional capaz de auxiliar na avaliação do comprimento e diâmetro médio de raízes de milho.

### 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Como objetivos específicos, têm-se:

- Demonstrar a versatilidade do processamento digital de imagens na avaliação de parâmetros radiculares;
- Obter informações de comprimento e diâmetro radicular com coeficientes de variação inferiores a 5% por meio do processamento digital de imagens;
- Comparar a acurácia dos métodos tradicionais (TENNANT, 1975; SCHENK e BARBER, 1979) com método proposto;
- Comparar a acurácia do método proposto com outro método baseado em processamento de imagens para avaliação do comprimento e diâmetro de raízes (PIERRET et al., 2013).

### 1.3 ESTRUTURA

As próximas seções estão organizadas da seguinte maneira: no capítulo 2 são apresentados os fundamentos do Processamento Digital de Imagens, os conceitos de raiz e análise radicular. Também são expostos os métodos manuais e os métodos utilizando processamento digital de imagens, para a análise radicular. Ao fim do capítulo 2 são expostas as principais características da cultura de milho e do respectivo sistema radicular. No capítulo 3 é abordada a metodologia utilizada para o desenvolvimento desta pesquisa. No capítulo 4 são apresentados os resultados e discussões. Por fim, no capítulo 5 são apresentadas as conclusões da pesquisa e trabalhos futuros.



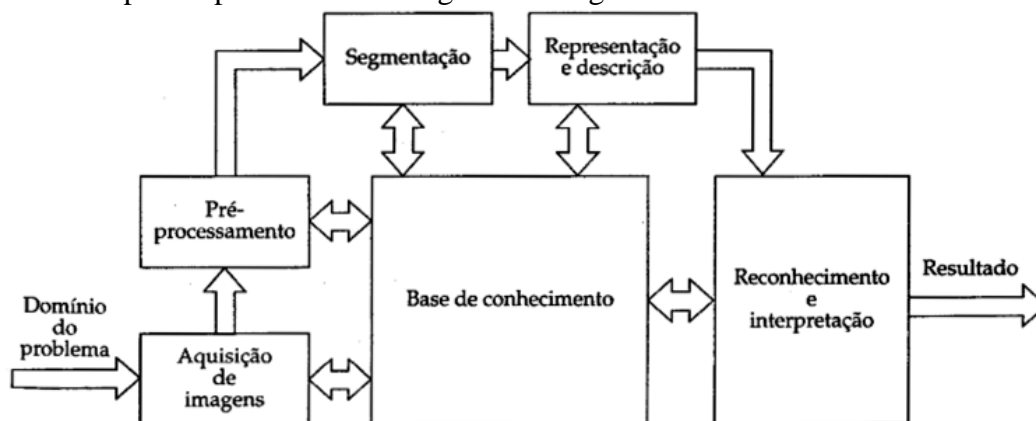
## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 PROCESSAMENTO DIGITAL DE IMAGENS

A área de Processamento Digital de Imagens (PDI) está em constante progresso e desenvolvimento. Devido a esse fato, há um interesse crescente nos métodos de PDI provenientes de duas áreas principais de aplicação: a melhoria da informação visual para interpretação humana e a percepção automática de máquinas advinda de informações extraídas de uma cena (MARQUES FILHO e VIEIRA NETO, 1999).

O PDI é composto por diversas etapas: aquisição da imagem, pré-processamento da imagem, segmentação, representação, descrição, reconhecimento, interpretação e a base de conhecimento (GONZALEZ e WOODS, 2000). Na Figura 1 são mostradas as etapas previamente citadas e as respectivas interações.

Figura 1. Etapas do processamento digital de imagens.



(Fonte: GONZALEZ e WOODS, 2000)

A aquisição é a etapa responsável pela obtenção da imagem por meio de um sensor ou conjunto de sensores, cujo sinal de saída é digitalizado. O tipo de sensor utilizado e os tipos de imagens produzidas são definidos pela aplicação, ou seja, o domínio do problema. O pré-processamento da imagem tem como objetivo principal melhorar a qualidade da imagem de modo a facilitar e agilizar a aplicação das etapas posteriores. O pré-processamento engloba técnicas para o realce de bordas e a exclusão de ruídos. A segmentação pode ser definida como a etapa pela qual a imagem de entrada é dividida em segmentos ou regiões constituintes. A representação é a maneira apropriada de representar os dados para um futuro processamento. A descrição, também denominada seleção de características, busca extrair características (descritores) que

evidenciem a diferença entre os diferentes objetos presentes na imagem. O reconhecimento é a etapa que define um rótulo a determinado objeto. O rótulo é definido com base nas informações fornecidas pelos respectivos descritores. Finalmente, a interpretação consiste na atribuição de significado a um grupo de entidades previamente rotuladas (GONZALEZ e WOODS, 2000).

Todas as etapas descritas anteriormente implicam na existência de algum conhecimento sobre a natureza do problema a ser solucionado. Esse conhecimento é armazenado em uma base de conhecimento, cuja complexidade e tamanho podem variar drasticamente de acordo com a aplicação. Além de direcionar a operação de cada etapa de processamento, a base de conhecimento também é responsável pelo controle das interações entre os módulos. Isso é evidenciado por meio das setas bidirecionais presentes na Figura 1 (MARQUES FILHO e VIEIRA NETO, 1999).

### 2.1.1 Imagens Digitais

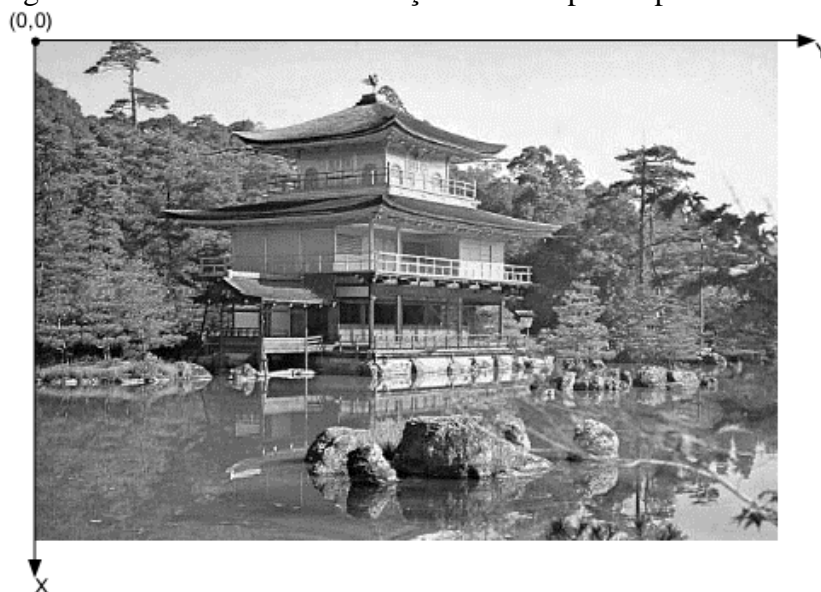
Uma imagem monocromática pode ser descrita como uma função bidimensional  $f(x,y)$  de intensidade luminosa, cujo o valor nas coordenadas espaciais  $(x,y)$  representa a intensidade luminosa (ou nível de cinza) naquele ponto. Dessa forma, pode-se representar uma imagem como uma matriz de  $x$  linhas e  $y$  colunas (MARQUES FILHO e VIEIRA NETO, 1999; GONZALEZ e WOODS, 2000). Na Figura 2 é apresentada a convenção do par de eixos  $(x,y)$  utilizada neste trabalho.

Como pode ser visto na Figura 2, diferente do Sistema Cartesiano Ortogonal, a convenção adotada determina Y como eixo horizontal e X como eixo vertical. Nessa convenção a origem é situada no canto superior esquerdo, os valores em Y crescem a medida que se é afastado da origem, indo da esquerda para a direita, e os valores de X crescem a medida que se é afastado da origem, indo de cima para baixo. Essa convenção não admite coordenadas negativas ao contrário das coordenadas do Sistema Cartesiano (MARQUES FILHO e VIEIRA NETO, 1999).

Quando uma imagem é representada por meio de uma matriz, os índices de linhas e colunas identificam um ponto na imagem, e o valor correspondente ao elemento na matriz determina o nível de cinza naquele ponto. Os menores elementos constituintes dessa matriz são denominados pixels ou *pels*, abreviações de "*picture elements*", significando elementos de figura. O nível de cinza de determinado ponto está limitado a um intervalo de valores, sendo que o valor mínimo deste intervalo deve ser positivo e o

valor máximo deve assumir um valor finito. A esse intervalo dá-se o nome de escala de cinza. Normalmente é adotada a convenção de atribuir o valor zero para o limite mínimo do intervalo e um valor arbitrário finito para o limite máximo do intervalo, sendo que zero é considerado negro e o valor arbitrário é considerado branco. Os demais valores pertencentes ao intervalo são tons de cinza que variam continuamente desde o negro até o branco (GONZALEZ e WOODS, 2000).

Figura 2. Imagem monocromática e convenção adotada para o par de eixos  $(x,y)$ .



(Fonte: MARQUES FILHO e VIEIRA NETO, 1999)

A distribuição de tons de cinza de uma imagem pode ser representada por meio de um histograma. No eixo horizontal do histograma estão os valores correspondentes a cada tom de cinza, normalmente variando de 0 a 255, e no eixo vertical encontram-se os valores referentes às probabilidades dos respectivos tons de cinza ocorrerem na imagem (JÄHNE, 2004). Sabendo que zero é considerado negro e o valor máximo, nesse caso, 255, é considerado branco, os tons de cinza mais escuros estarão mais próximos de zero, e os tons de cinza mais claros estarão mais próximos de 255 (JÄHNE, 2004).

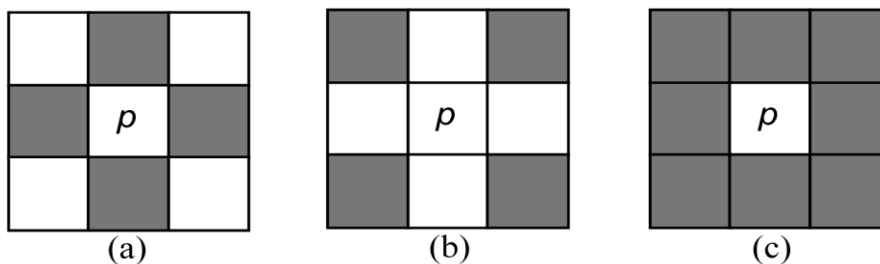
Uma imagem colorida necessita de mais de uma função  $f(x,y)$  ou matriz para compor a cor, onde cada função ou matriz é denominado de canal ou banda de frequência. Portanto, o pixel em uma imagem colorida possui a informação de cor de todos os canais constituintes, na respectiva posição da imagem (MARQUES FILHO e VIEIRA NETO, 1999). Um dos modelos de cor mais utilizados é o modelo RGB. Ele é

composto por três canais que representam a informação de cores primárias aditivas: o canal R (*red* - vermelho), canal G (*green* - verde) e canal B (*blue* - azul).

### 2.1.2 Vizinhança, conectividade e cálculo de distância

Os conceitos de vizinhança, conectividade e cálculo de distância estão associados diretamente ao menor elemento de uma imagem, o pixel. Um pixel  $p$ , com coordenadas  $(x,y)$ , possui 4 vizinhos horizontais e verticais, os quais formam a "4-vizinhança" de  $p$ , denotada por  $N_4(p)$ , Figura 3 (a). Os quatro vizinhos diagonais de  $p$  compõem a vizinhança diagonal, denotada por  $N_d(p)$ , Figura 3 (b). A "8-vizinhança" de  $p$  é a união da "4-vizinhança" e a vizinhança diagonal, como ilustrado pela Figura 3(c) e é denotada por  $N_8(p)$  (MARQUES FILHO e VIEIRA NETO, 1999).

Figura 3. Vizinhanças entre pixels: (a) 4-vizinhança, (b) vizinhança diagonal e (c) 8-vizinhança.



(Fonte: MARQUES FILHO e VIEIRA NETO, 1999)

O conceito de conectividade é de suma importância para a definição de bordas de objetos e componentes de regiões em uma imagem. Para identificar se dois pixels estão conectados, é necessário determinar se eles são vizinhos, seguindo algum critério, e se os respectivos níveis de cinza satisfazem determinado critério de similaridade. Por exemplo, em uma imagem binária, com valores 0 e 1, um par de pixels pode ser 4-vizinhos, mas eles são conectados somente se possuírem o mesmo valor (GONZALEZ e WOODS, 2000).

Segundo Gonzalez e Woods (2000) e Marques Filho e Vieira Neto (1999), dados os pixels  $p$ ,  $q$  e  $z$ , com as coordenadas  $(x,y)$ ,  $(s,t)$  e  $(u,v)$  respectivamente, pode-se definir uma função distância  $D$ , com as seguintes propriedades:

- a)  $D(p,q) \geq 0$  ( $D(p,q)=0$  se e somente se  $p=q$ )
- b)  $D(p,q) = D(q,p)$

$$c) \quad D(p,z) \leq D(p,q) + D(q,z)$$

Segundo Gonzalez e Woods (2000), a distância Euclidiana  $D_e(p, q)$  entre os pixels  $p$  e  $q$  é determinada pela Equação 1:

$$D_e(p,q) = [(x - s)^2 + (y - t)^2]^{1/2} \quad (1)$$

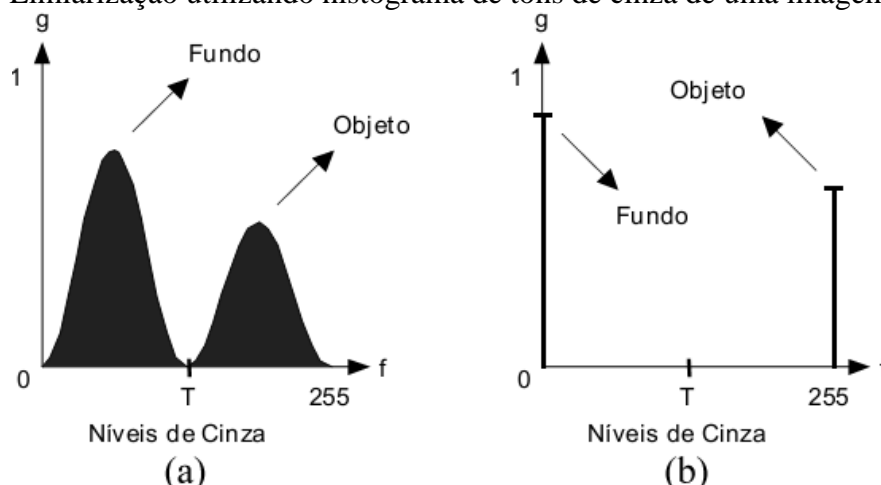
### 2.1.3 Segmentação

A segmentação pode ser definida como o processo pelo qual a imagem de entrada é dividida em segmentos ou regiões constituintes. A quantidade de subdivisões necessárias depende do problema que está sendo resolvido. Essa etapa define o eventual sucesso ou fracasso na análise de imagens. Portanto, ela deve ser desenvolvida com cuidado, para melhorar as chances de uma segmentação robusta. É importante ressaltar que a segmentação automática é uma das tarefas mais difíceis no processamento digital de imagens (GONZALEZ e WOODS, 2000).

Os algoritmos de segmentação para imagens em tons de cinza normalmente são baseadas em descontinuidade ou similaridade. A descontinuidade é caracterizada pelas mudanças bruscas nos níveis de cinza. Por meio da descontinuidade é possível identificar as bordas presentes em uma imagem. Uma borda é a fronteira que delimita duas regiões com propriedades relativamente distintas de nível de cinza. A similaridade baseia-se na limiarização, crescimento de regiões, divisão e fusão de regiões. A limiarização, ou *thresholding*, é o processo pelo qual é possível classificar os objetos de uma imagem em duas classes distintas utilizando um valor de limiar. Esse processo também é conhecido como binarização, sendo que ele apenas utiliza as classes: objeto de interesse e fundo (GONZALEZ e WOODS, 2000).

Formalizando, dada uma imagem monocromática  $f(x,y)$ , com o histograma de tons de cinza, Figura 4(a), onde o eixo  $f$  do histograma representa os tons de cinza, variando de 0 a 255, e o eixo  $g$  representa a probabilidade do respectivo tom de cinza ocorrer na imagem. Dado também que os tons de cinza mais escuros representam o fundo e os tons de cinza mais claros representam o objeto, é possível dividir a imagem em duas classes, por meio da utilização deste histograma e de um limiar  $T$ , Figura 4(b). Se o ponto de coordenadas  $(x,y)$  presente na imagem  $f(x,y)$  tiver o tom de cinza maior que o limiar  $T$ , ele é definido como parte do objeto de interesse, caso contrário ele é definido como parte do fundo (JÄHNE, 2004).

Figura 4. Limiarização utilizando histograma de tons de cinza de uma imagem.



(FONTE: MARQUES FILHO e VIEIRA NETO, 1999)

#### 2.1.4 Afinamento

Uma maneira de representar a estrutura de determinada região plana é reduzindo-a a um grafo<sup>1</sup>. Esse processo pode ser realizado aplicando um algoritmo de afinamento (também denominado esqueletização por afinamento ou eskeletonização por afinamento) para obtenção do esqueleto (MARQUES FILHO e VIEIRA NETO, 1999). O esqueleto de determinada região pode ser definido por meio da transformada do eixo médio (MAT - *Medial Axis Transform*), originalmente proposta por Blum (1967). A MAT de uma região  $R$  com borda  $B$  pode ser obtida do seguinte modo: para cada ponto  $p$  presente em  $R$ , busca-se o respectivo vizinho mais próximo em  $B$ . Se  $p$  tiver mais de um vizinho com a mesma distância mínima, então se diz que  $p$  pertence ao eixo médio (esqueleto) de  $R$ . O conceito de proximidade depende da definição de distância, consequentemente os resultados de uma MAT são diretamente influenciados pela escolha da medida de distância (GONZALEZ e WOODS, 2000).

Apesar da MAT de uma região resultar em um esqueleto aceitável intuitivamente, sua implementação direta é computacionalmente custosa, pois considera o cálculo da distância de cada ponto interno a cada ponto da borda de uma região. Diversos algoritmos com o intuito de aprimorar a eficiência computacional da MAT de uma região têm sido propostos (ZHANG e SUEN, 1984; KWON, GI e KANG, 2001; LEBOWITZ, 1988; COSTA e CESAR JUNIOR, 2000). Basicamente são algoritmos de

<sup>1</sup> Um grafo é uma estrutura  $G(V,A)$ , onde  $V$  é um conjunto arbitrário de vértices e  $A$  é um subconjunto de  $V$ , denominado de arestas (FEOFILOFF, KOHAYAKAWA e WAKABAYASHI, 2011).

afinamento que apagam iterativamente os pontos pertencentes a borda de uma região, respeitando alguns critérios como: não remover pontos extremos de um segmento; não quebrar a conectividade; não causar remoção excessiva de pontos da região (GONZALEZ e WOODS, 2000; MARQUES FILHO e VIEIRA NETO, 1999).

Um algoritmo que segue os critérios anteriormente expostos é o algoritmo proposto por Zhang e Suen (1984). Mais tarde, ele ficou conhecido como algoritmo de afinamento Zhang-Suen, devido ao sobrenome dos respectivos criadores. Esse algoritmo é utilizado para o afinamento de regiões binárias. Ele assume que as regiões de interesse tenham pixels com o valor 1, enquanto que os pixels do fundo possuem o valor 0. O processo consiste na aplicação sucessiva de duas etapas sobre os pontos do contorno da região, definindo um ponto do contorno como um pixel de valor 1 que possui pelo menos um vizinho de oito com valor 0 (GONZALEZ e WOODS, 2000). Apesar do algoritmo Zhang-Suen criar um esqueleto, esse algoritmo não garante que o esqueleto terá a espessura de um pixel (KWON, GI e KANG, 2001)

Utilizando como base o algoritmo Zhang-Suen, Kwon, Gi e Kang (2001) propuseram um novo algoritmo de afinamento. Posteriormente, esse algoritmo ficou conhecido como algoritmo de afinamento KWK. Ele garante que o esqueleto resultante terá a espessura de somente um pixel, além de garantir também a preservação dos pontos extremos do esqueleto, e da conectividade de 8-vizinhança (KWON, GI e KANG, 2001).

Os métodos de afinamento são aplicados em uma larga gama de problemas em processamento de imagens, desde a inspeção automática de placas de circuito impresso até a contagem de fibras de asbesto em filtros de ar (GONZALEZ e WOODS, 2000). O afinamento também pode ser aplicado na medição do comprimento e diâmetro de raízes, de acordo com o trabalho de Lebowitz (1988). Nesse caso, o afinamento foi utilizado como um processo iterativo que cria uma rede de pontos que representam o eixo médio das raízes. Algumas características do afinamento do eixo médio propiciam a aplicação na determinação do comprimento e do diâmetro de raízes: há somente um ponto de espessura ao longo de toda a extensão do eixo; o eixo possui aproximadamente o mesmo comprimento e forma das próprias raízes (LEBOWITZ, 1988).

Outro algoritmo de afinamento utilizado é o algoritmo multiescala. Ele consiste na aplicação de rotulações e remoções sucessivas de pixels, pertencentes ao contorno externo de cada objeto da imagem, sendo que este tipo de operação é realizada até que restem somente os eixos médios de cada objeto (COSTA e CESAR JUNIOR, 2000).

Costa e Cesar Junior (2000) fazem uma analogia do algoritmo utilizando uma situação hipotética do comportamento do capim em chamas. Considerando que o objeto a ser afinado é uma região com capim, se o fogo for ateado simultaneamente em todos os pontos da borda desta região, e considerando que as chamas se propagam em uma velocidade constante, as chamas apenas se extinguirão nas posições correspondentes aos eixos médios.

## 2.2 ANÁLISE DE SISTEMAS RADICULARES

A raiz é o órgão responsável pela fixação da planta ao solo, no qual se desenvolve por meio da extração de água e de nutrientes (BRASIL, 2009). O estudo ou análise de sistemas radiculares é realizado por diversas razões, sendo que as principais estão relacionadas aos seguintes temas: produção de raízes; importância ecológica; micro-organismos do solo; alocação de recursos; utilização de recursos; interação de plantas; estrutura do solo; fixação da planta ao solo; e informações biológicas básicas (SMIT et al., 2000).

Primeiramente, a análise de sistemas radiculares é utilizada para a otimização na produção de raízes como matéria prima. As raízes podem ser utilizadas como tempero, alimento e para a produção de energia. Além disso, é possível extrair diversas substâncias das raízes como: corantes; componentes farmacêuticos; açúcares; aditivos alimentícios; e essências. Quanto à importância ecológica, o estudo de raízes é utilizado para determinar o motivo de determinada espécie de planta se desenvolver em determinadas condições geográficas, climáticas, hídricas, de solo etc. (SMIT et al., 2000).

O estudo do sistema radicular também é utilizado para a análise dos micro-organismos presentes no solo. Os micro-organismos podem beneficiar o sistema radicular por meio da fixação de N (nitrogênio), oxidação de  $\text{NH}_4$ , desnitrificação, e formação de nódulos nas raízes. Entretanto, outros tipos de micro-organismos podem prejudicar o sistema radicular da planta causando doenças. A análise de raízes também é utilizada para compreender como a planta aloca os recursos disponíveis para a sobrevivência. O sistema radicular da planta indica como a planta se adapta as condições do ambiente em que se encontra (SMIT et al., 2000; ARMENGAUD et al., 2009).



O estudo de raízes é usado para monitorar e otimizar a utilização de recursos pelas plantas. A compreensão de como o sistema radicular funciona reduzirá o desperdício econômico, de água e fertilizantes. Ainda, evitará as consequências ambientais negativas causadas pelo desperdício de recursos. A análise de sistemas radiculares também é utilizada para compreender a interação de plantas e a estrutura do solo. Por fim, o estudo de raízes é realizado para a obtenção de informações biológicas básicas. Essas informações geralmente são utilizadas para a validação de modelos de crescimento radicular, de absorção de nutrientes e água etc. (VAN NOORDWIJK e VAN DE GEIJN, 1996; FREDDI et al., 2007; WANG et al., 2009; SMIT et al., 2000).

Outro fator que tem grande impacto no sistema radicular é a competitividade entre plantas pela obtenção de recursos do solo. A competitividade entre plantas causa a mudança da disponibilidade de nutrientes e de água, induzindo à adaptação do sistema radicular das plantas as novas condições do solo (BEYER, HERTEL e LEUSCHNER, 2013).

De modo geral, a análise de sistemas radiculares é utilizada basicamente para investigar a influência dos fatores ambientais no desenvolvimento de determinada cultura. O crescimento e a distribuição radicular normalmente são avaliados utilizando a massa, número de raízes, área, volume, comprimento e diâmetro médio (BÖHM, 1979).

### 2.2.1 Comprimento de raízes

Dentre os parâmetros radiculares (massa, número de raízes, área, volume, comprimento e diâmetro médio), o parâmetro mais importante e o mais utilizado é o comprimento. Esse parâmetro é utilizado para prever o comportamento dos sistemas radiculares em relação às mudanças no ambiente (BAUHUS e MESSIER, 1999). Mais especificamente, esse parâmetro está associado à disponibilidade de água e de nutrientes no solo (HIMMELBAUER et al., 2004). Por exemplo, sob condições de seca, a cultura de milho pode apresentar sistemas radiculares mais extensos para suprir a necessidade de água. Pesquisas genéticas têm explorado este e outros aspectos dos mecanismos de adaptação dos vegetais, para o desenvolvimento de variedades de vegetais mais resistentes à seca (MAGALHÃES et al., 2002; WASSON et al., 2012).

Motivados pela redução do consumo de água no cultivo da cultura de arroz, Wang et al. (2009) realizaram pesquisas sobre os efeitos do estresse hídrico no sistema radicular de duas cultivares distintas de arroz. Dentre os parâmetros analisados

(comprimento de raízes seminais, comprimento de raízes coronais, comprimento total de raízes e massa seca de raízes), as pesquisas demonstraram que o estresse hídrico (falta ou excesso de água) causou a redução do comprimento total das raízes em ambas as cultivares de arroz analisadas. Como o estresse hídrico está entre os maiores fatores limitantes da produção mundial, esse fator pode afetar a produção dessa e de outras culturas (LEITNER et al., 2014).

Devido ao grande interesse no estudo de resposta a disponibilidade de nutrientes utilizados pelas plantas, o comprimento radicular é bastante utilizado (ARMENGAUD et al., 2009). Murakami e Yoneyama (1988) constataram que a quantidade de nitrogênio disponível no solo está intimamente relacionada às variações de comprimento da raiz. Além disso, constatou-se que dependendo da dose de nitrogênio aplicada em diferentes variedades de arroz, o crescimento radicular pode ser igualmente ou diferentemente afetado (MURAKAMI e YONEYAMA, 1988).

Atributos químicos do solo, como a acidez, também são importantes para o desenvolvimento radicular. A acidez do solo causada por concentrações tóxicas de Al (alumínio) e baixa saturação de bases é responsável pela redução na taxa do crescimento radicular. Consequentemente, a absorção de nutrientes é prejudicada e o potencial de produção é reduzido (CAIRES et al., 2002; CAIRES et al., 2001).

Ninomiya et al. (2003), conduziram estudos sobre a influência de herbicidas no crescimento radicular da planta. Eles constataram que dependendo da composição, concentração e tempo de exposição, os herbicidas podem causar a redução na taxa de crescimento radicular e, portanto, prejudicar o desenvolvimento da planta.

Fatores relacionados à estrutura do solo em que a planta se desenvolve também podem afetar o crescimento radicular. Alguns desses fatores são o tamanho dos poros presentes no solo, dureza do solo e a compactação do solo causada pela ampla utilização de máquinas agrícolas. Com a compactação do solo, o tamanho dos poros diminui e a dureza do solo aumenta, por consequência, há um aumento na resistência mecânica do solo à penetração das raízes. E quanto maior a dureza do solo, menor é a taxa do crescimento radicular. Raízes sob resistência mecânica do solo normalmente demonstram um aumento no diâmetro e na síntese de etileno. Como consequência, o etileno pode reduzir a taxa de crescimento radicular, ou seja, o comprimento da raiz (JIN et al., 2013).

Prevendo o aumento na utilização da mecanização agrícola e da compactação do solo, diversas pesquisas genéticas estão sendo realizadas para a seleção e

desenvolvimento de cultivares, com raízes mais aptas a penetração de solos com maior resistência mecânica (JIN et al., 2013). Freddi et al. (2007) conduziram diversos experimentos com níveis de compactação distintos e constataram que a compactação do solo causou alteração na morfologia das raízes, e a redução na produtividade da cultura de milho de 5 a 38%.

O crescimento da raiz também pode ser limitado pelo ângulo de penetração da raiz no solo. Além disso, a temperatura e a espécie da planta são fatores limitantes para o crescimento radicular. Por exemplo, em condições de maior seca e de temperaturas mais elevadas, as raízes de milho tem maior predisposição ao crescimento do que em condições frias e úmidas (JIN et al., 2013).

### 2.2.2 Diâmetro de raízes

Outro parâmetro bastante importante é o diâmetro radicular. A variação do diâmetro radicular está intimamente relacionada à espécie da planta. Espécies distintas de plantas podem demonstrar um comportamento diferente do diâmetro radicular sob as mesmas condições (BEYER, HERTEL e LEUSCHNER, 2013). Alguns estudos mostram que à medida que o teor de fósforo disponível no solo diminui o diâmetro radicular também diminui (GRANT e MATTHEWS, 1996).

Plantas com raízes de diâmetros pequenos demonstram maior capacidade na captura de recursos do solo do que as de diâmetro maiores. Além disso, as raízes de diâmetros menores possuem uma maior abrangência dos nutrientes do que as de diâmetros maiores. No entanto, as raízes mais finas podem apresentar maior suscetibilidade ao ataque de herbívoros e patógenos. Quanto menor o diâmetro radicular, menor é a produção de células responsáveis pela proteção da raiz. As raízes finas também podem apresentar uma maior dificuldade no transporte de água do que as raízes mais grossas. Isso é causado pela área reduzida da secção transversal do xilema, tecido responsável pelo transporte de água e de nutrientes inorgânicos da planta (KROON e VISSER, 2003).

Conforme exposto, o desenvolvimento radicular pode influenciar drasticamente no desenvolvimento da planta e consequentemente na produção (MAIRHOFER et al., 2013). Devido ao amplo interesse econômico e científico no sistema radicular de plantas, foram desenvolvidos diversos métodos para a determinação de parâmetros radiculares ao longo dos anos. Dentre os métodos desenvolvidos, primeiramente,

podem-se ressaltar os métodos tradicionais para a determinação do comprimento e diâmetro de raízes (NEWMAN, 1966; MARSH, 1971; TENNANT, 1975; SCHENK e BARBER, 1979; SMIT et al., 2000).

### 2.2.3 Método tradicional

Segundo Newman (1966), a principal dificuldade em determinar o comprimento de raízes advém do tempo necessário para a realização desse processo. Quanto maior for o comprimento de raízes, maior será o tempo despendido para a medição direta (utilizando régua) do comprimento de raízes (NEWMAN, 1966).

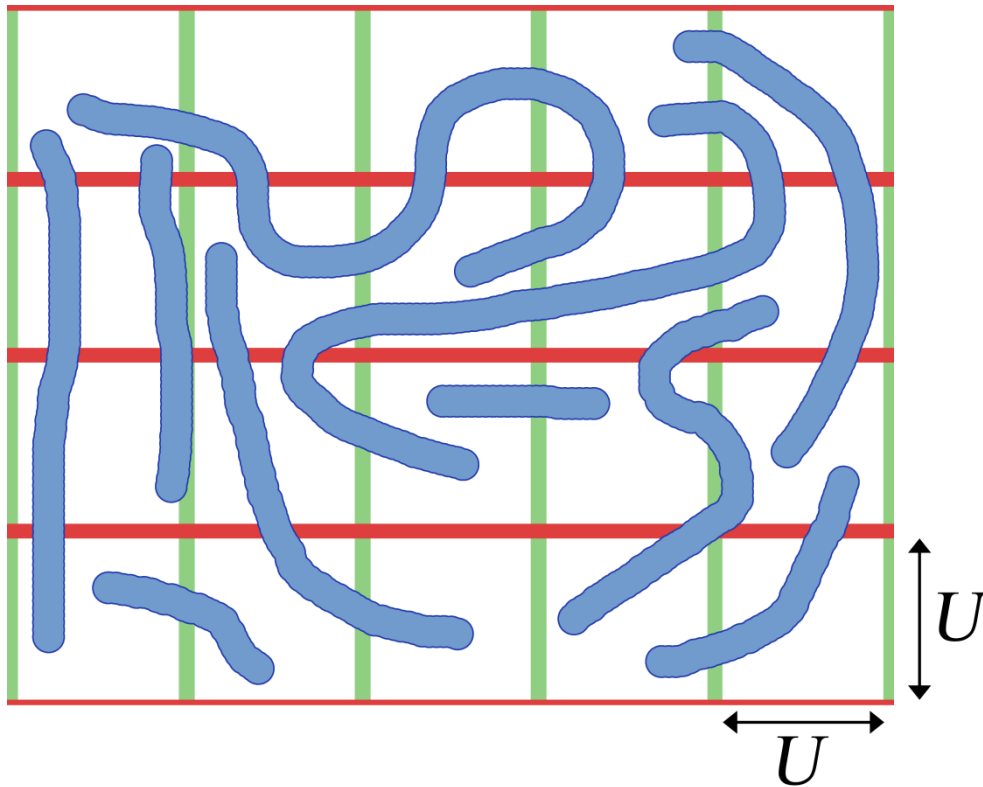
Tendo em vista a dificuldade exposta, Newman (1966) propôs o método das linhas de intersecção para estimar indiretamente o comprimento total de amostras de raízes. O método consiste na utilização de linhas retas, orientadas aleatoriamente, para a determinação da quantidade de intersecções entre as linhas e os segmentos de raízes. A quantidade de intersecções e os atributos geométricos das linhas foram utilizados para a estimativa do comprimento total, por meio de relações matemáticas.

Baseando-se no método proposto por Newman (1966), Marsh (1971) desenvolveu uma malha que podia ser utilizada para a medição indireta do comprimento radicular. Ele argumentou que as relações matemáticas propostas por Newman (1966) poderiam ser simplificadas e sintetizadas com a Equação 2, para uma malha com dimensões indefinidas, na qual  $C_{Marsh}$  é comprimento total das raízes e  $N$  é o número de intersecções entre as raízes e as linhas verticais e horizontais de uma malha 1 x 1 cm (TENNANT, 1975).

$$C_{Marsh} = \frac{11}{14} \times N \quad (2)$$

Posteriormente Tennant (1975) modificou o método da linha de intersecção tomando como base a abordagem utilizada por Marsh (1971). O método modificado consistiu na utilização de uma malha no fundo de uma bandeja (Figura 5). A bandeja continha raízes lavadas imersas em água, as quais foram posicionadas sobre a malha. As raízes foram imersas em água para evitar que as ramificações ficassem presas a estrutura principal da raiz, tornando a estrutura radicular evidente para posterior medição. Quando necessário, as raízes foram separadas ou cortadas em pedaços menores.

Figura 5. Exemplo de malha utilizada para a medição do comprimento de raízes.



(FONTE: AUTOR, 2016)

As intersecções entre as raízes e as linhas horizontais e verticais da malha foram contadas. Se a raiz ou parte dela ficasse justaposta a alguma linha vertical ou horizontal da malha, ela era contabilizada como duas intersecções. Após a obtenção do número de intersecções foi utilizada a Equação 3, para a obtenção do comprimento,  $C_{Tennant}$ , na qual  $U$  é a unidade da malha, expressa em centímetros (cm). A unidade da malha corresponde à medida do lado do menor quadrado formado por ela..

$$C_{Tennant} = \frac{11}{14} \times N \times U \quad (3)$$

Segundo Tennant (1975) a Equação 3 pode ser simplificada combinando a constante  $\frac{11}{14}$  com  $U$  resultando em um *fator* de conversão do comprimento. Combinando as unidades da malha de  $\frac{1}{2}$ , 1, 2, 3 cm com a constante, obtiveram-se os fatores de conversão 0,3928; 0,7857; 1,5714 e 2,3571, respectivamente. Aplicando a simplificação na Equação 3 foi obtida a Equação 4.

$$C_{Tennant} = N \times \text{fator} \quad (4)$$

Com a popularização do método de Tennant, este método tornou-se uma técnica padrão para a estimativa do comprimento radicular. Por meio dessa técnica é possível obter coeficientes de variação do comprimento radicular inferiores ou iguais a 5%. Apesar disso, normalmente são encontrados coeficientes de variação de 10 a 15% durante a aplicação do método. Esses coeficientes de variação estão associados a diversos fatores durante a aplicação do método, como a disposição aleatória de raízes sobre a malha, definição das intersecções, nível de visibilidade da raiz, além da subjetividade e o cansaço do indivíduo que aplica o método (SMIT et al., 2000).

Utilizando-se aproximações geométricas pode-se considerar uma raiz com um formato cilíndrico (SMIT et al., 2000). Portanto, o volume da raiz  $V_{raiz}$  pode ser calculado por meio da equação do volume do cilindro, Equação 5, na qual  $R$  representa o raio médio da raiz e  $C$  o comprimento da raiz.

$$V_{raiz} = \pi R^2 C_{Tennant} \quad (5)$$

Dividindo ambos os lados da Equação 5 por  $\pi C$ , obtém-se a Equação 6.

$$R^2 = \frac{V_{raiz}}{\pi C_{Tennant}} \quad (6)$$

Aplicando a raiz quadrada em ambos os lados da Equação 6, obtém-se a Equação 7.

$$R = \sqrt{\frac{V_{raiz}}{\pi C_{Tennant}}} \quad (7)$$

Utilizando a relação física entre a massa  $m$  e a densidade  $d$  é possível calcular o volume por meio da Equação 8.

$$V_{raiz} = \frac{m}{d} \quad (8)$$

Substituindo o volume  $V$  obtido na Equação 7, obtém-se a Equação 9.

$$R = \sqrt{\frac{m}{\pi d C_{Tennant}}} \quad (9)$$

A determinação da massa fresca da raiz torna-se mais fácil após separar o sistema radicular do solo (BAUHHUS e MESSIER, 1999). Um dos métodos utilizados para a obtenção da massa fresca é a prévia absorção da água da raiz utilizando um papel toalha e, em seguida, a massa da raiz é determinada utilizando uma balança (SCHENK e BARBER 1979). Além do papel toalha, pode-se utilizar uma centrífuga de baixa velocidade para a extração do excesso de água da raiz (SMIT et al., 2000).

Sabendo a massa fresca da raiz  $m$  e o comprimento da raiz  $C_{Tennant}$  por meio do método de Tennant (1975), é possível calcular o raio médio  $R$  da raiz por meio da Equação 9 (SCHENK e BARBER, 1979). Após isso, é possível obter o diâmetro médio da raiz  $D_{médio}$  utilizando a relação geométrica da Equação 10.

$$D_{médio} = 2R \quad (10)$$

Substituindo a Equação 9 na Equação 10 obtém-se a Equação 11, que relaciona a massa fresca  $m$ , a densidade  $d$  e o comprimento da raiz  $C_{Tennant}$  para o cálculo do diâmetro médio da raiz  $D_{médio}$ .

$$D_{médio} = 2 \sqrt{\frac{m}{\pi d C_{Tennant}}} \quad (11)$$

Na prática, a avaliação do sistema radicular de plantas por meio dos métodos tradicionais é demorada, exaustiva, complexa e, em muitos casos, não fornece a acurácia necessária. Diante desses fatos, diversas técnicas estão sendo desenvolvidas com o intuito de eliminar esses inconvenientes. Dentre as técnicas desenvolvidas, podem-se destacar as técnicas baseadas no processamento digital de imagens (BÖHM, 1979; RICHARDS et al., 1979; SMIT et al., 2000; PIERRET et al., 2013).

#### 2.2.4 Método baseado em processamento digital de imagens

Ao longo dos anos, diversos métodos de processamento digital de imagens vêm sendo desenvolvidos para a análise de sistemas radiculares. Os métodos desenvolvidos podem ser divididos quanto ao tipo de imagem utilizada, imagens 2D e imagens 3D. As imagens 3D são imagens compostas por três dimensões: largura, altura e profundidade. As imagens 2D são imagens compostas por duas dimensões consistindo em largura e

altura (RICHARDS et al., 1979; LEBOWITZ, 1988; SMIT et al., 1994; SMIT et al., 2000; PIERRET et al., 2013; NAME, 2013).

Baseando-se nos princípios expostos por Newman (1966) e Marsh (1971), Rowse e Philips (1974) desenvolveram um mecanismo para a determinação do comprimento radicular. O mecanismo era composto basicamente por um microscópio binocular, um contador optoeletrônico, uma lâmpada de 6V, duas barras roscadas e dois motores. O conjunto de motores e de barras roscadas era responsável pela movimentação da bandeja contendo a amostra de raízes. A lâmpada ficava posicionada na parte inferior do mecanismo, enquanto que o microscópio e o contador optoeletrônico ficavam na parte superior do mecanismo. A amostra de raízes então se movimentava entre a lâmpada e o contador optoeletrônico. Se a raiz da amostra entrasse no campo de visão do microscópio e do contador optoeletrônico, a intensidade luminosa seria reduzida e então seria contabilizada. Após todas as contabilizações, o comprimento radicular era calculado. Durante o processo de medição do comprimento radicular, o mecanismo desenvolvido não era capaz de distinguir os resíduos do solo, que poderiam estar na amostra, das raízes. Portanto, era necessário realizar a remoção manual de resíduos, antes do processo de medição do comprimento radicular, o que tornava o processo mais demorado. Como o processo foi baseado no método da intersecção, duas raízes distintas não poderiam estar paralelamente encostadas uma na outra. Nesse caso duas raízes seriam contadas como uma, e o processo de medição do comprimento seria afetado. Durante o processo de validação, o mecanismo de medição foi utilizado para medir fios de 2 a 10 m obtendo desvios padrão de  $\pm 0,04$  m a  $\pm 0,19$  m. O mecanismo também foi utilizado para medir o comprimento de raízes de feijão, alface e nabo, obtendo desvios padrão de:  $\pm 0,20$  m;  $\pm 0,55$  m; e  $\pm 0,44$  m, respectivamente. Para as mesmas raízes, os menores desvios padrão obtidos pelo método de Newman (1966) foram de:  $\pm 0,52$  m;  $\pm 0,74$  m; e  $\pm 2,30$  m, respectivamente.

Richards et al. (1979) desenvolveram um sistema para a determinação do comprimento radicular por meio do princípio da intersecção e de um contador optoeletrônico. O sistema desenvolvido consistia basicamente em um escâner optoeletrônico. Para a determinação do comprimento, as raízes foram cortadas e colocadas em uma bandeja de vidro com água. A bandeja foi colocada sobre o vidro do escâner, no qual um feixe de luz se deslocava. O bloqueio do feixe luz foi identificado por um sensor e o comprimento total das raízes foi calculado. Comparando o método proposto com o da linha de intersecção, o método proposto obteve 12% de erro para



raízes de cinco metros, e 1% para raízes de cinquenta metros. Devido às limitações de construção, o sistema só podia mostrar o comprimento radicular em metros com uma precisão de duas casas após a vírgula. Além disso, o sistema foi projetado especificamente para identificar raízes entre 0,1 e 3 mm de espessura. Portanto, raízes com diâmetros inferiores a 0,1 mm e superiores a 3 mm não eram identificadas. Assim como o mecanismo de Rowse e Philips (1974), o sistema de Richards et al. (1979) não era capaz de distinguir resíduos, bolhas de ar, ou poeira, que poderiam estar na amostra, das raízes.

Lebowitz (1988) desenvolveu um método para a medição do comprimento e diâmetro de raízes baseado em análise de imagens. O método consistia na utilização de uma câmera para a aquisição das imagens e uma lâmpada fluorescente para obtenção de imagens com alto contraste. As amostras de raízes foram então colocadas em uma placa de Petri contendo água, a qual foi posicionada sobre uma lâmpada fluorescente e então fotografada por uma câmera posicionada sobre um suporte vertical. As imagens adquiridas estavam na escala de cinza, das quais os tons mais escuros geralmente correspondiam às raízes. Posteriormente as imagens adquiridas foram limiarizadas manualmente. Os tons menores que o limiar correspondiam às raízes e os tons maiores correspondiam ao fundo. As imagens binarizadas foram afinadas para a obtenção dos eixos médios por meio de um processo iterativo. O comprimento da raiz foi calculado por meio do número de pares de pixels vizinhos orientados na vertical, horizontal e diagonal presentes no eixo médio, utilizando a Equação 12. Na qual  $Dist$  é a distância entre qualquer pixel vizinhos na vertical ou horizontal, e  $P_h$ ,  $P_v$  e  $P_d$  são o número de pares de pixels vizinhos na horizontal, vertical e diagonal, respectivamente, no eixo médio.

$$C_{Lebowitz} = Dist \times ((P_h + P_v) + 2^{0.5} \times P_d) \quad (12)$$

Explorando a iteratividade do algoritmo de afinamento, Lebowitz (1988) propôs a Equação 13 para calcular o diâmetro da raiz. Na qual  $M$  é o número médio de iterações necessárias para obter o eixo médio da raiz e  $D_{Lebowitz}$  é o diâmetro da raiz.

$$D_{Lebowitz} = 2 \times M \times Dist \quad (13)$$

Lebowitz (1988) demonstrou resultados promissores quanto à medição do comprimento de raízes de *Coleus scutellarioides* (L.) utilizando a técnica de

afinamento, obtendo um erro padrão da média de 0,60% e de 4,11%, utilizando o método de Tennant (1975).

Murakami e Yoneyama (1988) também criaram um método baseado em análise de imagens para a medição do comprimento de raízes de duas variedades de arroz. As raízes de arroz foram lavadas, e posteriormente 0,2 g foram selecionadas ao acaso. As raízes foram secas e uma fita adesiva foi colocada sobre elas. Então, a fita adesiva com as raízes foi colocada sobre um papel amarelo, o qual foi fotocopiado com uma ampliação de 141%. A folha foi fotografada utilizando uma câmera e medida utilizando o sistema automático de análise de imagens Nireco Luzex 5000. As raízes primárias foram medidas separadamente com um curvímeter sobre o filme. Como padrões para a validação do método, foram utilizados três tipos de amostras: fibras de algodão, seda, uma mistura de seda e linhas desenhadas. Comparando o método criado e o método da linha de intersecção, o método criado obteve 5,30% como maior erro relativo e 0,30% como menor erro relativo ao método da linha de intersecção.

Zoon e Tienderen (1990) criaram um software capaz de medir o comprimento de raízes, e de estimar o número de pontas e ramificações radiculares, utilizando a abordagem de processamento digital de imagens. As imagens de raízes foram adquiridas em escala de cinza através de uma câmera. Posteriormente as imagens foram limiarizadas e então os ruídos foram removidos. Caso o objeto fosse menor que um determinado número de pixels, escolhido pelo usuário, o objeto era considerado como ruído e então eliminado. Caso contrário o objeto era considerado como raiz. Após esse processo, as imagens das raízes foram afinadas até reduzi-las a um pixel de espessura. Por fim, foram contados os pixels remanescentes, os pixels das pontas e os pixels de ramificação para o cálculo do comprimento e da ramificação das raízes. De acordo com Zoon e Tiederen (1990), o coeficiente de variação do software não ultrapassou 5% se comparado ao método de Tennant para a medição do comprimento.

Kirchhof (1992) desenvolveu um software em linguagem de programação C baseado em escâner portátil para a obtenção do comprimento e da espessura de raízes. Para simular as raízes, foram utilizadas linhas desenhadas aleatoriamente em folhas de papel, que então foram escaneadas para a obtenção de imagens binárias (preto e branco). Nas imagens, os pixels pretos representavam as raízes enquanto que os pixels brancos representavam o fundo. Os comprimentos das raízes simuladas foram obtidos utilizando uma abordagem baseada no método da intersecção. Cada intersecção era contada se houvesse uma transição de pixel branco para pixel preto, ou seja, se houvesse

uma transição de fundo para raiz. Após um conjunto de testes, Kirchhof (1992) obteve a relação expressa pela Equação 14 para calcular o comprimento radicular em milímetros.

$$C_{Kirchhof} = \frac{NT}{(DP_{mm} \times A)} \quad (14)$$

Na Equação 14, o comprimento radicular  $C_{Kirchhof}$  em milímetros é expresso pela razão entre o número de intersecções  $NT$ , e o produto entre a resolução  $DP_{mm}$  e a área  $A$  ocupada pelas raízes na imagem. A área  $A$  foi calculada dividindo o número de pixels das raízes da imagem pelo número total de pixels da imagem. A resolução em pixels por polegada (DPI) da imagem foi convertida para pixels por milímetros ( $DP_{mm}$ ) para a obtenção do comprimento radicular  $C_{Kirchhof}$  em milímetros (KIRCHHOF, 1992).

Para o cálculo da espessura radicular Kirchhof (1992) considerou o número de transições entre pixels de raiz e fundo, e fundo e raiz. Após a contagem do número de transições, o número de intersecções  $NT$  foi aplicado na Equação 15. Na Equação 15, o diâmetro radicular  $E$  em milímetros é expresso pela razão entre o número de transições  $NT$ , e o produto entre a resolução  $DP_{mm}$  e a área  $A$  ocupada pelas raízes na imagem.

$$E = \frac{NT}{(DP_{mm} \times A)} \quad (15)$$

Se a raiz estivesse posicionada na diagonal, o diâmetro era calculado utilizando a Equação 16. Na qual,  $E_r$  é o diâmetro da raiz na diagonal e  $E$  é o diâmetro anteriormente calculado.

$$E_r = \frac{2E}{\pi} \quad (16)$$

Utilizando as linhas desenhadas para teste, o software desenvolvido obteve um coeficiente de variação de 1,7% em relação ao comprimento real e 4,3% em relação o diâmetro real.

Tanaka, Yamauchi e Kono (1995) também desenvolveram um método para medição do comprimento radicular baseado em processamento digital de imagens. Para o teste do método foram cultivados arroz, milho e soja em laboratório. Após a lavagem cuidadosa das raízes, foi utilizado corante azul escuro com 0,25% de Coomassie Brilliant Blue R. Em seguida, foram coletadas as raízes de três plantas de cada espécie. Para cada planta, duas pequenas partes distintas do sistema radicular foram selecionadas. Em seguida, as raízes foram cortadas em segmentos de 2 cm.

Posteriormente, o excesso de água foi removido das raízes. As raízes foram colocadas em uma folha de papel e então escaneadas para a aquisição de imagens de raízes em tons de cinza. Além disso, foi utilizado o software de domínio público NIH Image para a medição das raízes nas imagens adquiridas. Para a medição do comprimento radicular, o software realçava as bordas das raízes e então ajustava os níveis de cinza da imagem, com o objetivo de discriminar as raízes do fundo. A imagem resultante foi binarizada e afinada, e os pixels do esqueleto foram contados e multiplicados pelo comprimento lateral do pixel da imagem. Posteriormente, o comprimento obtido foi corrigido por meio de um fator de correção. Para futura comparação, cada um dos segmentos de raiz foi medido utilizando uma régua. Durante os testes, o método obteve porcentagens de acerto de 99,9% para raízes de soja, 99% para raízes de milho e de 92,5% para raízes de arroz.

Arsenault et al. (1995) desenvolveram um sistema comercial para o sistema operacional Windows baseado em escâner para a mensuração de raízes, que denominaram de WinRhizo<sup>TM</sup>. Esse sistema foi capaz de medir o comprimento total, projeção de área, área superficial, e o comprimento ao longo de diferentes diâmetros da raiz. O WinRhizo<sup>TM</sup> também foi capaz de contar as pontas das raízes e os pontos de ramificação. Posteriormente o método proposto por Arsenault et al. (1995), também passou a ser disponibilizado para o sistema operacional Macintosh adotando o nome de MacRhizo<sup>TM</sup>. Portanto, para se referir tanto ao WinRhizo<sup>TM</sup> quanto ao MacRhizo<sup>TM</sup> foi adotada a nomenclatura Rhizo (BAUHUS e MESSIER, 1999; ZOBEL, 2003).

Segundo Bauhus e Messier (1999), o método proposto por Arsenault et al. (1995) seguiu as etapas subsequentes para o cálculo do comprimento e do diâmetro. O escâner do sistema Rhizo adquiriu a imagem de raízes em escala de cinza. A imagem em escala de cinza adquirida foi binarizada utilizando um limiar definido pelo usuário. A imagem binária resultante considerou as raízes como pixels pretos e o fundo como pixels brancos. Para a obtenção do comprimento, a imagem binária foi primeiramente afinada. Se a raiz fosse reta e estivesse na vertical ou horizontal, o comprimento era medido utilizando a soma de todos os pixels do esqueleto. Caso a raiz estivesse disposta na diagonal com um ângulo de 45°, o comprimento era medido utilizando a soma dos pixels do esqueleto na diagonal. Se o ângulo de inclinação da raiz não correspondesse aos casos anteriores, o Rhizo utilizava uma equação matemática para correção do comprimento. Caso houvesse sobreposição de raízes também era utilizada uma equação de correção para o comprimento. Para o cálculo do diâmetro foi utilizada

uma reta perpendicular a cada pixel do esqueleto, e calculada a distância entre os dois pontos em que a linha interceptava as bordas da raiz. Assim como o comprimento, o cálculo do diâmetro considerou o ângulo de inclinação da reta. Em regiões de ramificação ou cruzamento de raízes não foi realizado o cálculo do diâmetro.

Devido ao amplo interesse nas abordagens de processamento digital de imagens para a determinação de parâmetros radiculares, Bauhus e Messier (1999) realizaram diversos testes para a determinação da acurácia do sistema comercial desenvolvido por Arsenault et al. (1995). Foram realizados quatro experimentos para determinar: o efeito do comprimento por unidade de área na medição do comprimento, o efeito do diâmetro nas medições de comprimento e diâmetro, o efeito do ângulo de inclinação e do tamanho da área da imagem na medição do diâmetro, e a reprodutividade das medidas de raízes em comparação com o método de Tennant (1975). Para realização dos dois primeiros testes, foram utilizadas amostras contendo linhas e fios de comprimento conhecido, e diâmetro constante. Os diâmetros dos fios e linhas foram medidos utilizando micrômetro. Ao iniciar os testes, foi predeterminada uma área de 9 cm por 8 cm no vidro do escâner para a aquisição das imagens. As amostras de fios e linhas foram dispostas aleatoriamente na área predeterminada com a ocorrência de sobreposições. Durante o primeiro experimento, para o comprimento da linha por unidade de área de  $1,4 \text{ cm cm}^{-2}$  houve 100% de acurácia na medição do comprimento. Para comprimentos de linha por unidade de área entre  $2,8 \text{ cm cm}^{-2}$  e  $4,2 \text{ cm cm}^{-2}$ , os comprimentos totais foram subestimados em 5% e 10%, respectivamente. A correta distribuição do comprimento quanto as classes de diâmetro foi afetada conforme o aumento do comprimento por unidade de área. A acurácia de 76%, com  $1,4 \text{ cm cm}^{-2}$ , diminuiu para 49%, com  $4,2 \text{ cm cm}^{-2}$  (BAUHUS e MESSIER, 1999).

Durante o segundo experimento, os diâmetros medidos pelo Rhizo não tiveram desvios superiores a 3% em relação aos diâmetros reais. Segundo Bauhus e Messier (1999), os diâmetros das linhas não afetaram significativamente a medição do comprimento total das amostras. O aumento da resolução da imagem de 300 para 600 dpi reduziu o erro da distribuição do comprimento quanto as classes de diâmetro. Entretanto, a correta distribuição do comprimento quanto as classes de diâmetro foi afetada de acordo com a escolha das classes de diâmetro (BAUHUS e MESSIER, 1999).

Durante o terceiro experimento foi explorada a opção de selecionar a região retangular da imagem a ser analisada fornecida pelo Rhizo. Para tanto, foram utilizados

cilindros de grafite de 0,72 mm de diâmetro dispostos em ângulo de inclinação de 0°, 12°, 30° e 45° sobre o vidro do escâner. O diâmetro dos cilindros foi determinado utilizando regiões com 0,5 cm, 1 cm e 2 cm de altura. Os ângulos de inclinação e a altura das regiões selecionadas influenciaram na medição do diâmetro dos grafites (BAUHUS e MESSIER, 1999).

No último teste foram utilizados segmentos de raízes de um arbusto caducifólio e de *Picea glauca*. O comprimento dos segmentos foi medido com sobreposição e com o mínimo de sobreposição utilizando o Rhizo. As medidas foram repetidas três vezes mudando a disposição dos segmentos. Posteriormente, as medidas obtidas foram comparadas com as medidas do método de Tennant (1975). O Rhizo obteve a média dos coeficientes de variação de 1,6% para a reprodutividade das medidas de comprimento. O método de Tennant (1975) obteve comprimentos significativamente maiores que os obtidos pelo Rhizo. Bauhus e Messier (1999) concluíram que apesar do Rhizo fornecer medidas exatas de comprimento e diâmetro em situações com pouca sobreposição, o software subestimava o comprimento em situações com grande sobreposição de raízes (a partir de 1,93 cm cm<sup>-2</sup>) (BAUHUS e MESSIER, 1999).

Kaspar e Ewing (1997) desenvolveram uma nova abordagem para a medição do comprimento de raízes lavadas utilizando imagens de escâner. Antes do processo de medição, as raízes foram tingidas com corante azul escuro para facilitar a identificação das raízes na imagem. Em seguida, uma bandeja de acrílico contendo água e raízes foi colocada sobre o vidro de um escâner Hewlett-Packard ScanJet 9190A. As raízes foram dispostas evitando sobreposição e que uma encostasse na outra. Então as imagens foram obtidas em tons de cinza, analisadas e algumas delas foram editadas utilizando o software Hewlett-Packard Paintbrush version 1.03. As imagens de raízes foram convertidas para preto e branco utilizando limiarização com limiar fixo. Para calcular o comprimento das raízes foi necessário calcular previamente o respectivo perímetro ( $P_{KE}$ ) e área ( $A_{KE}$ ). Para o cálculo do  $P_{KE}$  de cada raiz, primeiramente foi identificado o contorno da raiz, realizando uma aproximação poligonal do contorno, e então foi calculado o perímetro do polígono aproximado. A área das raízes  $A_{KE}$  foi calculada utilizando o número de pixels das raízes. O comprimento radicular foi obtido utilizando a Equação 17.

$$C_{KE} = \frac{P_{KE} + \sqrt{P_{KE}^2 - 16A_{KE}}}{4} \quad (17)$$

A abordagem proposta foi comparada com o método da linha de intersecção utilizando quatro amostras de raízes de milho de tamanhos distintos. A razão obtida entre os comprimentos da abordagem proposta e os do método da linha de intersecção variou de 0,88 a 0,98 (KASPAR e EWING, 1997).

Com o intuito de reduzir o tempo e aumentar a acurácia do processo de medição de comprimento de raízes, Kimura, Kikuchi e Yamasaki (1999) desenvolveram outro método para a medição do comprimento de raízes utilizando processamento digital de imagens. O método teve como objetivo de reduzir os erros ocasionados pela orientação das raízes, tamanho da amostra e sobreposição de raízes. Para tanto, foram utilizadas raízes de arroz com corante violeta de metila para aumentar o contraste entre as raízes e o fundo. As imagens de raízes foram adquiridas em tons de cinza utilizando um escâner. Em seguida as imagens foram limiarizadas e as imagens binárias resultantes foram então afinadas. Posteriormente, os pixels dos esqueletos foram classificados e contados de acordo com a respectiva disposição (diagonal ou ortogonal). Após a obtenção do número de pixels na diagonal ( $N_d$ ) e na ortogonal ( $N_o$ ), o comprimento foi calculado por meio de três equações distintas considerando a resolução da imagem em dpi. Sendo que a equação que obteve um menor coeficiente de variação foi a Equação 18. O maior coeficiente de variação obtido pela equação, para a medição do comprimento, foi de 0,81% e o menor foi de 0,16%.

$$C_{Kimura} = 0,948 \times (\sqrt{2}N_d + N_o) \times \frac{25,4}{dpi} \quad (18)$$

O processamento digital de imagens também foi usado por Kimura e Yamasaki (2001) para determinar o diâmetro de raízes. Para a determinação do comprimento radicular foi utilizado o mesmo método proposto por Kimura, Kikuchi e Yamasaki (1999). Para o cálculo do diâmetro, a imagem binária obtida após o cálculo do comprimento radicular foi utilizada; por meio da contagem do número de remoções sucessivas das bordas das raízes,  $K$ , e a resolução da imagem  $dpi$ . Para o cálculo do diâmetro foram utilizadas as Equações 19 e 20.

$$D_{est} = 2 \times K \times 0,891 \times \frac{25,4}{dpi} \quad (19)$$

$$D_{est} = 2 \times K \times \sin \theta \times \frac{25,4}{dpi} \quad (20)$$

A Equação 19 era utilizada caso o ângulo de inclinação  $\theta$  da raiz, entre o eixo das abscissas e o segmento de reta que representava o diâmetro radicular, fosse maior que 0 e menor que  $\pi/4$ , e seus equivalentes. Caso o ângulo de inclinação  $\theta$  da raiz fosse maior que  $\pi/4$  e menor que  $\pi/2$ , e seus equivalentes, a Equação 20 era utilizada (KIMURA e YAMASAKI, 2001).

O método proposto por Kimura e Yamasaki (2001) para a medição do diâmetro radicular foi comparado ao método de medição por meio de microscópio. O maior coeficiente de variação obtido entre os métodos foi de 11,9% e o menor coeficiente de variação foi de 7,8%. O método não foi capaz de calcular o diâmetro de cada raiz presente na imagem, somente o diâmetro médio de todas as raízes da imagem. O cálculo do diâmetro de raízes foi limitado por uma resolução de dois pixels.

Com o objetivo de monitorar os efeitos da toxicidade de herbicidas em raízes, Ninomiya et al. (2003) desenvolveram um sistema baseado em processamento de imagens para monitorar a taxa de crescimento de raízes de pak-bung (*Ipomoea aquatica*). O sistema era composto por uma unidade de aquisição de imagens e uma unidade de processamento de imagens.

A unidade de aquisição de imagens era composta por uma lâmpada de LED (*light-emitting diode* - diodo emissor de luz) e uma câmera com lentes de zoom acopladas. Ambas foram instaladas em uma câmara de cultura para o monitoramento do crescimento de raízes em tempo real. Uma placa de Petri contendo 20 cm<sup>3</sup> de meio de cultura (solução química contendo nutrientes necessários para o desenvolvimento das células radiculares) e raízes de *Ipomoea aquatica* foi posicionada entre a lâmpada de LED e a câmera. As imagens foram adquiridas da parte inferior da placa de Petri enquanto era iluminada pela lâmpada de LED. A câmera foi acoplada a um computador contendo a unidade de processamento de imagens. A unidade de processamento de imagens foi responsável pela identificação das raízes. Em seguida, foi determinada a ponta das raízes onde ocorreria o crescimento e posteriormente foi calculada a taxa de crescimento da raiz em determinado intervalo de tempo. Esse procedimento foi repetido a cada 12 minutos durante 20, 30 e 40 horas. Para comparar o sistema ao método manual, a taxa de crescimento das raízes também foi medida manualmente. A taxa de crescimento obtida pelo sistema e a medida manual obtiveram um coeficiente de correlação de 0,98.



Name (2013) desenvolveu um método computacional, utilizando a abordagem de análise de imagens, para a avaliação de raízes de soja por meio do comprimento e da área total das raízes. O método consistiu na utilização de um escâner de mesa para a aquisição das imagens de amostras de raízes. Após a aquisição as imagens foram convertidas para a escala de cinza e então binarizadas manualmente. Posteriormente era aplicado o processo de detecção de contornos, para a distinção e rotulação das raízes. Em seguida, as raízes eram afinadas utilizando o algoritmo de afinamento multi-escala para o cálculo do comprimento. Relacionando a área interna da raiz  $A_i$  e o respectivo perímetro  $P$ , Name (2013) obteve a Equação 21. Onde  $A_p$  é a área planar.

$$A_p = A_i + \frac{P}{2} \quad (21)$$

Relacionando a área planar  $A_p$  com o comprimento  $C_{Name}$ , Name (2013) obteve a Equação 22, sendo  $D_{Name}$  o diâmetro da raiz. Ele considerou as raízes cilíndricas para a obtenção da área superficial  $A_{Name}$  da raiz, Equação 23.

$$D_{Name} = \frac{A_p}{C_{Name}} \quad (22)$$

$$A_{Name} = \pi D_{Name} C_{Name} \quad (23)$$

Name (2013) utilizou, além do algoritmo de afinamento multiescala, um fator de correção para o cálculo do comprimento de raízes de soja. Ao comparar o método proposto para medição do comprimento com método da linha de intersecção o menor coeficiente de variação foi de 0,10% e o maior foi de 2,10%. Posteriormente, foi comparada a medição do diâmetro do método proposto com o método tradicional de medição do diâmetro médio radicular, sendo o menor coeficiente de variação de 0,24% e o maior de 26,81%.

Baseando-se nas pesquisas de Kimura, Kikuchi e Yamasaki (1999), Pierret et al. (2013) desenvolveram uma macro para mensurar o comprimento total e o diâmetro médio de raízes, denominada IJ\_Rhizo. Essa macro utilizou como plataforma o software ImageJ, um software desenvolvido especificamente para o processamento digital de imagens científicas (SCHNEIDER, RASBAND e ELICEIRI, 2012). A macro desenvolvida foi comparada com o sistema WinRhizo<sup>TM</sup> utilizando dois conjuntos de imagem, ambos adquiridos com um escâner de mesa em escala de cinza. O primeiro conjunto de imagens foi adquirido utilizando amostras de raízes de duas variedades de

uva. O segundo conjunto de imagens foi adquirido utilizando folhas transparentes em tamanho A4 nas quais foram desenhadas linhas de teste, com caneta preta de pontas com 0,5 mm e 1,0 mm de diâmetro.

Ao iniciar a macro, era requisitado ao usuário que especificasse a resolução da imagem. Ao abrir a imagem no IJ\_Rhizo ela podia ser limiarizada de maneira manual ou automática, para a distinção entre raiz e fundo. Após limiarizada a imagem era afinada. Para o cálculo do comprimento e do diâmetro médio eram utilizadas as propriedades dos esqueletos obtidos. Pierret et al. (2013) comparou as medidas de comprimento obtidas pelo IJ\_Rhizo com as medidas de comprimento do WinRhizo<sup>TM</sup>, obtendo um erro médio de 8,7% e um coeficiente de determinação de 0,991. Eles também compararam as medidas de diâmetro médio obtidas pelo IJ\_Rhizo com as medidas de diâmetro médio obtidas pelo WinRhizo<sup>TM</sup>, obtendo um erro médio de 18% e um coeficiente de determinação de 0,893.

As pesquisas expostas utilizaram basicamente dois tipos de equipamentos para a aquisição de imagens (Tabela 1 e 2): câmeras (28,57%) e escâneres (71,43%). A cor foi uma das características pouco exploradas para a distinção entre as raízes e o fundo. Grande parte das pesquisas (78,57%) utilizaram somente imagens em tons de cinza, enquanto 21,43% das pesquisas não especificaram ou não utilizaram um espaço de cor.

Tabela 1. Equipamentos para a Determinação de Parâmetros Radiculares.

Medição - C: comprimento. Métrica - CV: coeficiente de variação; DP: desvio padrão.

Equipamento	Referencia	Medição	Material de Validação	Métrica
Microscópio e Sensor optoeletrônico	Rowse e Philips (1974)	C	Raízes de feijão, alface, e nabo e fios de náilon	DP
Escâner Optoeletrônico	Richards et al. (1979)	C	Raízes de árvores	DP e CV

(FONTE: AUTOR, 2016)

A grande maioria das pesquisas (64,29%) demonstraram a utilização da limiarização manual como ferramenta para a separação entre raízes e o fundo (LEBOWITZ, 1988; ZOON e TIENDEREN, 1990; ARSENAULT et al., 1995; KASPAR e EWING, 1997; KIMURA, KIKUCHI e YAMASAKI, 1999; KIMURA e YAMASAKI, 2001; NINOMIYA et al., 2003; PIERRET et al., 2013; NAME, 2013). A baixa complexidade computacional e facilidade de implementação (GONZALEZ e WOODS, 2000), podem ter influenciado na adoção desta ferramenta. Somente 7,14%

das pesquisas utilizaram segmentação automática para a distinção entre o fundo e as raízes. As demais pesquisas (35,71%) não especificaram ou não utilizaram algum tipo de segmentação.

Quanto a medição, 100% das pesquisas abordadas desenvolveram métodos para a medição do comprimento radicular direta ou indiretamente utilizando PDI. Apenas 35,71% das pesquisas desenvolveram métodos para medição do diâmetro médio de raízes. O processo de afinamento demonstrou-se uma técnica muito utilizada na medição de raízes, seja para a medição do comprimento total quanto para a medição do diâmetro médio de raízes (LEBOWITZ, 1988; ZOON e TIENDEREN, 1990; ARSENAULT et al., 1995; TANAKA, YAMAUCHI e KONO, 1995; KIMURA, KIKUCHI e YAMASAKI, 1999; KIMURA e YAMASAKI, 2001; PIERRET et al., 2013; NAME, 2013).

Foi utilizado pelo menos um tipo de raiz de planta em 92,86% das pesquisas para a validação dos métodos desenvolvidos; e apenas 7,14% das pesquisas não utilizaram raízes de plantas para a validação dos métodos. Para a validação dos métodos, os pesquisadores também utilizaram outros materiais com formato cilíndrico em 64,29% das pesquisas.

Tabela 2. Métodos Computacionais para a Determinação de Parâmetros Radiculares.

NE: Não especificado. Medição - A: área; AS: área superficial; C: comprimento; CPD: comprimento por classe de diâmetro; CR: crescimento radicular; DM: diâmetro médio; P: perímetro; PA: projeção de área. Métrica - CC: coeficiente de correlação; CD: coeficiente de determinação; CV: coeficiente de variação; DP: desvio padrão; EM: erro médio; EPM.: erro padrão da média; ERP.: erro relativo percentual; R: razão entre o valor obtido e o valor real.; \* Software de terceiros.

(continua)

Software	Referencia	Aquisição	Imagem	Cor	Segmentação	Medição	Material de Validação	Métrica
NE	Lebowitz (1988)	Câmera de Vídeo Panasonic WV-1400, Conversor AD Microworks DS-88	256 x 256 px	Cinza	Limiarização	C e DM	Raízes de <i>Coleus scutellarioides</i> e fios de cobre	EPM
Nireco Luzex 5000 *	Murakami e Yoneyama (1988)	Câmera de Vídeo	NE	NE	NE	C	Raízes de arroz, fibras de algodão, seda e linhas desenhadas	ERP
NE	Zoon e Tienderen (1990)	Câmera Bosch T YK 9C	256 x 256 px	Cinza	Limiarização	C	Raízes e fios	CV
GUNSCAN	Kirchhof (1992)	Escâner DFI Handy HS- 3000	200 dpi, 400 dpi	Cinza	NE	C e DM	Linhas desenhadas	CV
NIH Image v. 1.44 *	Tanaka, Yamauchi e Kono (1995)	Escâner Epson GT-6000	250 dpi	Cinza	NE	C	Raízes de milho, soja e arroz	CC
RHIZO	Arsenault et al. (1995); Bauhus e Messier (1999)	Escâner, Escâner Hewlett- Packard ScanJet 3c/T TX	300 dpi, 600 dpi	Cinza	Limiarização	C, PA, AS e CPD	Raízes de <i>Picea glauca</i> e arbusto caducifólio, fios, linhas e cilindro de grafite	DP
Rootedge	Kaspar e Ewing (1997)	Escâner Hewlett-Packard ScanJet 9190A	300 dpi, 600 dpi, TIFF	Cinza	Limiarização	C, A e P	Raízes de milho	R e DP
NIH Image v. 1.60 *	Kimura, Kikuchi e Yamasaki (1999)	Escâner HP ScanJet 4c	150 dpi, 300 dpi, TIFF	Cinza	Limiarização	C	Raízes de arroz e fios de cobre	CV

Tabela 2. Métodos Computacionais para a Determinação de Parâmetros Radiculares.

NE: Não especificado. Medição - A: área; AS: área superficial; C: comprimento; CPD: comprimento por classe de diâmetro; CR: crescimento radicular; DM: diâmetro médio; P: perímetro; PA: projeção de área. Métrica - CC: coeficiente de correlação; CD: coeficiente de determinação; CV: coeficiente de variação; DP: desvio padrão; EM: erro médio; EPM.: erro padrão da média; ERP.: erro relativo percentual; R: razão entre o valor obtido e o valor real.; \* Software de terceiros.

(conclusão)

Software	Referencia	Aquisição	Imagem	Cor	Segmentação	Medição	Material de Validação	Métrica
NIH Image v. 1.61 *	Kimura e Yamasaki (2001)	Escâner HP ScanJet 4c	300 dpi, 600 dpi, TIFF	Cinza	Limiarização	C e DM	Raízes de arroz e fios de cobre	CV
NE	Ninomiya et al. (2003)	Câmera STC-LS400	480 x 640 px	Cinza	Limiarização	CR	Raízes de <i>Ipomoea aquatica</i>	CC
ImageJ * e IJ_Rhizo	Pierret et al. (2013)	Escâner Epson Expression 10000XL	400 dpi, TIFF e JPEG	Cinza	Automática e Limiarização	C e DM	Raízes de uva e linhas desenhadas	CD e EM
RoMe	Name (2013)	Escâner Lexmark X4690 e Escâner Epson Stylus TX115	300 dpi, JPEG, 2000 x 3050 px e 733 x 700 px	Cinza	Limiarização	C e DM	Raízes de soja e fios de cobre	CV

(FONTE: AUTOR, 2016)

O coeficiente de variação foi a métrica estatística mais utilizada para a validação dos métodos desenvolvidos, sendo utilizada em 42,86% das pesquisas. Em seguida, foi utilizado o desvio padrão para a validação, em 28,57% das pesquisas.

Conforme exposto anteriormente, existe uma ampla variedade de abordagens para avaliação do sistema radicular utilizando o processamento digital de imagens. Os métodos tradicionais ainda são bastante utilizados, apesar da existência e viabilidade de outras abordagens. Deve-se enfatizar que esses métodos demandam muito tempo (de minutos até dias dependendo do tamanho e da quantidade de amostras a serem analisadas) e esforço quando comparados às demais abordagens (BÖHM, 1979; SMIT et al., 2000). Apesar do aumento das pesquisas utilizando processamento digital de imagens para a avaliação do comprimento e diâmetro radicular, poucas das soluções apresentadas estão disponíveis tanto comercialmente quanto gratuitamente (ARSENAULT et al., 1995; PIERRET et al., 2013).

## 2.3 CULTURA DE MILHO

O milho (*Zea mays L.*) é uma planta pertencente à família Poaceae que está entre os cereais mais importantes do Brasil e do mundo, possuindo grande importância econômica e alimentícia. Essa planta é amplamente utilizada em diversos segmentos da indústria como a farmacêutica, alimentícia, produção de plásticos e produção de energia. Devido a esses fatos, é de imensa importância maximizar a produção e a produtividade dessa cultura (MAGALHÃES et al., 2002; CRUZ et al., 2006; PEREIRA FILHO, 2002; EDWARDS, 2009).

O crescimento e desenvolvimento do milho são restringidos por fatores como temperatura, água e radiação solar ou luminosidade. Um dos fatores mais complexos é a temperatura, pois a temperatura considerada ideal varia nos diferentes estádios de desenvolvimento e crescimento dessa planta. Os limites extremos tolerados pela planta de milho são de 10°C e 30°C. Quando submetida a temperaturas inferiores a 10°C durante longos períodos, a planta de milho quase não apresenta crescimento. No entanto, quando a planta de milho é submetida a temperaturas superiores a 30°C durante a noite e por longos períodos, o rendimento de grãos diminui. A temperatura considerada ótima para o desenvolvimento do milho desde a emergência até a floração está no intervalo de 24°C a 30°C (CRUZ et al., 2006).

A água é outro fator que possui grande influência sobre essa cultura. Apesar de ser uma cultura que demanda grande quantidade de água, ela pode ser cultivada em regiões cujas precipitações anuais variam de 250 mm até 5000 mm. Durante todo o ciclo, o milho consome em média 600 mm de água (CRUZ et al., 2006).

Além da temperatura e da água, a radiação solar possui extrema influência sobre a cultura de milho, sendo um dos fatores indispensáveis para a planta de milho realizar o processo de fotossíntese. Durante esse processo ocorre a fixação do CO<sub>2</sub>, responsável pela produção de aproximadamente de 90% da matéria seca da planta de milho. Além disso, o decréscimo de 30% a 40% da intensidade luminosa durante longos períodos retarda a maturação dos grãos, podendo reduzir a produção. Portanto, em condições consideradas ótimas, essa cultura manifestará o máximo potencial genético de produção (CRUZ et al., 2006).

Apesar das plantas de milho possuírem um mesmo padrão de desenvolvimento, fatores como o tempo de duração de cada estágio e o número de folhas dependem diretamente do híbrido utilizado, ano agrícola, período de plantio/semeadura e da localização (MAGALHÃES e DURÃES, 2006).

O sistema de classificação utilizado para identificar os estádios de desenvolvimento das plantas de milho é dividido em estádios vegetativos (V) e reprodutivos (R). O primeiro estágio vegetativo é o estágio de emergência (VE), no qual ocorre à germinação, emergência e inicia-se o desenvolvimento da planta. No estágio de emergência inicia-se o desenvolvimento radicular da planta. Os estádios vegetativos intermediários são aqueles em que ocorre o aparecimento de folhas, formação do caule, desenvolvimento radicular e formação de espigas. Eles são numericamente identificados (V1, V2, V3 até Vn), sendo que *n* representa a última folha emitida antes do pendoamento. Durante o estágio V1 inicia-se o alongamento das primeiras raízes continuando até o estágio R3, no qual, o crescimento radicular continua praticamente inerte. O último estágio vegetativo é o estágio de pendoamento (VT), o qual define o máximo crescimento e desenvolvimento da planta. Os estádios reprodutivos também são numericamente identificados desde R1 até R6. Nos estádios reprodutivos ocorrem a polinização, crescimento da espiga, formação de grãos e a maturação dos grãos de milho (MAGALHÃES e DURÃES, 2006).

Embora tenham sido reportadas raízes de milho com profundidades de até 2,4 m (CANADELL et al., 1996), a maior parte do comprimento radicular do milho pode ser encontrado em camadas mais superficiais. Pesquisando a distribuição radicular e a

nutrição da cultura de milho sob o sistema de plantio direto (SPD), Tissi (2001) identificou que 85% do comprimento radicular da cultura encontravam-se nos primeiros 20 cm de profundidade do solo. Estudando a distribuição radicular da cultura de milho em dois sistemas de manejo de solo distintos, Silva (2007) identificou que 90% do comprimento radicular também se concentraram nos primeiros 20 cm de profundidade do solo.

Mesmo existindo uma ampla variedade de pesquisas sobre o sistema radicular de plantas de milho, poucas delas relatam o comprimento radicular obtido por planta de milho (Tabela 3). Esse fato dificulta na determinação critérios de validação de métodos de processamento de imagens para a medição do comprimento radicular do milho. Normalmente o comprimento radicular é expresso de acordo com a distribuição espacial no solo utilizando a densidade de comprimento radicular (VAN NOORDWIJK e BROUWER, 1991; WIESLER e HORST, 1994; MATERECHERA e MLOZABANDA, 1997; LIVESLEY et al., 1999; SILVA, REINERT e REICHERT, 2000; ZHUANG, YU e NAKAYAMA, 2001; ALBUQUERQUE e REINERT, 2001; BUCZKO, KUCHENBUCH e GERKE, 2009; DUBE et al., 2014; NING et al., 2015; CAIRES et al., 2016; THIEVERGE et al., 2016).

Apesar da densidade de comprimento radicular utilizar o comprimento como base de cálculo, ela não retrata o comprimento radicular por planta. Ela somente expressa o comprimento de raízes encontrado em um determinado volume de solo (SMIT et al., 2000).

Na Tabela 3, são destacados os híbridos de milho utilizados em cada pesquisa sobre o sistema radicular de milho. É utilizada a nomenclatura NE quando o híbrido não foi especificado na pesquisa. Também são destacadas as referências utilizadas e o intervalo de comprimento radicular encontrado por planta de milho, em metros. A coluna Média apresenta a média dos intervalos encontrados na literatura em metros. Portanto, a planta de milho pode apresentar comprimentos radiculares médios de 14,36 m a 238,23 m.

Devido a ampla importância, tanto econômica quanto científica, da cultura de milho é necessário o desenvolvimento de métodos de análise radicular cada vez mais exatos e eficazes. Esses métodos contribuem com a otimização da utilização de recursos hídricos, ambientais e financeiros. Dentre esses métodos, destacam-se os métodos baseados em processamento digital de imagens. Diversos métodos baseados em processamento digital de imagens já foram propostos para a análise radicular. Métodos



utilizando escâneres, e técnicas como a limiarização manual e a esqueletização por afinamento demonstraram-se promissores, tanto para a estimativa do comprimento quanto do diâmetro radicular (PEREIRA FILHO, 2002; EDWARDS, 2009; SMIT et al., 2000). Diante do exposto, o capítulo seguinte descreve os materiais e a metodologia utilizada para a confecção do método proposto para estimativa do comprimento total e do diâmetro médio de raízes de milho.

Tabela 3. Comprimento Radicular de Plantas de Milho

<b>Híbridos de Milho</b>	<b>Referência</b>	<b>Intervalo Observado (m)</b>	<b>Média (m)</b>
NE	Bhadoria et al. (2004)	25 - 1217	
Pioneer 3325	Kuchenbuch, Ingram e Buczko (2006)	2,50 - 25	
478 Wu312	Liu et al. (2009)	45,55 - 103,31	
INRA MB 862	Redjala et al. (2011)	4,50 - 11,86	
Danyu 13 Denghai 661 Huang 417 Jundan 20 Nongda 60 Nongda 108 Shendan 7 Xianyu 335 Yedan 13 Zhengdan 958 Zhongdan 2	Wu et al. (2011)	7,50 - 40	14,36 - 238,23
NE	Xia et al. (2013)	1,10 - 32,20	

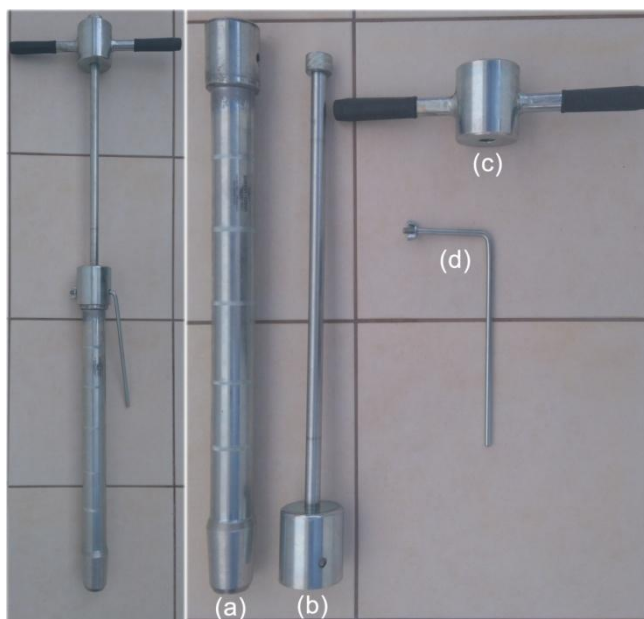
(FONTE: AUTOR, 2016)

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 COLETA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS DE RAÍZES

Amostras de solo contendo raízes de milho foram coletadas de um experimento realizado na Fazenda São José, município de Palmeira, Estado do Paraná, Brasil [25°24'37,8"S/49°58'22,8"W ( $\pm 3$ m) altitude média de 900 m]. O solo da área experimental foi classificado como Cambissolo Háplico Tb Distrófico textura média, há 17 anos sob o sistema de plantio direto. Na área experimental foi semeada aveia preta (*Avena strigosa*) IAPAR 61 durante a última quinzena de Abril/2015 com espaçamento entre linhas de 17 cm. Durante a primeira quinzena de Outubro/2015, foi semeado o híbrido de milho (*Zea mays L.*) AG9045 Pro3, com o espaçamento entre linhas de 45 cm. Na primeira quinzena de Janeiro/2016, quando o milho encontrava-se no estágio de polinização (R1), foi realizada a coleta de amostras de raízes utilizando uma sonda amostradora de raízes Sondaterra® (Figura 6). A sonda possuía 5,5 cm de diâmetro interno e 80 cm de comprimento. Para a identificação das camadas de solo a serem amostradas, a sonda possuía marcações de 10 em 10 cm para coleta de amostras até a profundidade máxima de 60 cm.

Figura 6. Sonda Amostradora de Raízes composta por: (a) sonda; (b) haste e copo; (c) peso; (d) cabo em L.

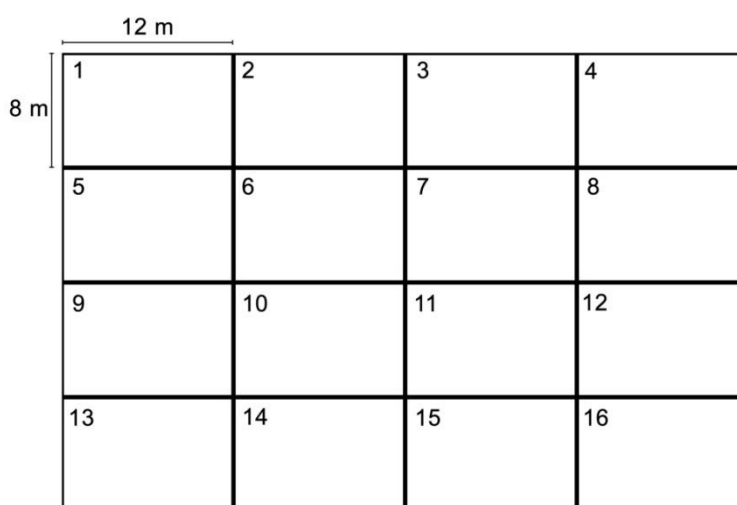


(FONTE: AUTOR, 2016)

A sonda, Figura 6(a), foi posicionada sobre cada ponto de coleta. Em seguida, o copo, Figura 6(b), foi encaixado sobre a sonda, alinhando os orifícios do copo e da sonda. Posteriormente, o cabo em L, Figura 6(d), foi colocado nos orifícios anteriormente alinhados, garantindo a fixação do copo e da sonda. Durante o procedimento, uma pessoa era responsável por segurar a sonda na posição vertical e verificar se a sonda já estava posicionada na profundidade desejada de coleta. Enquanto a outra era responsável por levantar e soltar o peso, Figura 6(c), presente na haste até que a sonda atingisse a profundidade desejada. Após levantar o peso na altura máxima permitida pela haste, o peso era solto até colidir com o copo. Durante a colisão, a força exercida pelo peso empurrava a sonda para baixo. Quando a sonda atingia a profundidade desejada, era aplicada uma força vertical para cima para a remoção do equipamento do solo. Em seguida, o cabo em L era removido e o copo era desencaixado da sonda. E então a sonda era colocada de ponta cabeça, para despejar a amostra coletada em saco plástico. Caso parte da amostra ficasse presa na sonda, o cabo em L era utilizado para auxiliar na remoção dela.

A área experimental onde foi realizada a coleta era composta por 16 parcelas (Figura 7). Cada parcela media 8 m de largura por 12 m de comprimento, e tinha uma área de 96 m<sup>2</sup>. As 16 parcelas juntas totalizavam uma área de 1536 m<sup>2</sup>. Em cada parcela, foram coletadas amostras de raízes e de solo nas camadas de 0 a 10 cm, e de 10 a 20 cm com quatro repetições, duas na linha e duas na entrelinha.

Figura 7. Área de coleta.



(FONTE: AUTOR, 2016)

Portanto, foram coletadas quatro amostras por parcela, uma amostra na entrelinha da camada de 0 a 10 cm, uma amostra na entrelinha da camada de 10 a 20 cm, uma amostra na linha da camada de 0 a 10 cm, e uma amostra na linha da camada de 10 a 20 cm, totalizando 64 amostras ao final da coleta. Cada amostra foi colocada em um saco plástico rotulado, com caneta retroprojektor preta, de acordo com a parcela e as camadas de coleta.

Posteriormente, as amostras ensacadas contendo solo e raízes (Figura 8) foram levadas ao Laboratório de Nutrição de Plantas da Universidade Estadual de Ponta Grossa - Paraná, Brasil e armazenadas em um frízer a temperatura de  $1 \pm 2^{\circ}\text{C}$ .

Figura 8. Amostra de solo contendo raízes.



(FONTE: AUTOR, 2016)

As amostras foram armazenadas em frízer para reduzir/cessar a respiração radicular e a atividade microbiana, evitando que as raízes fossem danificadas (SMIT et al., 2000). As amostras ficaram armazenadas até que o processo de separação das raízes do solo fosse realizado.

A separação das raízes do solo foi efetuada utilizando duas peneiras de malha de 4,76 mm e 0,84 mm (Figura 9), respectivamente, cedidas pelo Laboratório de Fertilidade do Solo da Universidade Estadual de Ponta Grossa - Paraná, Brasil. Para cada uma das amostras foi realizado o seguinte procedimento. A peneira com malha maior (4,76 mm) foi encaixada sobre a peneira de malha menor (0,84 mm). A amostra foi colocada sobre a peneira de malha de 4,76 mm para início do processo de lavagem

da amostra. A pilha de peneiras foi então colocada sob uma fonte de água corrente para a remoção do solo da amostra. Para facilitar o desmanche dos torrões de solo na peneira superior, foram realizados movimentos circulares e suaves com as mãos até que não restassem mais torrões de solo.

Figura 9. Peneiras para separação de raízes do solo.



(FONTE: AUTOR, 2016)

Após isso, foi realizado o mesmo procedimento na peneira inferior. Caso a peneira com a menor malha começasse a acumular água, era necessário remover o conjunto de peneiras da fonte de água corrente e então desencaxar cuidadosamente o conjunto de peneiras. Em seguida, era necessário realizar movimentos suaves e circulares com as mãos, para remover a camada de solo que estaria obstruindo a passagem da água através da peneira. Logo após, cada peneira foi colocada dentro de uma bandeja de vidro transparente com água limpa, para facilitar o processo de separação das raízes das demais partículas restantes. Posteriormente, as raízes foram cuidadosamente coletadas com pinça e colocadas em um recipiente plástico. Esse procedimento foi repetido para cada uma das amostras coletadas.

Após a separação das raízes do solo, as raízes foram armazenadas em recipientes plásticos tampados contendo solução de álcool a 70%. Cada recipiente foi diretamente rotulado utilizando uma caneta retroprojeter preta. Foram adotados os mesmos rótulos dos sacos plásticos. Por final, os recipientes plásticos foram conservados a temperatura de  $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , até a determinação dos parâmetros radiculares. Ao final do processo, três amostras foram descartadas devido à queda da peneira e a perda parcial da amostra de raízes.

### 3.2 DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS RADICULARES

Para a determinação do comprimento e do diâmetro radicular da cultura de milho foram aplicados dois métodos, o método tradicional e o método proposto neste trabalho. Posteriormente, ambos os métodos foram comparados.

#### 3.2.1 Método Tradicional

Para o cálculo do comprimento radicular foi utilizado o método de Tennant (1975), com a malha de 1 x 1 cm. Para a aplicação do método, foi utilizada a malha impressa em uma transparência com as dimensões previamente citadas, um retroprojektor Visograf VG 2250, e duas bandejas de vidro com 180 mm de largura, 280 mm de comprimento e 53 mm de altura. A transparência foi colocada sobre o vidro do retroprojektor. Sobre ela foi colocada a bandeja contendo água e raízes. Em seguida, o retroprojektor ampliou a imagem da malha e das raízes em uma parede, possibilitando a contagem das intersecções entre as raízes e a malha.

A contagem foi realizada utilizando um contador manual Veeder-Root de quatro dígitos (Figura 10). Para facilitar a aplicação do método, primeiramente foram contadas as intersecções nas linhas horizontais e posteriormente as intersecções nas linhas verticais. Tanto a contagem nas linhas horizontais quanto nas linhas verticais foi realizada em zigue-zague. Durante a contagem, o tempo foi cronometrado. Esse procedimento foi repetido para todas as amostras de raízes previamente lavadas.

Figura 10. Contador Manual de Quatro Dígitos.



(FONTE: AUTOR, 2016)

Para o cálculo do diâmetro radicular médio foi necessário utilizar uma balança analítica Marte - Shimadzu AY220 com resolução de 0,0001 g para a medição da massa das raízes. Antes da medição de massa, foi necessário aquecer a balança durante quatro horas em modo *stand-by* (SHIMADZU, 2007).

Para cada amostra, as raízes foram removidas dos recipientes plásticos contendo álcool 70%, e colocadas entre camadas de papel toalha por aproximadamente dois minutos, para a absorção do excesso de álcool. Em seguida, a balança foi regulada para não considerar a massa do recipiente plástico, somente a massa fresca das raízes. As raízes foram então colocadas no recipiente plástico, o qual foi colocado sobre o prato da balança para medição da massa fresca de cada amostra. Posteriormente a amostra foi armazenada novamente no recipiente com álcool 70%. O tempo de todo o processo de medição da massa foi cronometrado para cada amostra. Foi considerado o tempo desde a remoção das raízes do recipiente plástico até o respectivo armazenamento, incluindo o tempo de aquecimento da balança. Para determinação do diâmetro médio radicular, a densidade da raiz de milho foi considerada igual à densidade da água, ou seja,  $d$  é igual a  $1 \text{ g/cm}^3$  (ROOSE, 2000; SMIT et al., 2000). Em seguida, as massas mensuradas e os respectivos comprimentos obtidos pelo método de Tennant (1975) foram aplicados na Equação 11 (seção 2.2.3), para a obtenção dos respectivos diâmetros radiculares médios.

### 3.2.2 Método Proposto

Baseando-se nos métodos presentes na literatura para medição do comprimento e diâmetro de raízes utilizando o PDI, foi possível extrair informações que auxiliassem no desenvolvimento do método proposto. Para tanto, foram levadas principalmente em consideração as informações obtidas nas seções 2.2.4 e 2.3.

Para a aquisição das imagens de raízes foi utilizado um escâner profissional Epson Perfection V700 Photo. Também foram utilizadas três molduras de isopor e duas bandejas de vidro. Cada bandeja de vidro possuía as seguintes dimensões externas: 180 mm de largura, 280 mm de comprimento e 53 mm de altura. As mesmas bandejas possuíam as seguintes dimensões internas: 174 mm de largura, 274 mm de comprimento e 50 mm de altura. As molduras foram confeccionadas em isopor, duas com 15 mm de espessura, medindo 240 mm de largura e 330 mm de comprimento, e uma com 20 mm de espessura, medindo 240 mm de largura e 330 mm de comprimento.

Antes de iniciar o procedimento de aquisição de imagens, cada bandeja foi cuidadosamente limpa utilizando pano umedecido com álcool etílico. Em cada bandeja foi adicionada uma camada de água com altura de 8 a 10 mm. A bandeja foi colocada sobre o vidro do escâner. Em seguida, as molduras de isopor foram encaixadas na bandeja de vidro para evitar que a luz incidisse lateralmente sobre as raízes, como descrito por Name (2013). Posteriormente, as raízes de milho foram aleatoriamente dispostas na bandeja com água, evitando que as raízes encostassem nas bordas da bandeja (Figura 11).

Figura 11. Escâner com as molduras de isopor e bandeja posicionadas.

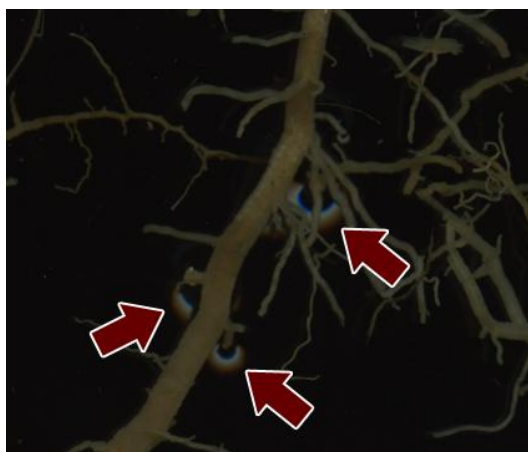


(FONTE: AUTOR, 2016)

Normalmente a superfície da água é plana quando não há alguma interferência externa. Se as raízes estiverem na superfície ou próximas a ela, elas podem causar deformações na superfície da água. Com a incidência de luz nas deformações da água podem aparecer feixes de refração na imagem de raízes. Quando as raízes eram maiores que as dimensões da bandeja ou quando havia muita refração (Figura 12), as raízes foram cuidadosamente cortadas utilizando um estilete.



Figura 12. Distorções provocadas pela raiz imersa em água.



(FONTE: AUTOR, 2016)

As imagens coloridas das raízes foram adquiridas em modo profissional, formato BMP e em quatro resoluções distintas: 300 dpi, 600 dpi, 1200 dpi e 2400 dpi, respectivamente. Para cada uma das amostras, foram adquiridas quatro imagens com a tampa do escâner aberta (Figura 13) e quatro imagens com a tampa do escâner fechada (Figura 14).

Para a implementação do método foi utilizado um computador com processador AMD Athlon™ II X4-620 2.60 GHz, 4 GB de memória RAM e sistema operacional Windows 7 Home Basic (64 bits). Durante a implementação, foi utilizada a interface de desenvolvimento Netbeans 6.9 e a biblioteca OpenCV (*Open Source Computer Vision* - Biblioteca de Código Aberto de Visão Computacional), versão 2.4.0. Essa biblioteca foi desenvolvida com objetivo de prover uma infraestrutura simples de visão computacional para o desenvolvimento ágil de aplicações (BRADSKI e KAEHLER, 2008). Juntamente com essa biblioteca foi utilizada a interface JavaCV 0.1, que propicia a utilização das rotinas presentes na biblioteca OpenCV por meio da linguagem de programação Java. Para a validação e teste do método proposto foi utilizado um computador com processador Intel Core™ i5-4440 3.10 GHz, 8 GB de memória RAM e sistema operacional Windows 7 Ultimate (64 bits).

Figura 13. Imagem de raízes com tampa do escâner aberta.



(FONTE: AUTOR, 2016)

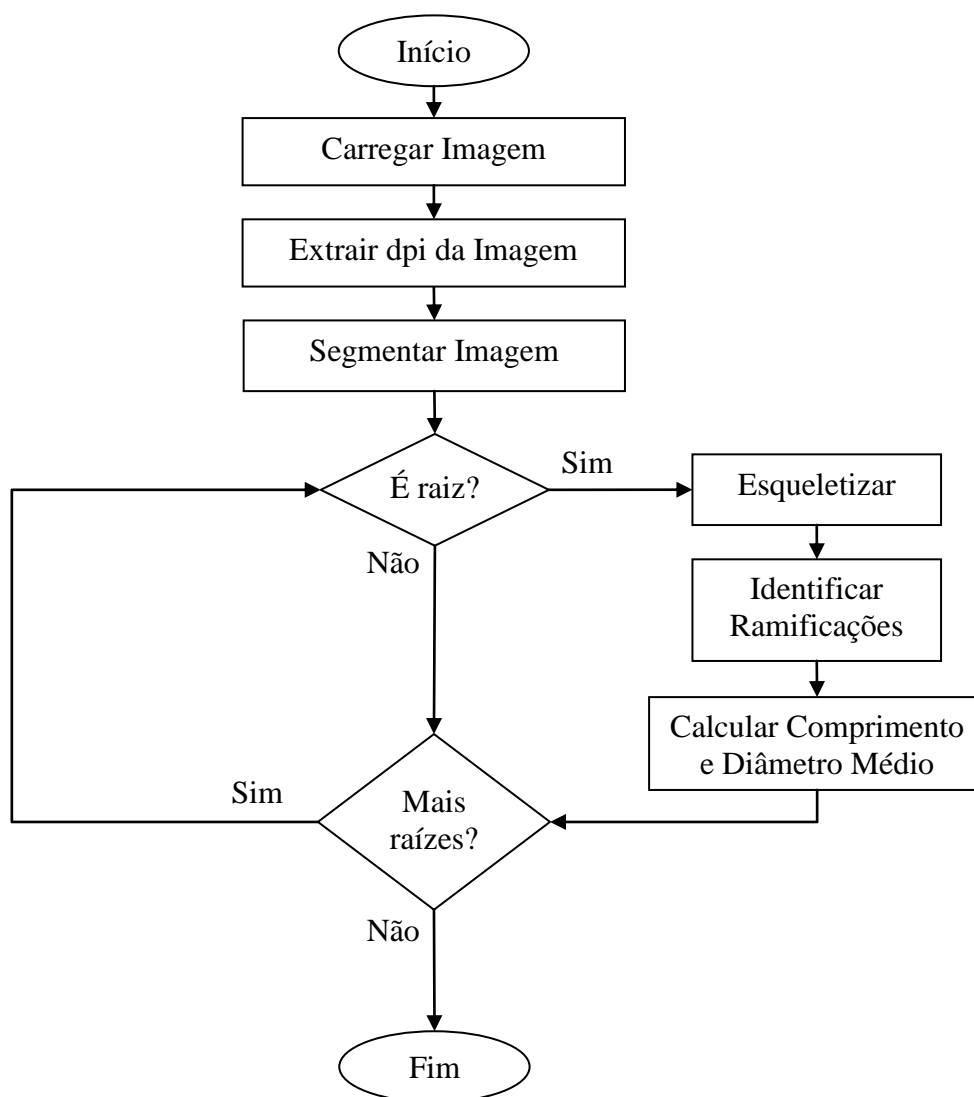
Figura 14. Imagem de raízes com tampa do escâner fechada.



(FONTE: AUTOR, 2016)

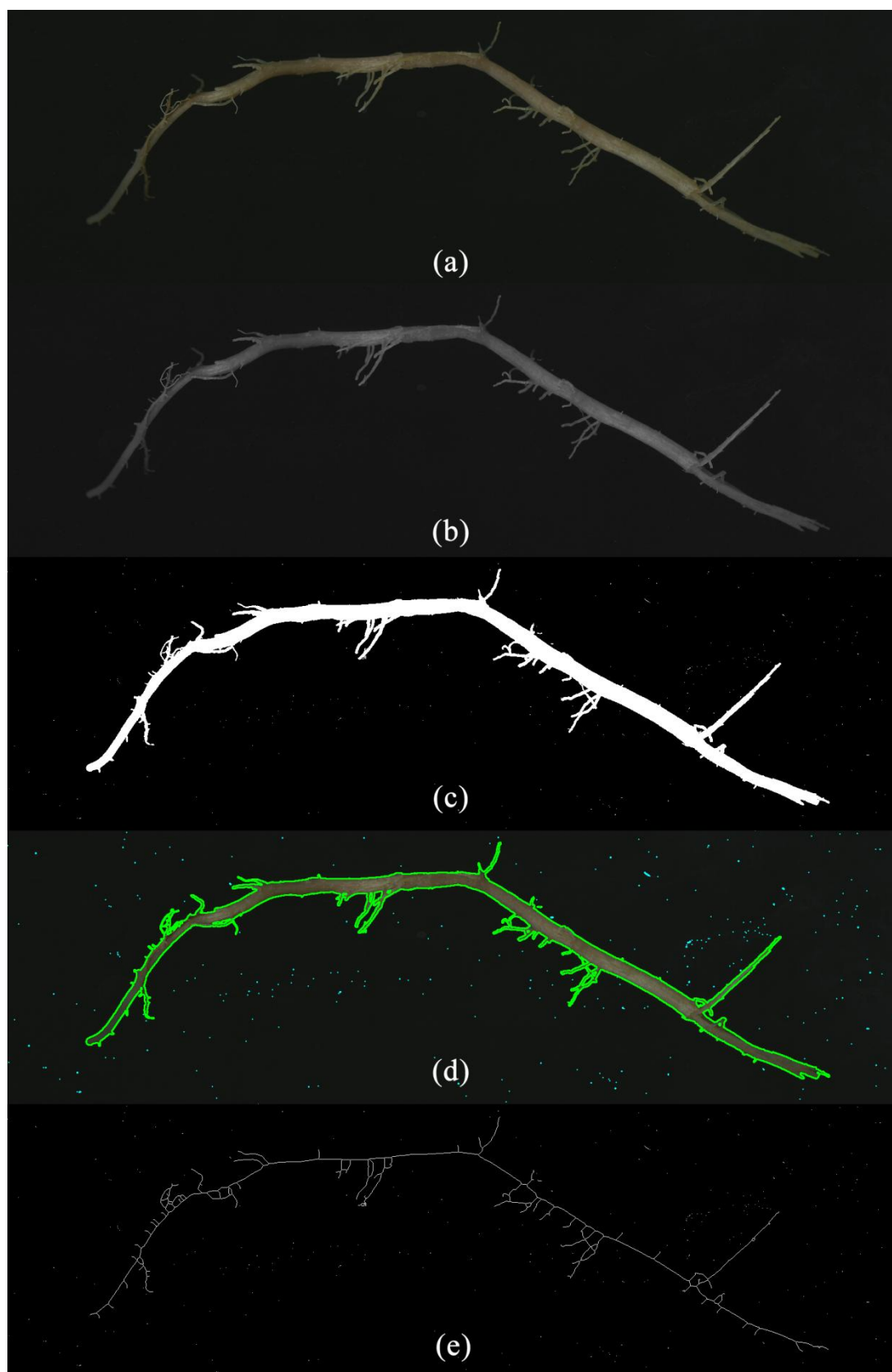
Na Figura 15 é demonstrado o funcionamento do método proposto, por meio de um fluxograma. Ao inicializar o algoritmo, seleciona-se a imagem contendo as raízes para a posterior medição, Figura 16(a). Após a imagem ser carregada, a resolução da imagem, em dpi (*dots per inch* - pontos por polegada) é extraída para futura utilização. A resolução da imagem é obtida utilizando os metadados da imagem. Quando não é possível extrair a resolução da imagem, é solicitado ao usuário que informe a resolução da imagem (NAME et al., 2014). A resolução da imagem é essencial para a medição, porque permite relacionar as unidades virtuais da imagem (pixel) com as unidades reais (milímetro, centímetro, metro etc.).

Figura 15. Fluxograma das etapas presentes no método proposto.



(FONTE: AUTOR, 2016)

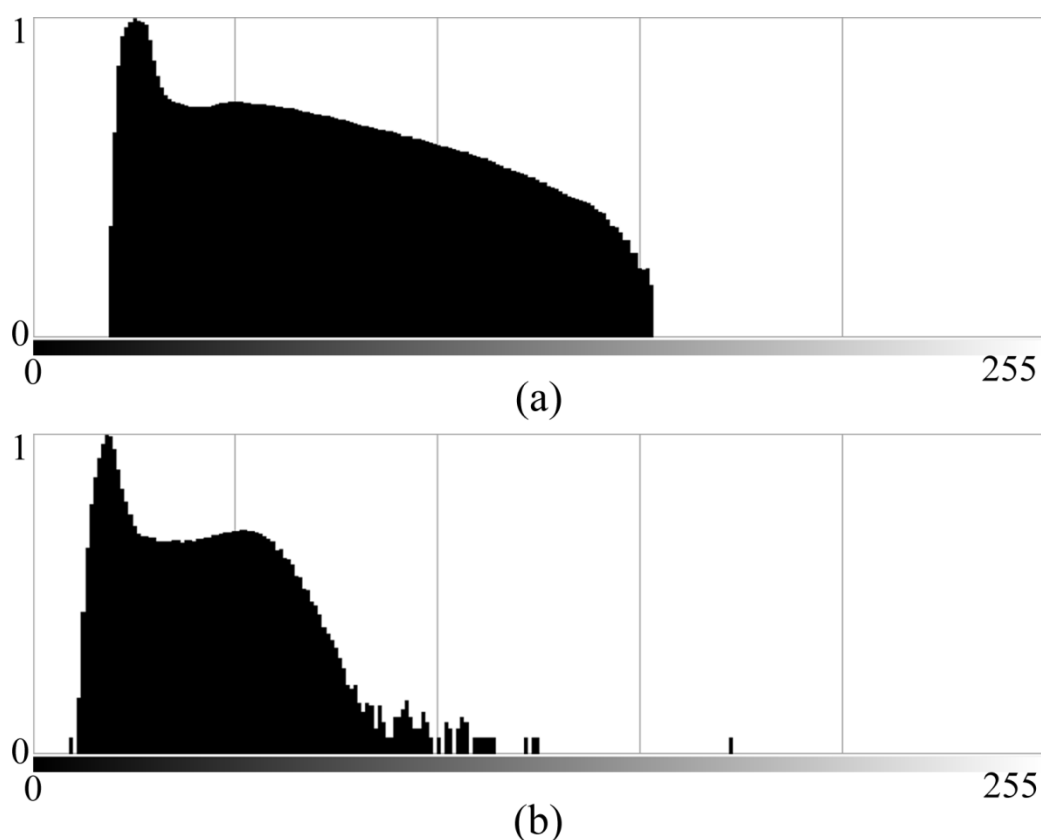
Figura 16. Imagens resultantes das etapas do método proposto.



(FONTE: AUTOR, 2016)

Em seguida, a imagem é convertida para cinza, Figura 16(b), e segmentada utilizando um valor de limiar definido pelo usuário, Figura 16(c). O limiar foi definido com base na integridade dos objetos e com base nos histogramas das imagens, Figura 17 (a,b). Para a identificação do fundo, assume-se que a quantidade de pixels do fundo é superior a quantidade de pixels dos objetos. Caso a quantidade de pixels pretos seja superior a quantidade de pixels brancos, as cores da imagem binária são invertidas. Os pixels pretos passam a ser brancos e os pixels brancos passam a ser pretos. Caso contrário as cores não são alteradas.

Figura 17. Histograma da Imagem de: (a) Fios de náilon e (b) Raízes de milho.



(FONTE: AUTOR, 2016)

Com a imagem em preto e branco, é possível determinar a localização de cada objeto que compõe a imagem por meio dos respectivos contornos. Para a obtenção dos contornos utilizou-se o método `cvFindContours()`, presente na biblioteca OpenCV, que recupera os contornos dos objetos de uma imagem em preto e branco. Mais especificamente, esse método implementa o algoritmo de detecção de contornos proposto por Suzuki e Abe (1985).

Utilizando os contornos é possível definir se um objeto é raiz ou não. Para tanto, é calculado o perímetro do objeto  $P_{px}$  e a área  $A_{px}$  do objeto utilizando o contorno. A biblioteca OpenCV já disponibiliza o cálculo do perímetro e área do objeto. Posteriormente é calculada a circularidade do objeto utilizando a Equação 24. A circularidade é um valor adimensional, variando de zero a um, que determina o quão circular o objeto é. Quanto mais próxima de um, maior é a circularidade do objeto (DI RUBERTO e DEMPSTER, 2000). Caso a circularidade do objeto seja inferior a 0,45 o objeto é considerado como raiz, Figura 16(d). Esse valor foi estabelecido com base em experimentos exaustivos. Logo em seguida, os contornos de raízes obtidos são armazenados em uma lista para facilitar os processos subsequentes.

$$Circularidade = \frac{4\pi A_{px}}{P_{px}^2} \quad (24)$$

Posteriormente, a imagem binária é afinada, Figura 16(e), utilizando o algoritmo desenvolvido com base nos algoritmos de afinamento propostos por Kwon, Gi e Kang (2001), e Kwon (2013). O algoritmo desenvolvido (Figura 18) somente realiza o afinamento em imagens binárias, ou seja, imagens em preto e branco. Ele é composto por duas iterações, sendo que a primeira delas é subdividida em duas subiterações.

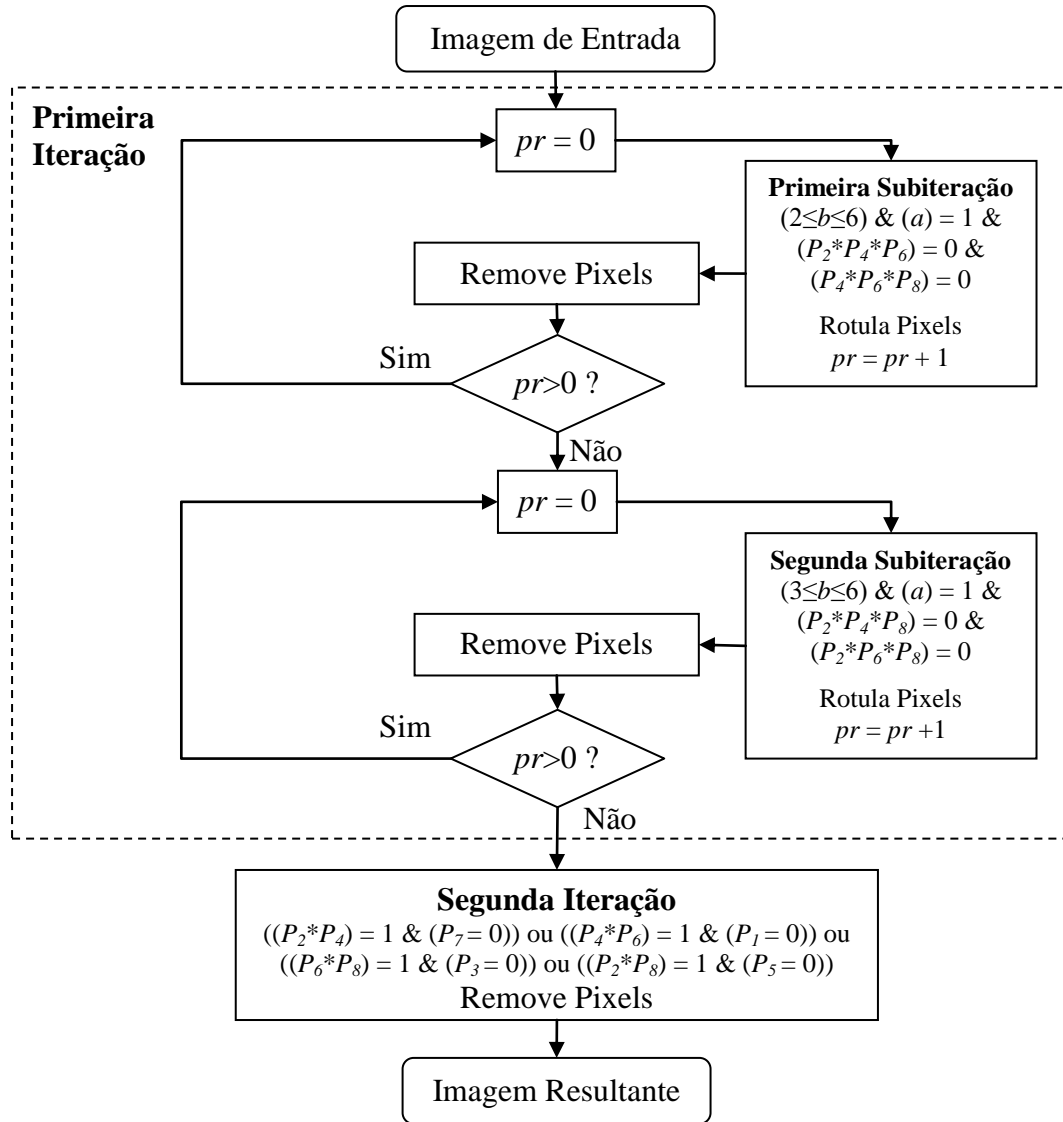
A primeira subiteração é responsável pela rotulação dos pixels que serão removidos de acordo com algumas condições. Os pixels removidos são denotados por  $pr$ . Para verificação se as condições são satisfeitas é considerada a 8-vizinhança da Figura 19, com pixel central  $P_i$ . O pixel  $P_i$  é o pixel da imagem que será removido caso satisfaça as condições pré-estabelecidas, ou seja, ele é o pixel candidato a remoção.

O pixel  $P_i$  somente será rotulado caso possua de dois a seis pixels brancos  $b$  como vizinhos, e houver apenas uma transição entre pixel preto e branco  $a$  na 8-vizinhança. Além disso, o produto entre os valores dos pixels  $P_2$ ,  $P_4$  e  $P_6$  deve ser igual à zero, e o produto entre os valores dos pixels  $P_4$ ,  $P_6$  e  $P_8$  deve ser igual à zero. Os pixels previamente rotulados são removidos sendo pintados da cor do fundo.

Durante a segunda subiteração, também são rotulados os pixels que satisfaçam algumas condições para uma futura remoção. O pixel  $P_i$  somente será rotulado caso possua de três a seis pixels brancos  $b$  como vizinhos, e houver apenas uma transição entre pixel preto e branco  $a$  na 8-vizinhança. Além disso, o produto entre os valores dos pixels  $P_2$ ,  $P_4$  e  $P_8$  deve ser igual à zero, e o produto entre os valores dos pixels  $P_2$ ,  $P_6$  e

$P_8$  deve ser igual à zero. Os pixels previamente rotulados são removidos sendo pintados da cor do fundo.

Figura 18. Algoritmo de afinamento desenvolvido.



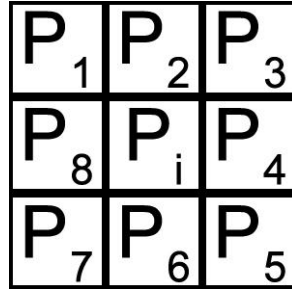
(FONTE: AUTOR, 2016)

Durante a segunda iteração, são removidos os pixels que satisfizerem algumas condições relativas a 8-vizinhança e aos respectivos valores (Figura 19). O pixel  $P_1$  será removido caso satisfaça pelo menos uma das seguintes condições: se o produto entre os pixels  $P_2$  e  $P_4$  for igual à um, e o pixel  $P_7$  for igual à zero; se o produto entre os pixels  $P_4$  e  $P_6$  for igual à um, e o pixel  $P_1$  for igual à zero; se o produto entre os pixels  $P_6$  e  $P_8$  for igual à um, e o pixel  $P_3$  for igual à zero; se o produto entre os pixels  $P_2$  e  $P_8$  for igual à um, e o pixel  $P_5$  for igual à zero.



O procedimento de rotulação e de remoção dos pixels é repetido até que número de pixels removidos ( $pr$ ) seja igual a zero. Ao final do processo de afinamento é obtido o esqueleto da raiz com apenas um pixel de espessura.

Figura 19. 8-vizinhança adotada para o processo de afinamento.



(FONTE: AUTOR, 2016)

Por meio dos esqueletos obtidos, são calculados o comprimento e o diâmetro das raízes. O cálculo do comprimento total é realizado utilizando o somatório das distâncias euclidianas (Equação 25) entre os  $ne$  pares de pixels vizinhos,  $p$  e  $q$ . Caso exista somente um pixel no esqueleto a distância é definida como um pixel.

$$C_{px} = \sum_{i=1}^{ne} D_e(p, q) \quad (25)$$

Após esse processo, o valor de comprimento em pixels é convertido para milímetros, utilizando a informação de resolução anteriormente extraída, e a Equação 26, na qual  $C_{mm}$  corresponde ao comprimento em milímetros e  $C_{px}$  corresponde ao comprimento em pixels.

$$C_{mm} = \frac{25,4}{dpi} \times C_{px} \quad (26)$$

Antes de calcular o diâmetro médio radicular, as regiões com ramificações das raízes são identificadas. Pixels pertencentes ao esqueleto e que possuem mais de 2 vizinhos conexos são considerados como parte integrante de regiões de ramificação. Considerando que o esqueleto da raiz é o eixo médio, pode-se obter o diâmetro da raiz por meio de uma abordagem geométrica, Figura 20.

Considerando um par de pixels vizinhos  $p$  e  $q$  pertencentes ao esqueleto, e considerando ainda que ambos definem uma reta  $r$ , ao rotacionar a reta  $r$  em  $90^\circ$  obtém-se uma reta  $s$ , perpendicular a  $r$ . Ao calcular a distância euclidiana entre o pixel  $p$  e o



metros de comprimento. As informações contidas na Tabela 3 foram utilizadas para a definição do intervalo de validação para a estimativa do comprimento.

Apesar da ampla utilização do método de Tennant (1975) para a estimativa do comprimento radicular, poucas pesquisas foram realizadas para comprovar a acurácia desse método. Fatores como a disposição da amostra sobre a malha e os diferentes indivíduos que aplicam esse método podem prejudicar a acurácia. Como consequência desses fatores já foram reportados coeficientes de variação de 5,6 % a 15,9% em relação aos comprimentos radiculares esperados (BLAND e MESARCH, 1990).

Devido ao fato anteriormente exposto, foram realizados trinta testes para a estimativa do comprimento utilizando o método de Tennant (1975). Uma malha de 1 cm por 1cm foi colocada sobre o vidro de um retroprojektor Visograf VG 2250. Em seguida, os segmentos dos fios de cada amostra foram aleatoriamente dispostos sobre a malha de modo que não houvesse sobreposição entre eles. As intersecções entre os segmentos e a malha foram contados utilizando um contador manual Veeder-Root de quatro dígitos. Quando não era possível colocar toda a amostra sobre o vidro do retroprojektor, a amostra era separada em subamostras para a aplicação do método de Tennant (1975). Os comprimentos estimados por esse método foram posteriormente comparados aos comprimentos medidos com trena, aos estimados com o método proposto e aos estimados com a macro IJ\_Rhizo.

A validação do método proposto quanto à estimativa do diâmetro médio foi realizada comparando os diâmetros estimados pelo método proposto com os diâmetros estimados utilizando o método tradicional. Posteriormente o método proposto também foi comparado com a macro IJ\_Rhizo. Para tanto, foram utilizadas cinquenta amostras de fios de náilon:

- 1) Trinta amostras eram compostas por fios de náilon de 0,35 mm de diâmetro, com um a trinta metros de comprimento, variando de um em um metro;
- 2) As vinte amostras restantes de fios de náilon são apresentadas na Tabela 4. São apresentados o comprimento total, os diâmetros nominais e o diâmetro médio de cada amostra. O diâmetro médio descreve a média dos diâmetros nominais de cada amostra. Das vinte amostras:
  - a) Quatro amostras eram compostas por fios de náilon de 0,25 mm de diâmetro, com um a quatro metros de comprimento, variando de um em um metro:
    - i) Uma amostra era composta por fios de náilon de 0,25 mm de diâmetro e um metro de comprimento;

- ii) Uma amostra era composta por fios de náilon de 0,25 mm de diâmetro e dois metros de comprimento;
  - iii) Uma amostra era composta por fios de náilon de 0,25 mm de diâmetro e três metros de comprimento;
  - iv) Uma amostra era composta por fios de náilon de 0,25 mm de diâmetro e quatro metros de comprimento.
- b) Quatro amostras eram compostas por fios de náilon de 0,30 mm de diâmetro, com um a quatro metros de comprimento, variando de um em um metro:
- i) Uma amostra era composta por fios de náilon de 0,30 mm de diâmetro e um metro de comprimento;
  - ii) Uma amostra era composta por fios de náilon de 0,30 mm de diâmetro e dois metros de comprimento;
  - iii) Uma amostra era composta por fios de náilon de 0,30 mm de diâmetro e três metros de comprimento;
  - iv) Uma amostra era composta por fios de náilon de 0,30 mm de diâmetro e quatro metros de comprimento.
- c) Uma amostra era composta por fios de náilon de 0,90 mm de diâmetro com comprimento total de um metro;
- d) Seis amostras eram compostas por um metro de fio de náilon de cada um dos dois diâmetros nominais diferentes:
- i) Uma amostra era composta por um metro de comprimento de fios de náilon com diâmetro de 0,25 mm e um metro de comprimento de fios de náilon com diâmetro de 0,30 mm;
  - ii) Uma amostra era composta por um metro de comprimento de fios de náilon com diâmetro de 0,25 mm e um metro de comprimento de fios de náilon com diâmetro de 0,35 mm;
  - iii) Uma amostra era composta por um metro de comprimento de fios de náilon com diâmetro de 0,25 mm e um metro de comprimento de fios de náilon com diâmetro de 0,90 mm;
  - iv) Uma amostra era composta por um metro de comprimento de fios de náilon com diâmetro de 0,30 mm e um metro de comprimento de fios de náilon com diâmetro de 0,35 mm;

- v) Uma amostra era composta por um metro de comprimento de fios de náilon com diâmetro de 0,30 mm e um metro de comprimento de fios de náilon com diâmetro de 0,90 mm;
  - vi) Uma amostra era composta por um metro de comprimento de fios de náilon com diâmetro de 0,35 mm e um metro de comprimento de fios de náilon com diâmetro de 0,90 mm.
- e) Quatro amostras eram compostas por um metro de fio de náilon de cada um dos três diâmetros nominais diferentes:
- i) Uma amostra era composta por um metro de fio de náilon de cada um dos três diâmetros nominais (0,25 mm; 0,30 mm e 0,35 mm);
  - ii) Uma amostra era composta por um metro de fio de náilon de cada um dos três diâmetros nominais (0,25 mm; 0,30 mm e 0,90 mm);
  - iii) Uma amostra era composta por um metro de fio de náilon de cada um dos três diâmetros nominais (0,25 mm; 0,35 mm e 0,90 mm);
  - iv) Uma amostra era composta por um metro de fio de náilon de cada um dos três diâmetros nominais (0,30 mm; 0,35 mm e 0,90 mm).
- f) A última amostra era composta por um metro de fio de náilon de cada um dos quatro diâmetros (0,25 mm; 0,30 mm; 0,35 mm e 0,90 mm).

A massa dos fios de náilon foi medida utilizando a mesma balança utilizada para a medição da massa das raízes de milho. Antes da medição da massa, a balança foi preaquecida por quatro horas em modo *stand-by* (SHIMADZU, 2007). A massa obtida e o comprimento obtido dos fios pelo método de Tennant (1975) foram aplicados na Equação 11. Ainda, como o náilon era composto por 100% poliamida segundo o fabricante, foi considerada a densidade de  $1,14 \text{ g cm}^{-3}$  para o cálculo do diâmetro médio das amostras (BENADUCCI, 2014).

Antes da aquisição de imagens o vidro do escâner foi limpo com álcool etílico. Os segmentos dos fios de cada amostra foram dispostos sobre o vidro do escâner de forma que não houvesse sobreposição, e que não encostassem nas bordas do vidro do escâner. Posteriormente, as imagens das amostras foram adquiridas em formato .BMP com resolução de 300 e 600 dpi, e tampa do escâner aberta (Figura 21). Quando não era possível colocar toda a amostra no vidro de escâner, a amostra era separada em subamostras para a aquisição das imagens. As imagens adquiridas foram utilizadas para medição do comprimento e diâmetro dos fios de náilon.

Tabela 4. Conjunto de 20 amostras de fios de náilon para a validação do método.

Comprimento (mm)	Diâmetro Nominal 1 (mm)	Diâmetro Nominal 2 (mm)	Diâmetro Nominal 3 (mm)	Diâmetro Nominal 4 (mm)	Diâmetro Médio (mm)
1000	0,2500	-	-	-	0,2500
2000	0,2500	-	-	-	0,2500
3000	0,2500	-	-	-	0,2500
4000	0,2500	-	-	-	0,2500
1000	0,3000	-	-	-	0,3000
2000	0,3000	-	-	-	0,3000
3000	0,3000	-	-	-	0,3000
4000	0,3000	-	-	-	0,3000
1000	0,9000	-	-	-	0,9000
2000	0,2500	0,3000	-	-	0,2750
2000	0,2500	0,3500	-	-	0,3000
2000	0,2500	0,9000	-	-	0,5750
2000	0,3000	0,3500	-	-	0,3250
2000	0,3000	0,9000	-	-	0,6000
2000	0,3500	0,9000	-	-	0,6250
3000	0,2500	0,3000	0,3500	-	0,3000
3000	0,2500	0,3000	0,9000	-	0,4833
3000	0,2500	0,3500	0,9000	-	0,5000
3000	0,3000	0,3500	0,9000	-	0,5167
4000	0,2500	0,3000	0,3500	0,9000	0,4500

(FONTE: AUTOR, 2016)

### 3.3.2 Raízes de Milho

Após validado o método proposto, pela comparação das estimativas de comprimento e de diâmetro médio com os métodos tradicionais, o método foi testado utilizando 61 imagens de amostras de raízes de milho com 300 dpi, seguindo os procedimentos descritos na seção 3.2. O método proposto foi comparado com o método tradicional para a obtenção do comprimento (TENNANT, 1975) e do diâmetro radicular (SCHENK e BARBER, 1979), para todas as amostras conservadas em recipiente plástico com álcool 70%. O método proposto também foi comparado a macro IJ\_Rhizo (PIERRET et al., 2013).

### 3.3.3 Análise Estatística

As medidas de comprimento de fios de náilon foram comparadas as estimativas pelo método de Tennant (1975), pela macro IJ\_Rhizo e pelo método proposto utilizando o coeficiente de variação (CV) e o erro relativo percentual (ERP). O mesmo procedimento foi adotado para comparar os diâmetros nominais de fios de náilon com os diâmetros médios estimados pelos métodos. Primeiramente, foram calculadas as médias entre os valores medidos e os estimados utilizando a Equação 28.

Em seguida, foram calculados os desvios padrão para os mesmos pares de valores por meio da Equação 29. Assim como o desvio padrão, o coeficiente de variação mede o grau de variabilidade ou dispersão entre os dados, e pode ser calculado pela razão entre o desvio padrão DP e a média  $\bar{X}$ , Equação 30 (CORREA, 2003).

$$\bar{X} = \frac{Valor_{Medido} + Valor_{Estimado}}{2} \quad (28)$$

$$DP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (29)$$

$$CV = \frac{DP}{\bar{X}} \quad (30)$$

Para expressar o coeficiente de variação em termos percentuais basta multiplicar a Equação 30 por 100.

$$CV = \frac{DP}{\bar{X}} \times 100 \quad (31)$$

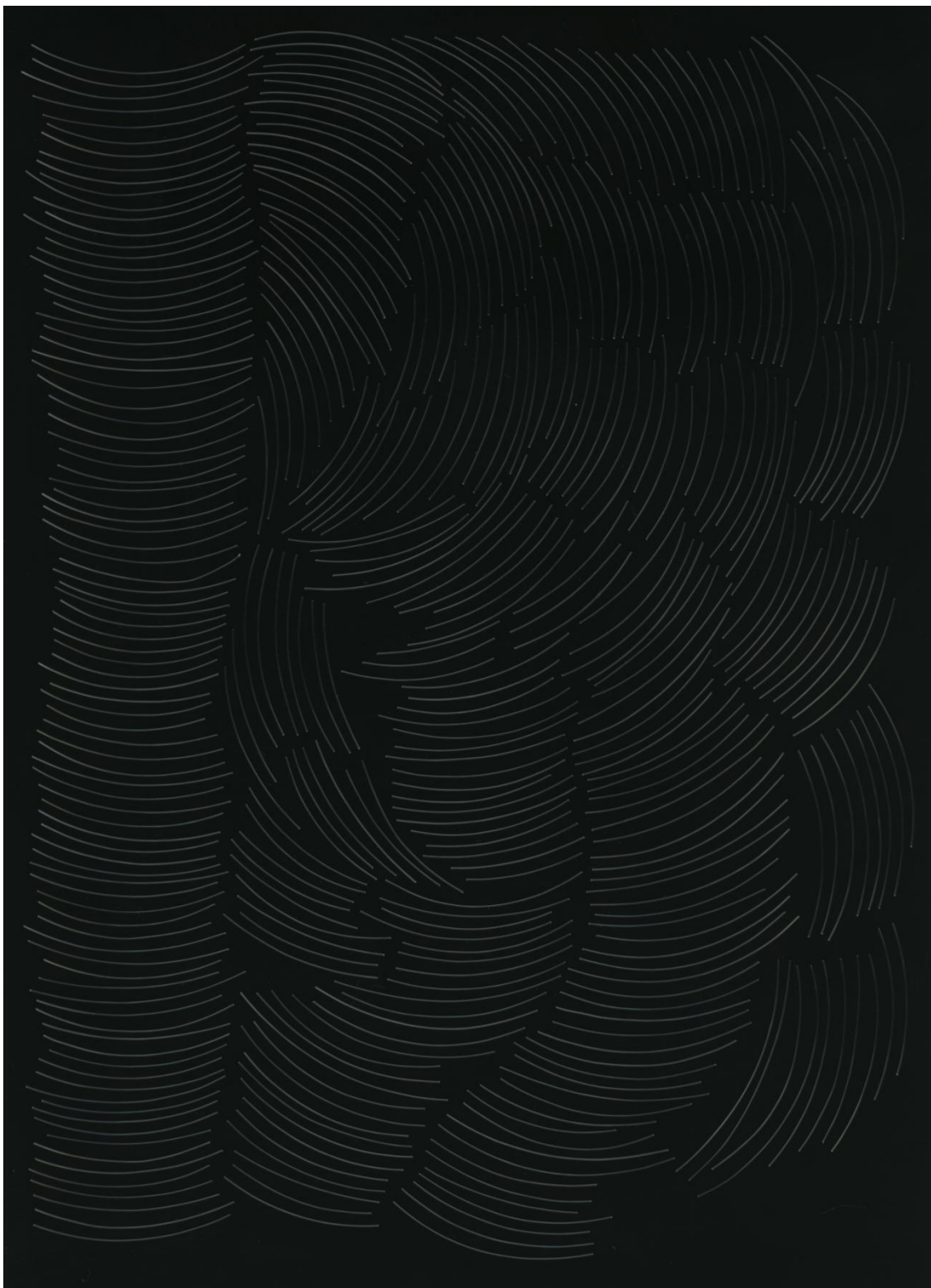
Posteriormente, foram calculados os erros relativos percentuais entre os valores medidos e os estimados utilizando a Equação 32.

$$ERP = \frac{(Valor_{Estimado} - Valor_{Medido}) \times 100}{Valor_{Medido}} \quad (32)$$

Após o cálculo dos coeficientes de variação e dos erros relativos percentuais foram aplicados testes estatísticos. Primeiramente, foi aplicado o teste estatístico de Shapiro-Wilk para identificar se cada conjunto de medidas, ou estimativas, estava normalmente distribuído com nível de significância de 0,05 (5%). Caso o *p-value* fornecido pelo teste fosse inferior ao nível de significância, o conjunto não seria considerado com distribuição normal. Caso contrário, o conjunto seria considerado com distribuição normal. O teste de Shapiro-Wilk foi aplicado como critério de escolha do teste estatístico, que seria utilizado para comparar a acurácia dos valores medidos com os valores estimados pelos métodos. Para os conjuntos com distribuição normal, foi aplicado o teste estatístico t bicaudal de Student para duas amostras pareadas com nível de significância igual a 0,001. Para os conjuntos com distribuição não considerada normal, foi aplicado o teste de Wilcoxon para duas amostras pareadas com nível de significância igual a 0,001 (LARSON e FARBER, 2010).



Figura 21. Imagem de fios de náilon com tampa do escâner aberta.



(FONTE: AUTOR, 2016)

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos foram separados de acordo com o parâmetro radicular analisado. Primeiramente são expostos os resultados referentes ao comprimento radicular total. Em seguida são expostos os resultados referentes ao diâmetro médio de raízes.

### 4.1 MEDIÇÃO DO COMPRIMENTO

Para a avaliação da acurácia dos comprimentos foram realizados dois tipos principais de teste. Primeiramente o método proposto foi avaliado utilizando amostras de fios de náilon com comprimento conhecido. Posteriormente, ele foi comparado ao método de Tennant (1975) e a macro IJ\_Rhizo proposta por Pierret et al. (2013).

Para o segundo teste, o método proposto foi avaliado utilizando amostras de raízes de milho. Posteriormente, ele foi comparado ao método de Tennant (1975) e a macro IJ\_Rhizo.

#### 4.1.1 Teste e Validação com Fios de Náilon

A Tabela 5 apresenta as medidas de comprimento no intervalo de 1000 a 30000 mm obtidas por meio de trena, e estimados pelo método de Tennant (1975), pela macro IJ\_Rhizo (PIERRET et al., 2013) e pelo método proposto para amostras de fios de náilon com 0,35 mm de diâmetro. Quanto mais próximo for o valor do comprimento medido do valor de comprimento estimado, maior será a acurácia do método utilizado para estimar o comprimento, tornando-o o mais adequado para a estimativa do comprimento radicular total. São apresentados os respectivos coeficientes de variação (CV), erros relativos percentuais (ERP), e desvios padrões (DP) obtidos para cada medida. Os coeficientes de variação, os erros relativos percentuais, e os desvios padrões foram calculados relacionando os comprimentos medidos com trena aos comprimentos estimados por meio dos demais métodos testados. Também são apresentadas médias dos respectivos coeficientes de variação, dos respectivos erros relativos percentuais, e dos respectivos desvios padrões obtidos para cada medida. A Tabela 5 somente apresenta os resultados para a resolução de 300 dpi, estimados pelos métodos computacionais, com limiarização manual utilizando limiar de 35.

Tabela 5. Comprimentos medidos e estimados com o método de Tennant (1975), a macro IJ\_Rhizo, e com o método proposto, no intervalo de 1000 a 30000 mm.

CV: coeficiente de variação; ERP: erro relativo percentual; DP: desvio padrão.

(continua)															
Comprimento		CV	ERP	DP	Comprimento		CV	ERP	DP	Comprimento		CV	ERP	DP	
(mm)		(%)	(%)	(mm)	(mm)		(%)	(%)	(mm)	(mm)		(%)	(%)	(mm)	
Medido	Tennant				IJ_Rhizo				Proposto						
1000	990,00	0,71	-1,00	7,07	2137,92	51,28	113,79	804,63	1055,15	3,80	5,52	39,00			
2000	1807,14	7,16	-9,64	136,37	3291,71	34,52	64,59	913,38	2055,88	1,95	2,79	39,51			
3000	2867,86	3,18	-4,40	93,44	4449,81	27,52	48,33	1025,17	3129,07	2,98	4,30	91,27			
4000	3512,14	9,18	-12,20	344,97	5530,10	22,71	38,25	1081,95	4101,70	1,78	2,54	71,92			
5000	4195,71	12,37	-16,09	568,72	7340,32	26,82	46,81	1654,85	4786,10	3,09	-4,28	151,25			
6000	5507,86	6,05	-8,20	348,00	8659,50	25,66	44,33	1880,55	5994,07	0,07	-0,10	4,20			
7000	6427,14	6,03	-8,18	405,07	10017,71	25,08	43,11	2133,84	7197,52	1,97	2,82	139,67			
8000	7684,29	2,85	-3,95	223,24	11139,96	23,20	39,25	2220,29	8309,74	2,69	3,87	219,02			
9000	8273,57	5,95	-8,07	513,66	12081,67	20,67	34,24	2179,07	9115,63	0,90	1,28	81,77			
10000	9538,57	3,34	-4,61	326,28	12889,29	17,85	28,89	2043,04	9836,72	1,16	-1,63	115,46			
11000	9758,57	8,46	-11,29	877,82	14057,68	17,26	27,80	2162,10	10912,91	0,56	-0,79	61,58			
12000	11212,14	4,80	-6,57	557,10	15466,57	17,85	28,89	2451,23	12182,23	1,07	1,52	128,85			
13000	11895,71	6,27	-8,49	780,85	16803,52	18,05	29,26	2689,49	13442,08	2,36	3,40	312,60			
14000	13388,57	3,16	-4,37	432,35	17766,10	16,77	26,90	2663,03	14315,75	1,58	2,26	223,27			
15000	14496,43	2,41	-3,36	356,08	19083,14	16,94	27,22	2887,22	15500,76	2,32	3,34	354,09			

Tabela 5. Comprimentos medidos e estimados com o método de Tennant (1975), a macro IJ\_Rhizo, e com o método proposto, no intervalo de 1000 a 30000 mm.

CV: coeficiente de variação; ERP: erro relativo percentual; DP: desvio padrão.

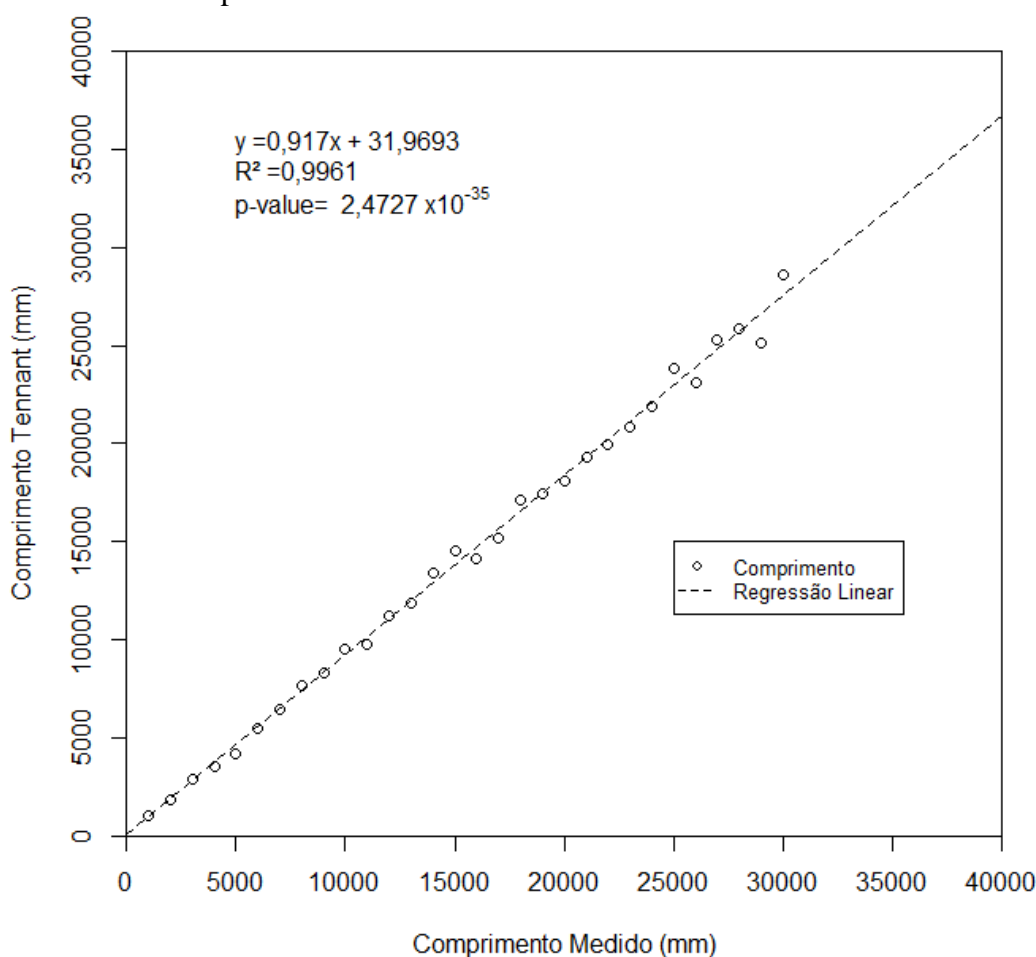
(conclusão)															
Comprimento		CV	ERP	DP	Comprimento		CV	ERP	DP	Comprimento		CV	ERP	DP	
(mm)		(%)	(%)	(mm)	(mm)		(%)	(%)	(mm)	(mm)		(%)	(%)	(mm)	
Medido	Tennant				IJ_Rhizo				Proposto						
16000	14142,86	8,71	-11,61	1313,20	19515,52	14,00	21,97	2485,85	15848,83	0,67	-0,94	106,90			
17000	15156,43	8,11	-10,84	1303,60	21351,05	16,04	25,59	3076,66	17437,56	1,80	2,57	309,40			
18000	17097,14	3,64	-5,02	638,42	23445,28	18,58	30,25	3850,40	18516,78	2,00	2,87	365,42			
19000	17482,14	5,88	-7,99	1073,29	23649,93	15,42	24,47	3288,00	19580,25	2,13	3,05	410,30			
20000	18079,29	7,13	-9,60	1358,15	24333,75	13,82	21,67	3064,43	20225,04	0,79	1,13	159,13			
21000	19297,14	5,98	-8,11	1204,10	26551,51	16,51	26,44	3925,51	21392,91	1,31	1,87	277,83			
22000	19933,57	6,97	-9,39	1461,19	25982,76	11,74	18,10	2816,24	21824,16	0,57	-0,80	124,34			
23000	20829,29	7,00	-9,44	1534,93	26799,87	10,79	16,52	2686,91	22611,55	1,20	-1,69	274,68			
24000	21866,43	6,58	-8,89	1508,66	28396,41	11,87	18,32	3108,73	23984,51	0,05	-0,06	10,95			
25000	23815,00	3,43	-4,74	837,92	29849,84	12,50	19,40	3429,35	25357,41	1,00	1,43	252,73			
26000	23147,14	8,21	-10,97	2017,27	30257,23	10,70	16,37	3010,32	25726,61	0,75	-1,05	193,32			
27000	25331,43	4,51	-6,18	1179,86	30511,20	8,63	13,00	2482,79	26049,16	2,53	-3,52	672,34			
28000	25889,29	5,54	-7,54	1492,50	33062,68	11,73	18,08	3579,85	28278,90	0,70	1,00	197,21			
29000	25150,71	10,05	-13,27	2721,86	32282,28	7,57	11,32	2320,92	27712,29	3,21	-4,44	910,55			
30000	28576,43	3,44	-4,75	1006,62	34807,99	10,49	16,03	3399,76	29851,95	0,35	-0,49	104,69			
Média	-	5,90	-7,96	887,42	-	18,42	31,31	2510,52	-	1,58	0,93	213,44			

FONTE: AUTOR, 2016)

#### 4.1.1.1 Método de Tennant

Após aplicar uma regressão linear entre os comprimentos medidos e os estimados pelo método de Tennant (1975), foi obtido um coeficiente de determinação forte de 0,9961 (Figura 22), inferior ao reportado por Tennant (1975) de 0,9996. No entanto ele somente utilizou linhas de algodão de 200 mm a 4000 mm de comprimento para a validação do método. Na Figura 22 é possível observar que a equação da reta obtida possui um coeficiente angular próximo de um e um coeficiente linear próximo de zero, demonstrando que o comprimento medido e o comprimento estimado também possuem uma relação linear muito forte. Entretanto, isso não garante que o método de Tennant (1975) tenha uma boa acurácia.

Figura 22. Relação obtida entre os comprimentos medidos e os estimados por meio do método de Tennant para as amostras de fios de náilon.



(FONTE: AUTOR, 2016)

Comparando os valores de comprimento medidos com trena e os estimados pelo método de Tennant (1975), para as amostras de fios de náilon, foram obtidos coeficientes de variação de 0,71% a 12,37% sendo que a média dos coeficientes de variação foi de 5,90%. A maioria dos coeficientes de variação (63,33%) ultrapassaram o valor máximo aceitável de 5%, mesmo com disposição aleatória dos fios e ausência de sobreposições (SMIT et al., 2000). Os erros relativos percentuais variaram de -16,09% a -1%, sendo que o erro relativo percentual médio foi de -7,95%. Por meio dos sinais dos erros relativos percentuais presentes na Tabela 5, é possível observar que o método de Tennant (1975) subestimou os comprimentos de todas as amostras de fios de náilon no intervalo de 1000 a 30000 mm. O coeficiente angular da reta inferior a um (Figura 22) também indica que os comprimentos foram subestimados pelo método de Tennant (1975). Os desvios padrões variaram de 7,07 mm a 2721,86 mm, sendo que o desvio padrão médio foi de 887,42 mm. O menor desvio padrão de 7,07 mm foi obtido para a amostra de fios de náilon com 1000 mm de comprimento, e o maior desvio padrão de 2721,86 mm foi obtido para a amostra de 29000 mm de comprimento. Isso pode indicar que conforme o comprimento da amostra aumenta, o desvio padrão das estimativas de comprimento fornecidas pelo método de Tennant (1975) também aumenta.

Aplicando o teste-t sobre os comprimentos da Tabela 5 com nível de significância 0,001, foi obtido um *p-value* de  $1,52 \times 10^{-8}$ . Esse fato indica que o método de Tennant (1975), para as amostras de fios de náilon, apresentou comprimentos discrepantes em relação aos comprimentos medidos. Ainda é possível observar que apesar dos comprimentos estimados e os comprimentos medidos terem obtido uma relação linear forte, isso não garantiu que os comprimentos estimados possuíssem uma boa acurácia.

A disposição dos fios de náilon sobre a malha pode ter influenciado na acurácia dos comprimentos estimados pelo método de Tennant (1975). Como somente um indivíduo aplicou o método para todas as amostras, tanto de fios de náilon quanto de raízes, a acurácia do método não foi influenciada pela subjetividade de indivíduos distintos (BLAND e MESARCH, 1990).

Como exposto anteriormente, apesar da ampla utilização do método de Tennant (1975) para a estimativa do comprimento radicular, poucas pesquisas foram realizadas para comprovar a acurácia desse método. Diversas pesquisas assumiram que o método de Tennant (1975) tem acurácia suficiente para representar o valor real do comprimento radicular (BLAND e MESARCH, 1990; KASPAR e EWING, 1997; BAUHUS e

MESSIER, 1999; KIMURA, KIKUCHI e YAMASAKI, 1999; BHADORIA et al., 2004; NAME, 2013). Algumas pesquisas utilizaram os comprimentos estimados por esse método para validar ou invalidar outros métodos para a estimativa do comprimento radicular (TANAKA, YAMAUCHI e KONO, 1995; KASPAR e EWING, 1997; BAUHUS e MESSIER, 1999; KIMURA, KIKUCHI e YAMASAKI, 1999; NAME, 2013). No entanto, os resultados previamente expostos demonstraram que o método de Tennant (1975) não possui acurácia suficiente para estimar o comprimento radicular total.

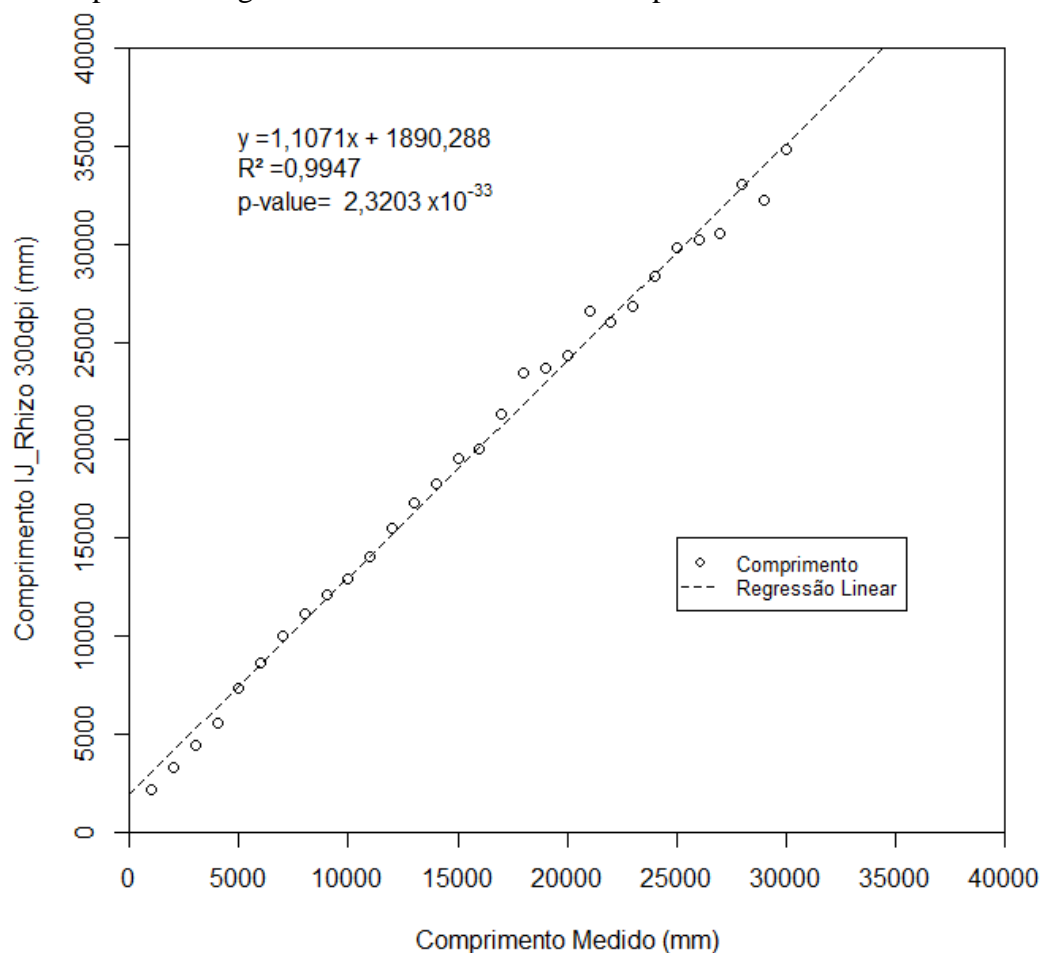
#### 4.1.1.2 IJ\_Rhizo

Antes de inicializar a validação da macro IJ\_Rhizo e do método proposto, o procedimento de medição da macro IJ\_Rhizo foi testado. Para tanto, foram selecionadas imagens de três amostras distintas de fios de náilon. Primeiramente foi utilizado a macro IJ\_Rhizo, com limiar fixo em 35, para estimativa do comprimento total e do diâmetro médio das amostras selecionadas. Em seguida, as imagens previamente selecionadas foram limiarizadas utilizando o método proposto com limiar fixo em 35. As imagens binárias fornecidas pelo método proposto foram utilizadas pela macro IJ\_Rhizo para a estimativa do comprimento total e do diâmetro médio. Ao comparar o resultado da medição da macro IJ\_Rhizo utilizando as imagens originais e as imagens binárias, fornecidas pelo método proposto, não houve diferença entre as medidas. Isso indica que o processo de limiarização utilizado pela macro IJ\_Rhizo e pelo método proposto foi o mesmo. Esse fato permite comparar diretamente as estimativas de ambos os métodos.

Após realizar uma regressão linear entre os valores de comprimento medidos e os estimados pela macro, foi obtido um coeficiente de determinação forte de 0,9947 (Figura 23). Ao estabelecer uma relação linear, entre os comprimentos estimados de linhas desenhadas pela macro IJ\_Rhizo e pelo sistema WinRhizo, Pierret et al. (2013) obtiveram um coeficiente de determinação superior de 0,998. No entanto, Pierret et al. (2013) não compararam os comprimentos estimados pela macro IJ\_Rhizo com valores reais de comprimento das linhas desenhadas, não esclarecendo a real acurácia da macro. Além disso, como Pierret et al. (2013) utilizaram imagens de linhas desenhadas com tinta preta e fundo branco na tentativa de validar a macro IJ\_Rhizo, o processo de segmentação pode ter sido privilegiado sem retratar uma situação real.

Aplicando o teste-t sobre os comprimentos medidos e os estimados por meio da macro IJ\_Rhizo, da Tabela 5, com nível de significância 0,001, foi obtido um *p-value* de  $3,09 \times 10^{-16}$ . Esse fato indica que a macro IJ\_Rhizo, para as amostras de fios de náilon, apresentou comprimentos significativamente discrepantes em relação aos comprimentos medidos com trena.

Figura 23. Relação obtida entre os comprimentos medidos e os estimados pela macro IJ\_Rhizo para as imagens de fios de náilon com 300dpi.



(FONTE: AUTOR, 2016)

Comparando os valores de comprimento medidos com trena aos estimados pela macro IJ\_Rhizo, para as amostras de fios de náilon, foram obtidos coeficientes de variação de 7,57% a 51,28% sendo que a média dos coeficientes de variação foi de 18,42%. Todos os coeficientes de variação ultrapassaram o valor máximo aceitável de 5% (SMIT et al., 2000). O menor coeficiente de variação de 7,57% foi obtido para a amostra de fios de náilon com 29000 mm de comprimento, e o maior coeficiente de variação de 51,28% foi obtido para a amostra de 1000 mm de comprimento. Isso pode



indicar que conforme o comprimento da amostra aumenta, o coeficiente de variação das estimativas de comprimento fornecidas pelo macro IJ\_Rhizo diminui. Enquanto o método de Tennant (1975) subestimou os comprimentos, a macro IJ\_Rhizo apresentou o comportamento oposto. Por meio dos erros relativos percentuais presentes na Tabela 5, é possível observar que a macro superestimou consideravelmente os comprimentos de todas as amostras de fios de náilon no intervalo de 1000 a 30000 mm. O coeficiente angular superior a um, obtido por meio da regressão linear (Figura 23), também demonstra a superestimativa do comprimento pela macro. Os erros relativos percentuais variaram de 11,32% a 113,79%, sendo que o erro relativo percentual médio foi de 31,31%. Os desvios padrões variaram de 804,63 mm a 3925,51 mm, sendo que o desvio padrão médio foi de 2510,52 mm.

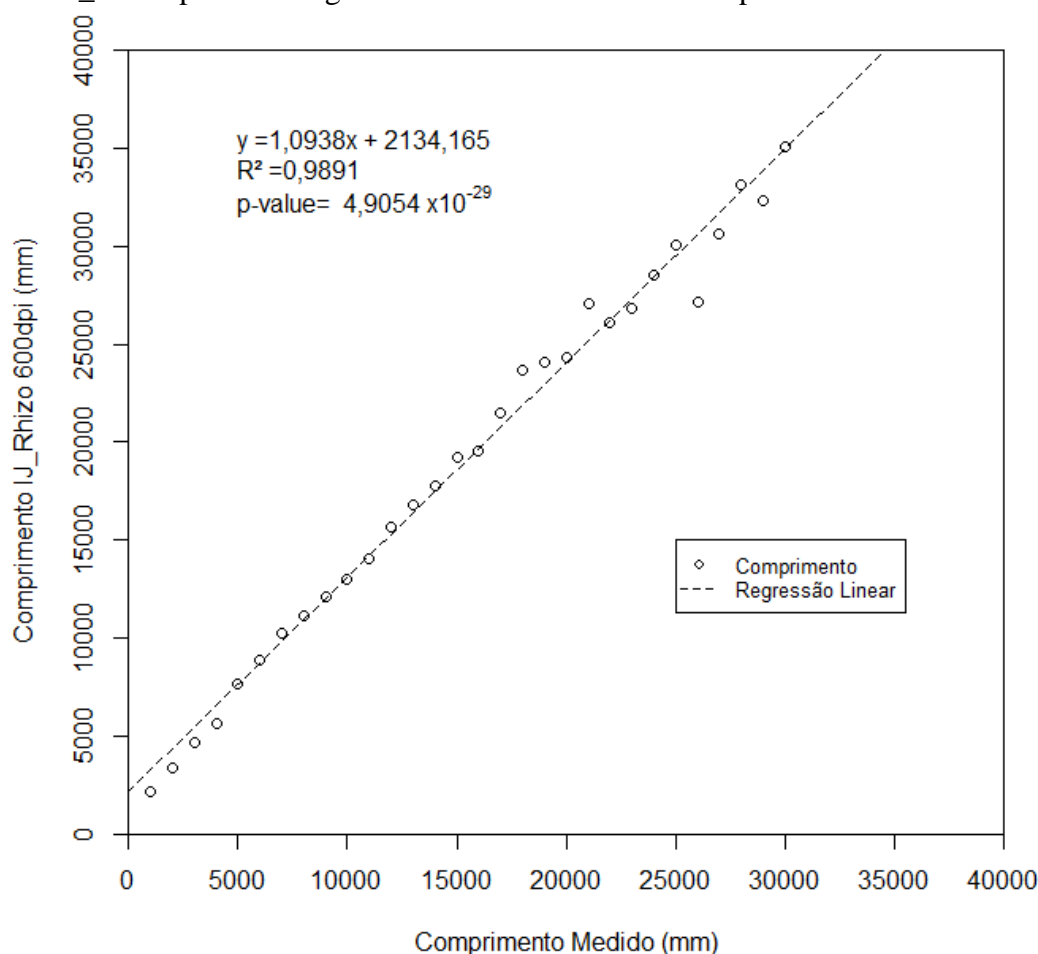
Uma das possíveis fontes de erro da macro IJ\_Rhizo é a utilização do JPEG como padrão de imagem. Antes de realizar qualquer operação, a macro converteu as imagens originalmente em formato BMP para o JPEG. Essa conversão pode acarretar a perda de dados das imagens originais, prejudicando o processo de medição. Ainda, a conversão pode intensificar o aparecimento de ruídos na imagem dificultando a identificação e a medição dos fios de náilon (MARQUES FILHO e VIEIRA NETO, 1999). O baixo contraste entre o fundo e os fios de náilon, e problemas resultantes da iluminação durante a aquisição de imagens também podem ter afetado a acurácia do método (PIERRET et al., 2013).

Durante a validação, Pierret et al. (2013) somente reportaram as implicações da resolução quanto ao tempo de estimativa do comprimento e do diâmetro médio por meio da macro IJ\_Rhizo. Ambos, a resolução e o tempo de estimativa possuem uma relação diretamente linear. Conforme a resolução da imagem aumenta, o tempo de estimativa do comprimento e diâmetro médio também aumenta (PIERRET et al., 2013). No entanto, Pierret et al. (2013) não analisaram as implicações da resolução da imagem na acurácia da macro IJ\_Rhizo para a estimativa comprimento e do diâmetro médio.

Comparando os comprimentos medidos com trena e os estimados pela macro IJ\_Rhizo, utilizando imagens com 600 dpi, foram obtidos coeficientes de variação de 3,17% a 51,35%. Sendo que 96,67% dos coeficientes de variação ultrapassaram o valor máximo aceitável de 5% (SMIT et al., 2000). A macro superestimou consideravelmente os valores de comprimento, obtendo erros relativos percentuais de 4,59 % a 114,03 % sendo que 96,67% dos erros superiores a 10%.

Na Figura 24 é apresentada a relação entre os comprimentos medidos com trena e os estimados por meio da macro IJ\_Rhizo, para imagens de fios de náilon com 600 dpi. Após realizar uma regressão linear entre os comprimentos foi obtido um coeficiente de determinação de 0,9891. Ao comparar os coeficientes de determinação para imagens de diferentes resoluções, fica evidente que o coeficiente de determinação obtido utilizando imagens com 600 dpi foi inferior ao coeficiente de determinação obtido utilizando imagens com 300 dpi. Como consequência do aumento da resolução, os coeficientes de variação aumentaram em média 1,24% e os erros relativos percentuais aumentaram em média 1,85%. Esses fatos demonstram que ao aumentar a resolução das imagens de 300 dpi para 600 dpi, a acurácia da macro IJ\_Rhizo foi reduzida durante a medição do comprimento.

Figura 24. Relação entre os comprimentos medidos e os comprimentos estimados pela macro IJ\_Rhizo para as imagens de fios de náilon com 600dpi.



(FONTE: AUTOR, 2016)

#### 4.1.1.3 Método Proposto

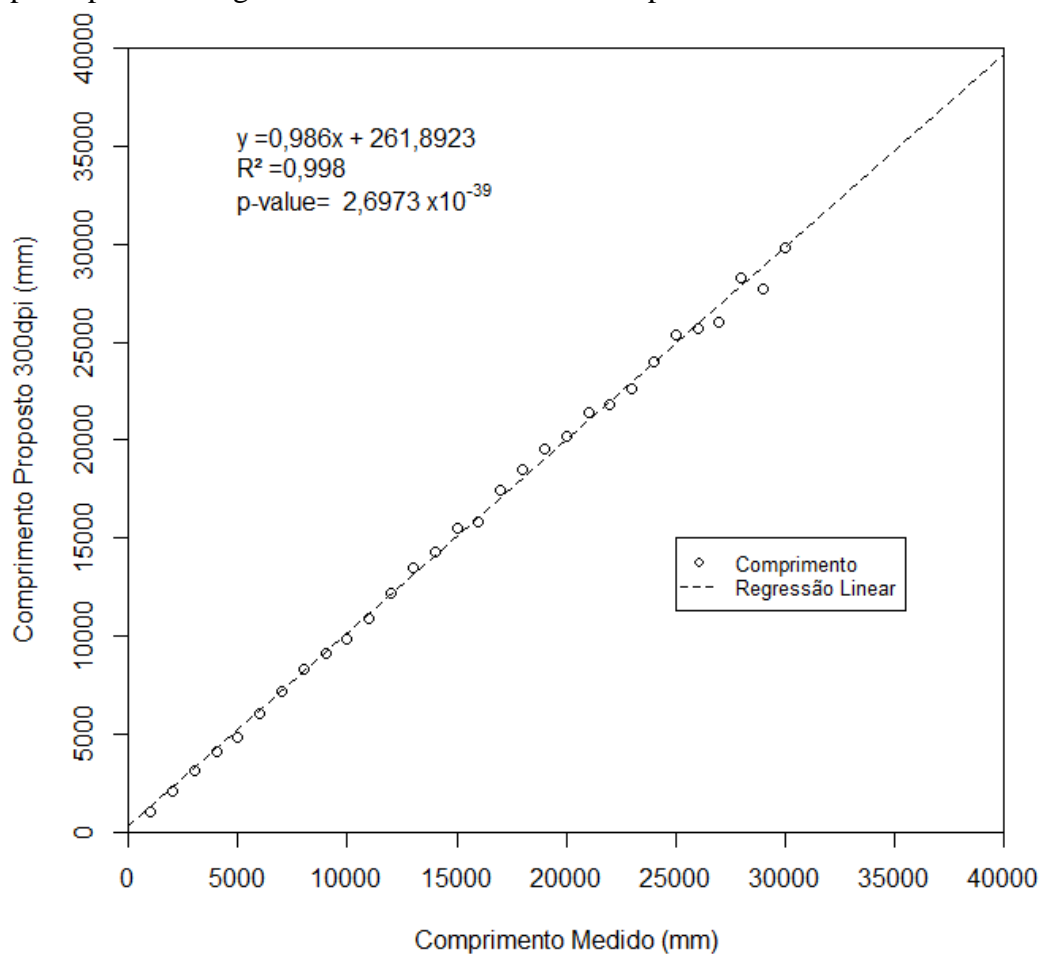
Após realizar uma regressão linear entre os comprimentos medidos e os estimados pelo método proposto, utilizando imagens de fios de náilon com resolução de 300dpi, foi obtido um coeficiente de determinação forte de 0,998 (Figura 25). Sendo que o coeficiente de determinação obtido de 0,998 foi superior ao método de Tennant (1975), com 0,9961, e superior a macro IJ\_Rhizo com 0,9947. Na Figura 25 é possível observar que a equação da reta obtida possui um coeficiente angular próximo de um e um coeficiente linear próximo de zero, demonstrando que o comprimento medido e o comprimento estimado também possuem uma relação linear muito forte. No entanto, a regressão linear entre os comprimentos medidos e os estimados pelo método proposto não é suficiente para determinar a acurácia do método proposto.

Diferente do método de Tennant (1975) e da macro IJ\_Rhizo, o método proposto não demonstrou um padrão de comportamento tão definido durante a estimativa do comprimento das amostras de fios de náilon. O método proposto obteve erros relativos percentuais de -4,44% a 5,52% em relação aos valores de comprimento medidos, sendo o erro relativo percentual médio de 0,93%. Por meio dos erros relativos percentuais é possível observar casos em que o comprimento foi subestimado, assim como casos em que o comprimento foi superestimado. Apesar disso, é possível observar que o método proposto superestimou o comprimento total das amostras em 60% dos casos. Mesmo assim, foram obtidos coeficientes de variação entre os comprimentos medidos e o método proposto de 0,05% a 3,80%, sendo que o coeficiente de variação médio foi de 1,58%. Além disso, nenhum desses coeficientes ultrapassou o limite aceitável de 5% (SMIT et al., 2000).

Os desvios padrões variaram de 4,20 mm a 910,55 mm, sendo que o desvio padrão médio foi de 213,44 mm. É possível observar na Tabela 5 que o intervalo de desvios padrões do método proposto foi inferior ao método de Tennant (1975) e a macro IJ\_Rhizo, demonstrando uma maior precisão do método proposto em relação aos demais métodos.

Aplicando o teste-t sobre os comprimentos medidos e os estimados por meio do método proposto, da Tabela 5, com nível de significância 0,001, foi obtido um *p-value* de 0,55. Esse fato indica que o método proposto, para as amostras de fios de náilon, apresentou comprimentos que não diferem significativamente dos comprimentos medidos com a trena.

Figura 25. Relação entre os comprimentos medidos e os comprimentos do método proposto para as imagens de fios de náilon com 300dpi.



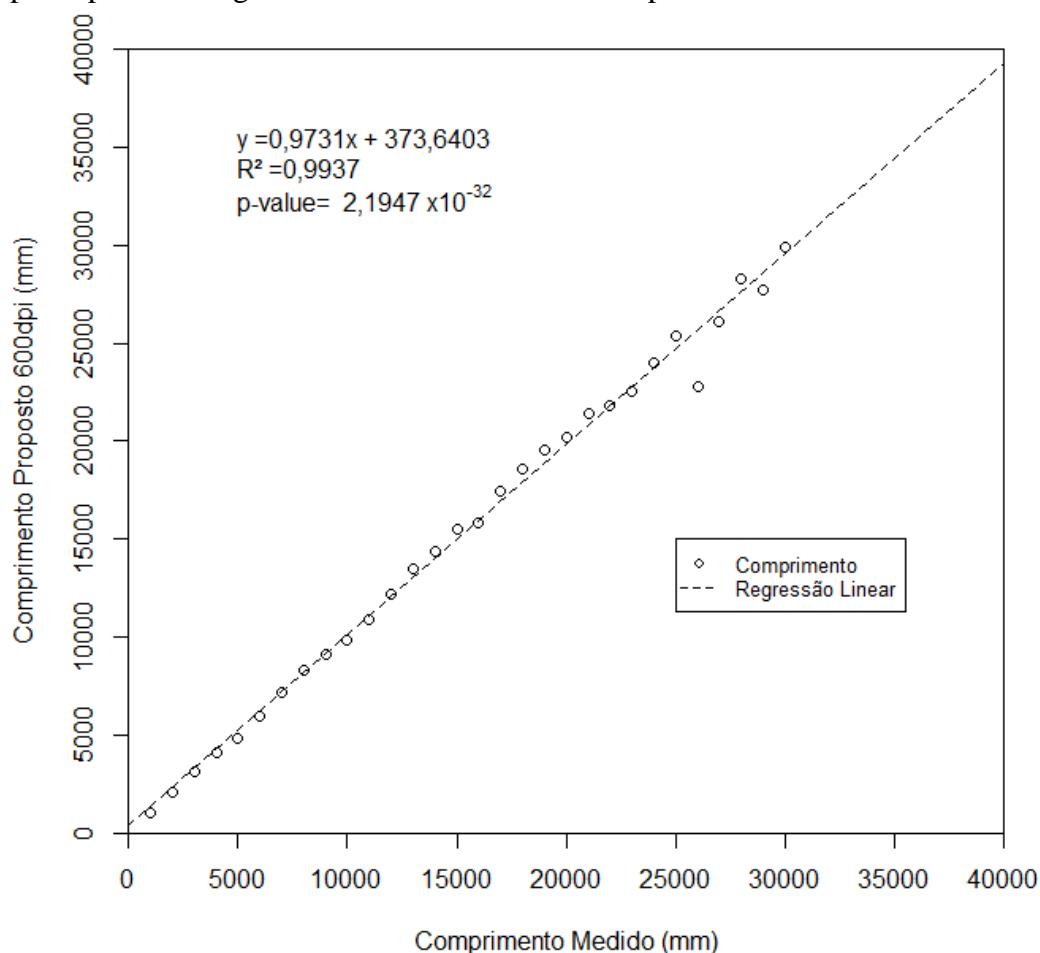
(FONTE: AUTOR, 2016)

Após aplicar uma regressão linear entre os comprimentos medidos e os obtidos pelo método de proposto com a resolução de 600 dpi, foi obtido um coeficiente de determinação forte de 0,9937 (Figura 26). É possível observar que ao aumentar a resolução das imagens de fios de náilon de 300 dpi para 600 dpi o coeficiente de determinação diminuiu de 0,998 para 0,9937. Esse fato indica uma redução na acurácia da estimativa do comprimento com o aumento da resolução.

Assim como a macro IJ\_Rhizo, o aumento da resolução das imagens de fios de náilon teve influência na acurácia da estimativa do comprimento pelo método proposto. No entanto, o aumento da resolução teve um efeito mais expressivo sobre a acurácia do comprimento estimado pelo método proposto. Comparando os valores de comprimento medidos com trena aos estimados pelo método proposto com resolução de 600 dpi, foram obtidos coeficientes de variação de 0,06% a 9,27%, sendo que o coeficiente de

variação médio foi de 1,88%. O método proposto obteve erros relativos percentuais de -12,31% a 5,33% em relação aos valores de comprimento medidos, sendo que o erro relativo percentual médio foi de 0,60%. Em somente 6,67% dos casos o módulo do erro relativo percentual foi superior a 5%. Como efeito do aumento da resolução, os coeficientes de variação aumentaram em média 41,5% e os erros relativos percentuais aumentaram em média 30,49%. Com os fatos anteriormente expostos, é possível constatar que ao aumentar a resolução das imagens de 300 dpi para 600 dpi a acurácia na estimativa do comprimento do método proposto foi reduzida. No entanto, 96,67% dos coeficientes de variação não ultrapassou o limite aceitável de 5% (SMIT et al., 2000).

Figura 26. Relação entre os comprimentos medidos e os comprimentos do método proposto para as imagens de fios de náilon com 600dpi.



(FONTE: AUTOR, 2016)

Os desvios padrões variaram de 5,88 mm a 2262,31 mm, sendo que o desvio padrão médio foi de 285,95 mm. É possível observar o intervalo de desvios padrões do método proposto aumentou com o aumento da resolução das imagens, demonstrando que além de afetar a acurácia, a resolução também afetou a precisão do método proposto.

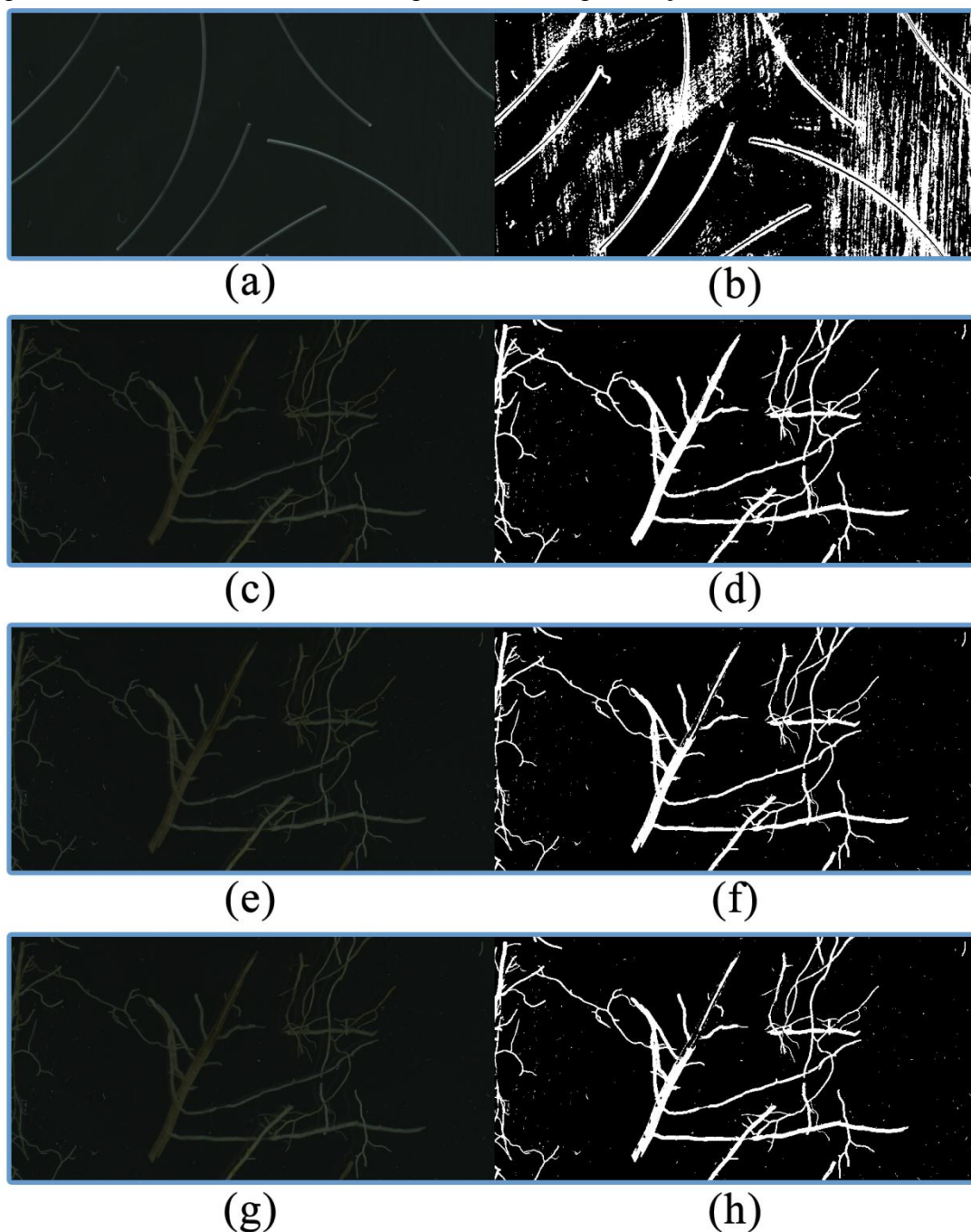
Aplicando o teste-t sobre os comprimentos medidos e os estimados por meio do método proposto para imagens de fios de náilon com 600 dpi, com nível de significância 0,001, foi obtido um *p-value* de 0,74. Esse fato indica que o método proposto, para as imagens de fios de náilon com 600 dpi, apresentou comprimentos que não diferem significativamente dos comprimentos medidos com a trena.

Os coeficientes de variação obtidos pelo método proposto, em relação aos valores medidos com trena, foram inferiores aos coeficientes de variação obtidos pelo método de Tennant (1975) em 99,67% dos casos para os fios de náilon. O método proposto somente obteve um coeficiente de variação superior ao coeficiente de variação do método de Tennant (1975), quando foi utilizada amostra com 1000 mm de comprimento. Portanto, os resultados demonstram que o método proposto possui a acurácia necessária para estimar o comprimento total de raízes de milho.

Foi considerada a utilização de algoritmos de segmentação automática para o desenvolvimento do método proposto. Diversos algoritmos para a segmentação automática de imagens foram testados. O algoritmo de segmentação automática de Otsu (1979) foi testado utilizando imagens de raízes de milho, Figura 27(g). No entanto, o algoritmo não foi capaz de segmentar as raízes de milho em sua totalidade, Figura 27(h), tornando-o algoritmo inadequado para uma aplicação real. O algoritmo de segmentação automática K-means também foi testado utilizando imagens de raízes de milho, Figura 27(e). Ele obteve uma estrutura radicular com menor descontinuidade do que o algoritmo de Otsu, mas ainda não conseguiu segmentar as raízes de milho em sua totalidade, Figura 27(f). Por fim, o algoritmo de segmentação automática baseado em misturas gaussianas proposto por Greggio et al. (2012) foi implementado, e testado utilizando imagens de raízes de milho, Figura 27(c), e fios de náilon, Figura 27(a). O algoritmo foi capaz de segmentar as imagens de raízes de milho, Figura 27(d). Entretanto, o algoritmo não foi capaz de segmentar as imagens de fios de náilon impossibilitando a validação do método, Figura 27(b). Como as raízes de milho e os fios de náilon possuem propriedades ópticas distintas, e ainda estabelecem contrastes diferentes não foi possível segmentar ambos com o menor número possível de

descontinuidades. Portanto, optou-se pela utilização da segmentação com limiar manual tanto para as imagens de raízes quanto para as imagens de fios de náilon.

Figura 27. Resultados obtidos com algoritmos de segmentação automática.

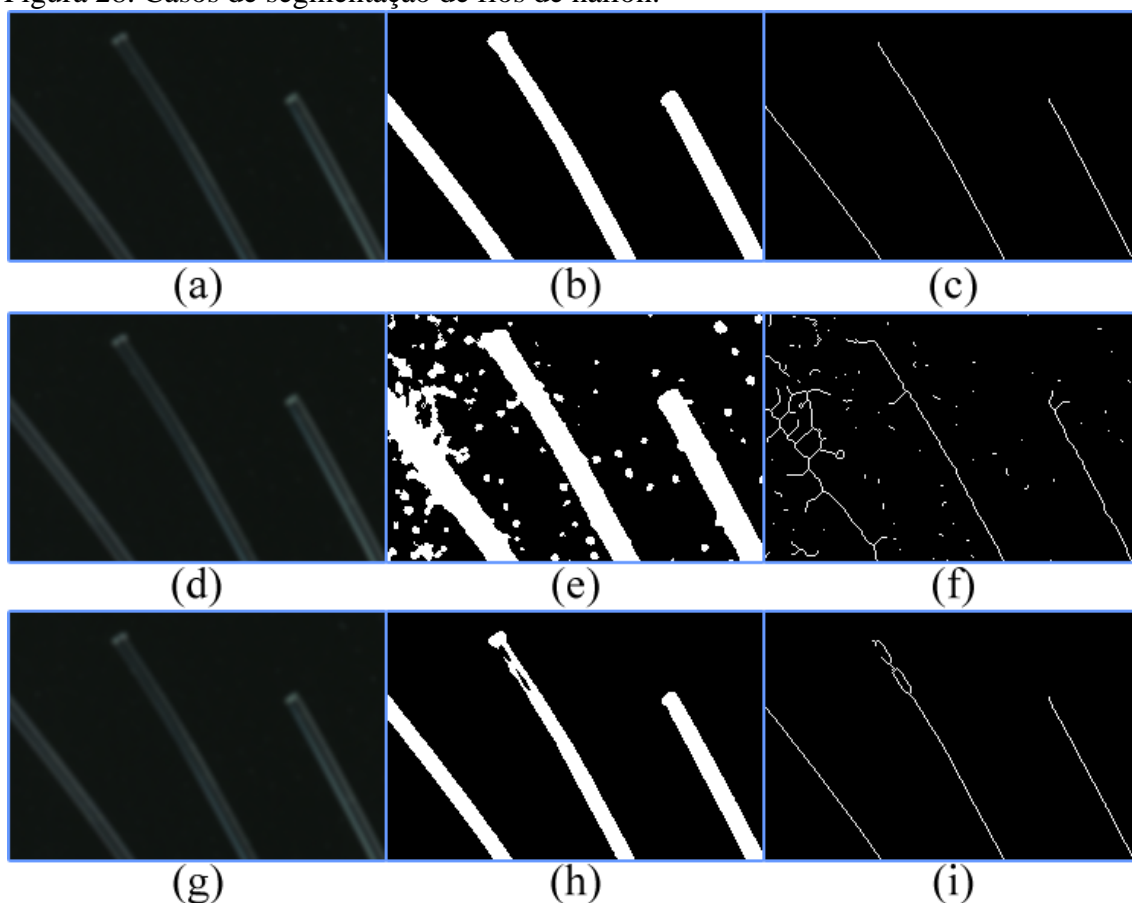


(FONTE: AUTOR, 2016)

Os erros presentes durante a medição do comprimento pelo método proposto, podem ter sido ocasionados por problemas na distinção entre o fundo e os fios, Figura 28(a,d,g). Além da transparência dos fios, a iluminação pode ter influenciado durante o processo de aquisição da imagem. Outra etapa que teve grande influência sobre a

medição, foi a segmentação. A segmentação é a etapa responsável por definir se os pixels das imagens são fios ou fundo. No caso ideal de segmentação, os fios e o fundo são perfeitamente identificados, Figura 28(b), não provocando falhas no esqueleto, Figura 28(c). Se a segmentação considerar pixels de fundo como fios, Figura 28(e), haveriam falhas no esqueleto, Figura 28(f), ocasionando problemas de superestimativa do comprimento. O mesmo problema ocorreria caso a segmentação considerasse as partes internas dos fios como fundo, Figura 28(h). Nesse caso em específico, haveria o aparecimento de furos nas estruturas dos fios e consequentemente ocasionaria falhas no esqueleto, Figura 28(i), que seriam propagadas para a medição do comprimento.

Figura 28. Casos de segmentação de fios de náilon.



(FONTE: AUTOR, 2016)

Para remoção de eventuais ruídos que pudessem aparecer na imagem foi testada a abordagem de subtração de fundo. Essa abordagem consiste na utilização de duas imagens, a primeira contendo somente o fundo, e a segunda contendo o objeto de interesse e o fundo. Em teoria, ao subtrair a primeira imagem da segunda seria obtido somente o objeto de interesse. Para tanto, seria necessário garantir que a iluminação é



uniforme em ambas as imagens. Também seria necessário garantir que não há o aparecimento de partículas de poeira no fundo da imagem e que o fundo não foi alterado, ou seja, o fundo está na mesma posição em ambas as imagens. Além disso, seria necessário que para cada imagem do objeto de interesse houvesse uma imagem correspondente contendo o fundo e o objeto. Na prática, devido às variações de luminosidade do ambiente o processo de subtração de fundo pode evidenciar ruídos na imagem resultante, dificultando a segmentação (GONZALEZ e WOODS, 2000). Portanto, a subtração de fundo foi testada mas não foi utilizada no método proposto.

A princípio seria utilizado outro algoritmo na etapa afinamento, o algoritmo proposto por Jagna e Bhima (2012), mas devido a impossibilidade de reprodução do algoritmo foi mantido o algoritmo de afinamento atual. O algoritmo de afinamento adotado provê um esqueleto de exatamente um pixel de espessura, o qual demonstrou uma maior precisão e exatidão na medição do comprimento em relação a macro IJ\_Rhizo e ao método de Tennant (1975).

Apesar do método proposto obter coeficientes de variação superiores aos reportados na literatura, ele não utilizou algum fator de correção para aumentar a acurácia da estimativa do comprimento ou do diâmetro (KIMURA, KIKUCHI e YAMASAKI, 1999; NAME, 2013). Além disso, o método proposto foi validado utilizando o intervalo de comprimento que melhor descreve o comportamento de crescimento radicular da cultura do milho, de 1000 mm a 30000 mm (Tabela 3). No entanto, Kimura, Kikuchi e Yamasaki (1999) utilizaram para a validação um intervalo de comprimento de 1000 mm a 10000 mm. Tennant (1975) também utilizou um intervalo de comprimento pequeno, de 200 mm a 4000 mm. Name (2013) utilizou um intervalo de comprimento ainda menor, de 10 mm a 50 mm.

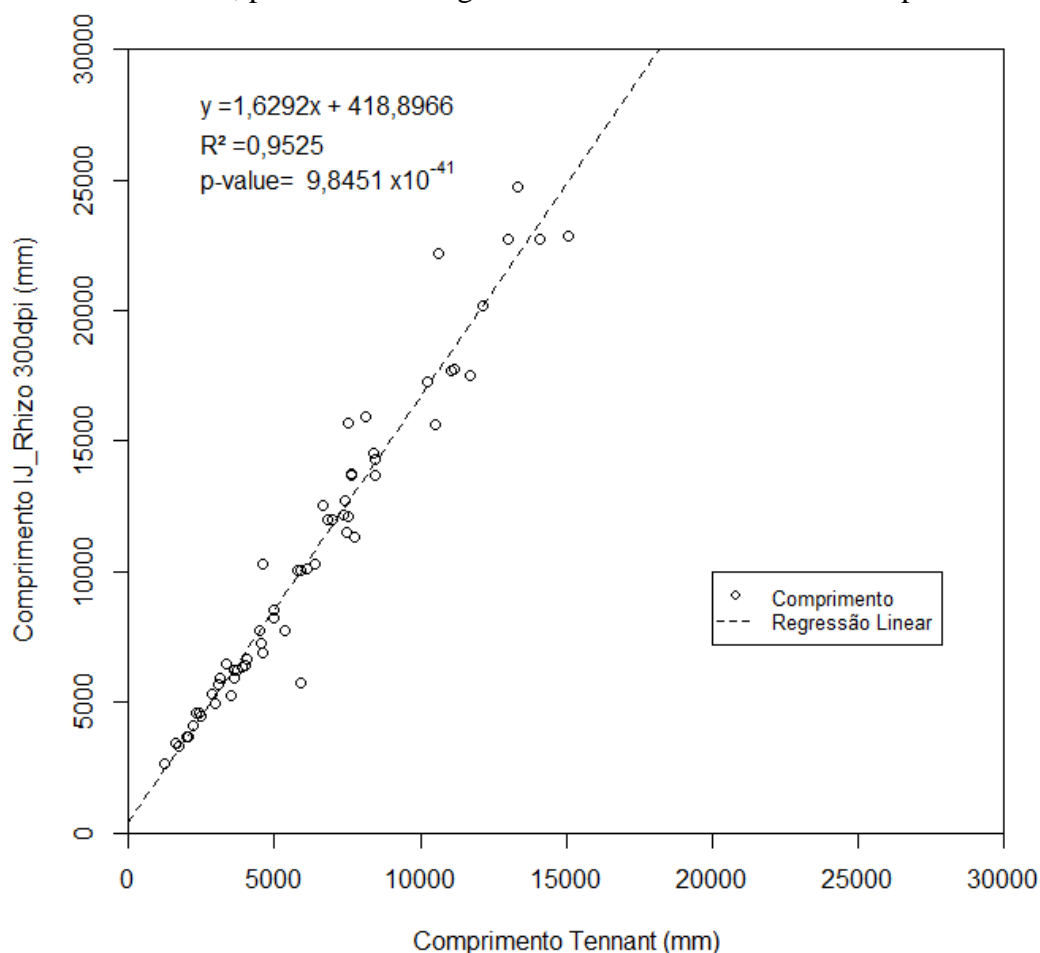
#### 4.1.2 Teste com Raízes de Milho

Apesar do método de Tennant (1975) não fornecer a acurácia necessária para a medição do comprimento radicular, diversas pesquisas utilizaram-no como critério de validação para a avaliação desse parâmetro (MURAKAMI e YONEYAMA, 1988; LEBOWITZ, 1988; KASPAR e EWING, 1997; BAUHUS e MESSIER, 1999; KIMURA, KIKUCHI e YAMASAKI, 1999; KIMURA e YAMASAKI, 2001; NAME, 2013). Para efeitos demonstrativos, a macro IJ\_Rhizo e o método proposto foram comparados ao método de Tennant (1975).

#### 4.1.2.1 Método de Tennant e IJ\_Rhizo

A Figura 29 apresenta a relação entre os valores de comprimento estimados pelo método de Tennant (1975) e os estimados pelo macro IJ\_Rhizo, utilizando imagens de raízes de milho lavadas com resolução de 300 dpi e limiar igual a 31. Em somente 1,64% das amostras de raízes de milho o comprimento estimado pela macro IJ\_Rhizo foi inferior ao método de Tennant (1975). Para as demais amostras, o comprimento estimado pela macro foi superior ao estimado pelo método de Tennant (1975). Mesmo com coeficientes de variação, entre os métodos, sendo de 2,39% a 54,20% foi obtido um coeficiente de determinação forte de 0,9525.

Figura 29. Relação entre os comprimentos estimados pelo método de Tennant (1975) e pela macro IJ\_Rhizo, por meio de imagens de raízes de milho com 300 dpi.

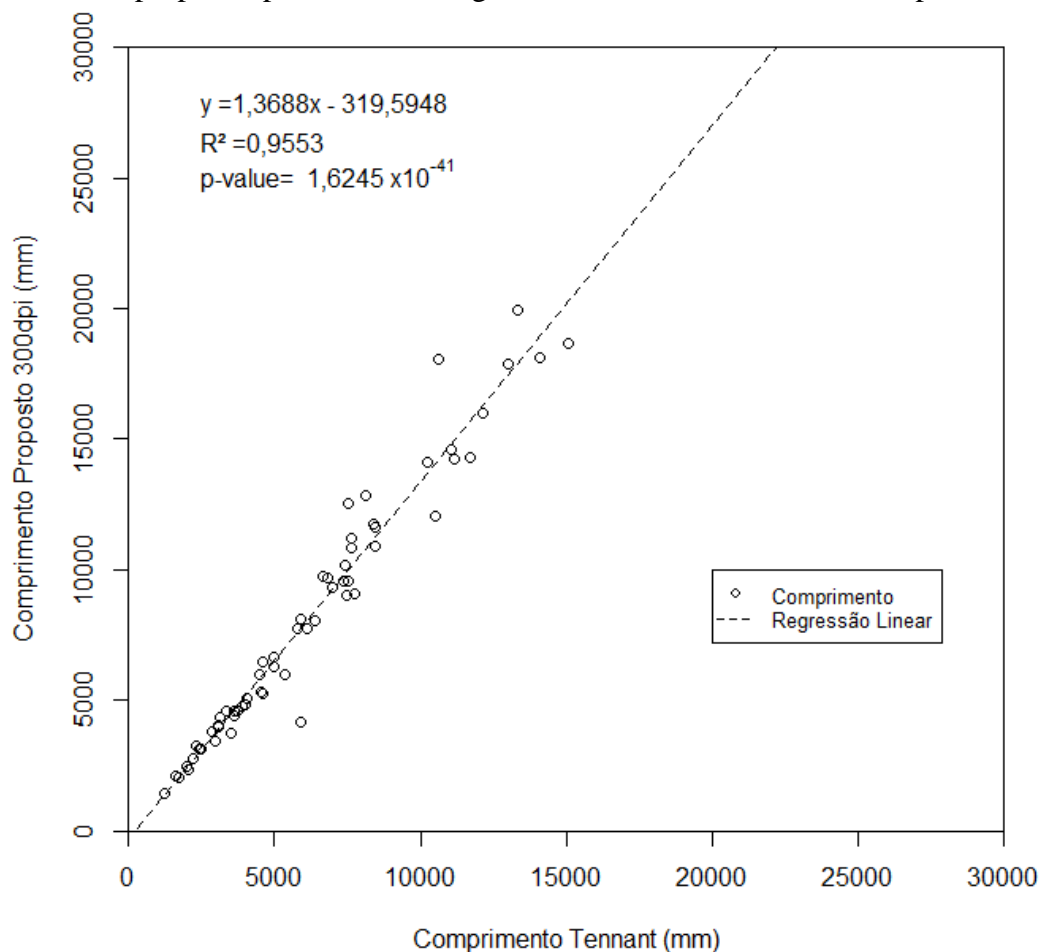


(FONTE: AUTOR, 2016)

#### 4.1.2.2 Método de Tennant e Método Proposto

A Figura 30 apresenta a relação entre os valores de comprimento estimados pelo método de Tennant (1975) e os estimados pelo método proposto, utilizando imagens de raízes de milho lavadas com resolução de 300 dpi e limiar igual a 31. Assim como a macro IJ\_Rhizo, em 1,64% das amostras de raízes de milho o comprimento estimado pelo método proposto foi inferior ao método de Tennant (1975). Para as demais amostras, o comprimento estimado pelo método proposto foi superior ao estimado pelo método de Tennant (1975). Mesmo com coeficientes de variação de 5,07% a 36,51%, entre os métodos, foi obtido um coeficiente de determinação forte de 0,9553. Sendo este coeficiente superior ao coeficiente de determinação obtido entre o método de Tennant e a macro IJ\_Rhizo.

Figura 30. Relação entre os comprimentos estimados pelo método de Tennant (1975) e pelo método proposto, por meio de imagens de raízes de milho com 300 dpi.



(FONTE: AUTOR, 2016)

## 4.2 MEDIÇÃO DO DIÂMETRO MÉDIO

### 4.2.1 Teste e Validação com Fios de Náilon

A Tabela 6 apresenta as médias dos diâmetros nominais (denominadas apenas como diâmetro nominal), as estimadas pelo método tradicional (SCHENK e BARBER, 1979), pela macro IJ\_Rhizo (PIERRET et al., 2013) e pelo método proposto para 50 amostras de fios de náilon. Também são apresentados os respectivos coeficientes de variação (CV), os respectivos erros relativos percentuais (ERP), e os respectivos desvios padrões (DP) obtidos para cada medida. Os coeficientes de variação, erros relativos percentuais e os desvios padrões foram calculados relacionando os diâmetros nominais aos diâmetros estimados por meio dos demais métodos testados. A Tabela 6 somente apresenta os resultados para a resolução de 300 dpi, estimados pelos métodos computacionais, com limiarização manual utilizando limiar de 35.

#### 4.2.1.1 Método Tradicional

A Figura 31 apresenta a regressão linear entre os diâmetros nominais e os diâmetros médios estimados pelo método tradicional. Obteve-se um coeficiente de determinação forte de 0,9604 entre os diâmetros nominais e os diâmetros estimados pelo método tradicional. No entanto, o coeficiente angular da reta obtida extremamente inferior a um indica a subestimativa considerável do diâmetro médio.

Comparando os valores de diâmetros nominais e os estimados pelo método tradicional, para as amostras de fios de náilon, foram obtidos coeficientes de variação de 62,58 % a 74,30 %, sendo que o coeficiente de variação médio foi de 70,75%. Todos os coeficientes de variação ultrapassaram o valor máximo aceitável de 5%, indicando a baixa acurácia do método tradicional para a estimativa do diâmetro médio (SMIT et al., 2000). Por meio dos erros relativos percentuais presentes na Tabela 6, é possível observar que o método tradicional subestimou consideravelmente 100% dos diâmetros das amostras de fios de náilon, reforçando o indicativo do coeficiente angular anteriormente obtido. Os erros relativos percentuais variaram de -68,89% a -61,35%, sendo que o erro relativo percentual médio foi de -66,67%.

Tabela 6. Diâmetros nominais e estimados com o método tradicional, com a macro IJ\_Rhizo, e com o método proposto.

CV: coeficiente de variação; ERP: erro relativo percentual; DP: desvio padrão.

(continua)

Amostra	Diâmetro		CV (%)	ERP (%)	DP (mm)	Diâmetro (mm)	CV (%)	ERP (%)	DP (mm)	Diâmetro (mm)	CV (%)	ERP (%)	DP (mm)
	Nominal	Tradicional											
1	0,3500	0,1092	74,16	-68,80	0,1703	2,4843	106,49	609,80	1,5092	0,3172	6,95	-9,37	0,0232
2	0,3500	0,1148	71,56	-67,20	0,1663	1,8873	97,17	439,23	1,0870	0,3242	5,41	-7,37	0,0182
3	0,3500	0,1122	72,75	-67,94	0,1681	1,5265	88,67	336,14	0,8319	0,3428	1,47	-2,06	0,0051
4	0,3500	0,1165	70,79	-66,72	0,1651	1,3750	84,03	292,86	0,7248	0,3368	2,73	-3,78	0,0094
5	0,3500	0,1152	71,37	-67,08	0,1660	1,7529	94,35	400,83	0,9920	0,3376	2,55	-3,54	0,0088
6	0,3500	0,1123	72,74	-67,93	0,1681	1,5897	90,38	354,19	0,8766	0,3631	2,59	3,73	0,0092
7	0,3500	0,1142	71,84	-67,37	0,1667	1,4459	86,30	313,10	0,7749	0,3383	2,41	-3,35	0,0083
8	0,3500	0,1128	72,48	-67,77	0,1677	1,4395	86,10	311,29	0,7704	0,3869	7,08	10,53	0,0261
9	0,3500	0,1136	72,09	-67,53	0,1671	1,3168	82,03	276,23	0,6836	0,3739	4,67	6,83	0,0169
10	0,3500	0,1089	74,30	-68,89	0,1705	1,2807	80,71	265,91	0,6581	0,3563	1,26	1,80	0,0045
11	0,3500	0,1147	71,62	-67,24	0,1664	1,1571	75,73	230,59	0,5707	0,3855	6,83	10,15	0,0251
12	0,3500	0,1126	72,55	-67,81	0,1678	1,1642	76,04	232,61	0,5757	0,3767	5,19	7,62	0,0189
13	0,3500	0,1150	71,47	-67,14	0,1662	1,1403	74,99	225,79	0,5588	0,4332	15,02	23,76	0,0588
14	0,3500	0,1123	72,73	-67,92	0,1681	1,1081	73,53	216,59	0,5360	0,4563	18,64	30,36	0,0751
15	0,3500	0,1118	72,94	-68,05	0,1684	1,0590	71,16	202,56	0,5013	0,4064	10,54	16,11	0,0399
16	0,3500	0,1140	71,92	-67,42	0,1669	1,0451	70,46	198,59	0,4915	0,3898	7,61	11,38	0,0282
17	0,3500	0,1152	71,39	-67,09	0,1660	1,0194	69,13	191,24	0,4733	0,4191	12,70	19,74	0,0488

Tabela 6. Diâmetros nominais e estimados com o método tradicional, com a macro IJ\_Rhizo, e com o método proposto.

CV: coeficiente de variação; ERP: erro relativo percentual.

(continuação)

Amostra	Diâmetro		CV (%)	ERP (%)	DP (mm)	Diâmetro (mm)	CV (%)	ERP (%)	DP (mm)	Diâmetro (mm)	CV (%)	ERP (%)	DP (mm)
	Nominal	Tradicional											
18	0,3500	0,1126	72,57	-67,82	0,1679	1,4563	86,62	316,09	0,7823	0,3172	6,95	-9,37	0,0326
19	0,3500	0,1141	71,88	-67,40	0,1668	0,9658	66,19	175,94	0,4354	0,4330	14,99	23,71	0,0587
20	0,3500	0,1141	71,89	-67,40	0,1668	0,9763	66,78	178,93	0,4428	0,4869	23,13	39,11	0,0968
21	0,3500	0,1135	72,16	-67,57	0,1672	1,2979	81,35	270,82	0,6702	0,3901	7,66	11,46	0,0284
22	0,3500	0,1130	72,38	-67,71	0,1676	0,9547	65,54	172,76	0,4276	0,4488	17,49	28,22	0,0698
23	0,3500	0,1122	72,76	-67,95	0,1682	0,9339	64,31	166,81	0,4128	0,4796	22,10	37,04	0,0917
24	0,3500	0,1136	72,13	-67,55	0,1672	0,8874	61,42	153,53	0,3800	0,4084	10,89	16,69	0,0413
25	0,3500	0,1117	73,00	-68,09	0,1685	0,8699	60,27	148,53	0,3676	0,3963	8,77	13,23	0,0327
26	0,3500	0,1139	71,96	-67,45	0,1669	0,8798	60,92	151,37	0,3746	0,4343	15,20	24,09	0,0596
27	0,3500	0,1100	73,78	-68,57	0,1697	0,8750	60,61	150,00	0,3712	0,4067	10,59	16,19	0,0401
28	0,3500	0,1133	72,28	-67,64	0,1674	0,8423	58,39	140,66	0,3481	0,3984	9,14	13,82	0,0342
29	0,3500	0,1136	72,09	-67,53	0,1671	0,8508	58,98	143,07	0,3541	0,4049	10,28	15,68	0,0388
30	0,3500	0,1104	73,58	-68,45	0,1694	0,8337	57,79	138,19	0,3420	0,4014	9,67	14,69	0,0363
31	0,2500	0,0855	69,37	-65,82	0,1164	2,3903	114,64	856,12	1,5134	0,2734	6,33	9,37	0,0166
32	0,2500	0,0863	68,86	-65,49	0,1158	1,7820	106,62	612,80	1,0833	0,2930	11,20	17,21	0,0304
33	0,2500	0,0838	70,40	-66,47	0,1175	1,4923	100,84	496,92	0,8784	0,2950	11,67	17,99	0,0318
34	0,2500	0,0867	68,56	-65,30	0,1154	1,2391	93,94	395,64	0,6994	0,2543	1,19	1,70	0,0030

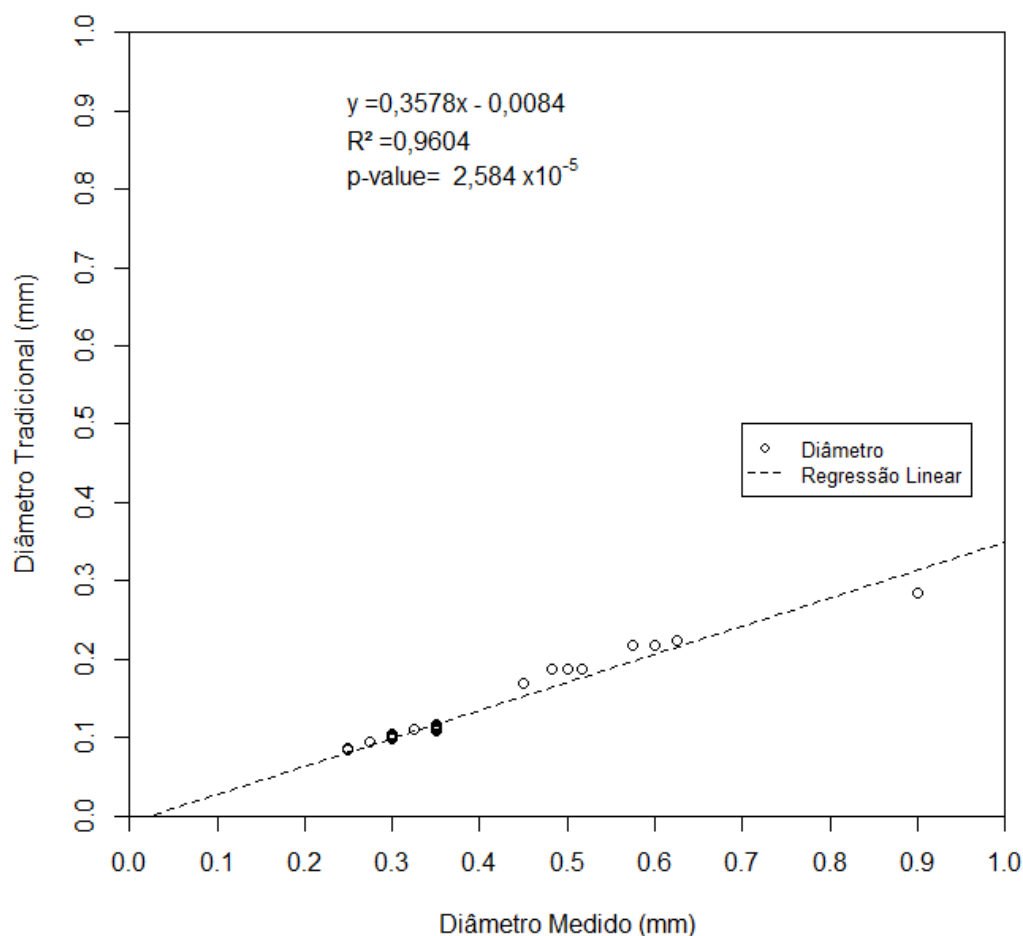
Tabela 6. Diâmetros nominais e estimados com o método tradicional, com a macro IJ\_Rhizo, e com o método proposto.

CV: coeficiente de variação; ERP: erro relativo percentual.

(conclusão)													
Amostra	Diâmetro		CV (%)	ERP (%)	DP (mm)	Diâmetro (mm)	CV (%)	ERP (%)	DP (mm)	Diâmetro (mm)	CV (%)	ERP (%)	DP (mm)
	Nominal	Tradicional											
IJ_Rhizo													
Proposto													
35	0,3000	0,1050	68,11	-65,01	0,1379	2,4414	110,47	713,80	1,5142	0,2779	5,40	-7,35	0,0156
36	0,3000	0,0992	71,15	-66,94	0,1420	1,8050	101,11	501,67	1,0642	0,3010	0,23	0,32	0,0007
37	0,3000	0,0977	71,92	-67,42	0,1430	1,5343	95,16	411,43	0,8728	0,3272	6,13	9,05	0,0192
38	0,3000	0,1005	70,45	-66,50	0,1411	1,3556	90,17	351,87	0,7464	0,3455	9,96	15,15	0,0321
39	0,9000	0,2853	73,35	-68,30	0,4347	2,7754	72,16	208,38	1,3261	0,7158	16,12	-20,47	0,1302
40	0,2750	0,0940	69,38	-65,82	0,1280	1,8523	104,86	573,56	1,1153	0,3807	22,80	38,44	0,0747
41	0,3000	0,0992	71,14	-66,94	0,1420	1,8326	101,63	510,87	1,0837	0,3811	16,85	27,05	0,0574
42	0,5750	0,2172	63,87	-62,22	0,2530	1,8215	73,56	216,78	0,8814	0,5090	8,61	-11,48	0,0467
43	0,3250	0,1099	69,93	-66,17	0,1521	1,8549	99,25	470,74	1,0818	0,3517	5,58	8,22	0,0189
44	0,6000	0,2173	66,22	-63,78	0,2706	1,8235	71,40	203,92	0,8651	0,1752	77,49	-70,79	0,3004
45	0,6250	0,2229	67,07	-64,34	0,2843	1,8684	70,52	198,94	0,8792	0,5721	6,25	-8,46	0,0374
46	0,3000	0,1032	69,03	-65,60	0,1392	1,5338	95,15	411,27	0,8724	0,3132	3,04	4,39	0,0093
47	0,4833	0,1868	62,58	-61,35	0,2097	1,5564	74,40	222,01	0,7588	0,4928	1,38	1,97	0,0067
48	0,5000	0,1865	64,58	-62,70	0,2217	1,6455	75,51	229,10	0,8100	0,4355	9,76	-12,91	0,0456
49	0,5167	0,1880	65,97	-63,62	0,2324	1,5854	71,90	206,85	0,7557	0,4874	4,12	-5,67	0,0207
50	0,4500	0,1688	64,28	-62,50	0,1989	1,4548	74,60	223,29	0,7105	0,4795	4,48	6,55	0,0208
Média	-	-	70,75	-66,67	0,1744	-	81,09	308,40	0,7567	-	10,22	8,00	0,0401

(FONTE: AUTOR, 2016)

Figura 31. Relação entre os diâmetros nominais e os estimados pelo método tradicional com fios de náilon.



(FONTE: AUTOR, 2016)

Os desvios padrões variaram de 0,1154 mm a 0,4347 mm, sendo que o desvio padrão médio foi de 0,1744 mm. Esse fato indica que além do método tradicional possuir uma baixa acurácia, ele também possui uma baixa precisão.

Após aplicar o teste de Wilcoxon com nível de significância igual a 0,001, foi obtido um  $p\text{-value}$  de  $7,77 \times 10^{-10}$ . Esse fato indica que o método tradicional, para as amostras de fios de náilon, apresentou diâmetros discrepantes em relação aos diâmetros nominais. Ainda é possível observar que apesar dos diâmetros estimados e os diâmetros nominais terem obtido uma relação linear forte, isso não garantiu que o diâmetros estimados possuíssem uma boa acurácia.

Como exposto previamente, o método tradicional para o cálculo do diâmetro médio (Equação 11) requer a utilização do comprimento estimado por meio do método de Tennant (1975). Devido a esse fato, os erros decorrentes da obtenção do comprimento podem ser propagados para o diâmetro. Além disso, as considerações



geométricas sobre a morfologia de raízes podem prejudicar a acurácia do método tradicional para estimativa do diâmetro médio. O método tradicional considera que as raízes possuem formato cilíndrico e que o diâmetro é uniforme ao longo de toda a extensão das raízes. As considerações físicas sobre a estrutura radicular podem afetar ainda mais a acurácia da estimativa do diâmetro médio. O método tradicional considera que a massa da raiz também é uniformemente distribuída ao longo de sua extensão, ou seja, a raiz possui a mesma densidade ao longo de sua estrutura (SMIT et al., 2000; ROOSE, 2000).

$$D_{médio} = 2 \sqrt{\frac{m}{\pi d C_{Tennant}}} \quad (11)$$

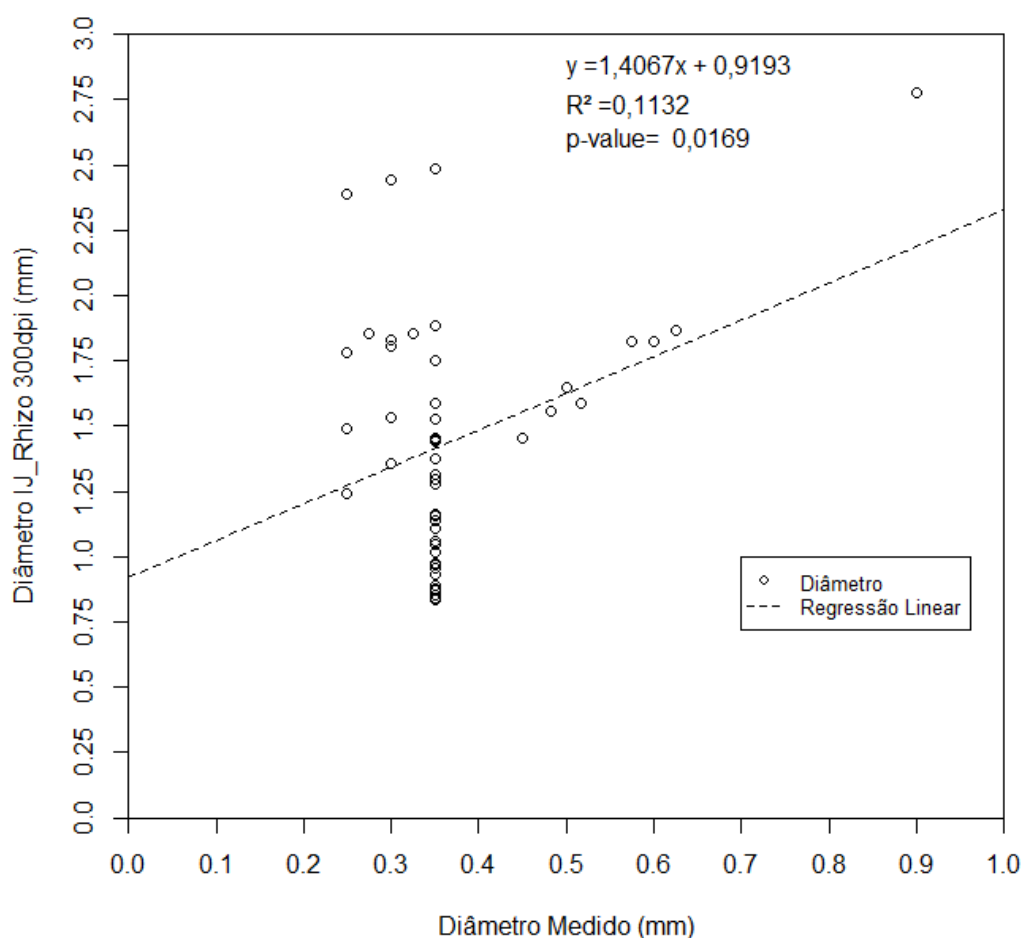
#### 4.2.1.2 IJ\_Rhizo

A Figura 32 apresenta a regressão linear entre os diâmetros nominais e os diâmetros estimados pela macro IJ\_Rhizo para imagens de fio de náilon com 300 dpi. O coeficiente angular da reta superior a um indica que a macro IJ\_Rhizo superestimou os diâmetros médios dos fios de náilon. Ao aplicar uma regressão linear entre os diâmetros médios estimados para linhas desenhadas e os diâmetros estimados pelo sistema WinRhizo, Pierret et al. (2013) obtiveram um coeficiente de determinação de 0,991. Contrariando os resultados obtidos por Pierret et al. (2013) para o diâmetro, obteve-se um coeficiente de determinação fraco de 0,1132 entre os diâmetros nominais e os diâmetros obtidos pela macro IJ\_Rhizo, para imagens de fios de náilon com 300 dpi. Essa diferença evidente entre os coeficientes de determinação pode estar relacionada com o material utilizado para a validação. Além disso, Pierret et al. (2013) não compararam os diâmetros estimados com os diâmetros reais das linhas desenhadas, não esclarecendo a real acurácia da macro IJ\_Rhizo.

Comparando os valores de diâmetros nominais e os obtidos pela macro IJ\_Rhizo, para as imagens de fios de náilon com 300 dpi, foram obtidos coeficientes de variação de 57,79% a 114,64%, sendo que o coeficiente de variação médio foi de 81,09% (Tabela 6). Todos os coeficientes de variação ultrapassaram o valor máximo aceitável de 5% (SMIT et al., 2000). Os erros relativos percentuais variaram de 138,19% a 856,12%, sendo que o erro relativo percentual médio foi de 194,75 %. Por meio dos erros relativos percentuais presentes na Tabela 6, ao contrário do método

tradicional, é possível observar que a macro IJ\_Rhizo superestimou consideravelmente 100% dos diâmetros das amostras de fios de náilon. Os desvios padrões variaram de 0,3420 mm a 1,5142 mm, sendo que o desvio padrão médio foi de 0,7567 mm. Esse fato indica que além da macro IJ\_Rhizo possuir uma baixa acurácia, ela também possui uma baixa precisão. Além disso, ela possui uma precisão inferior ao método tradicional para estimativa do diâmetro médio.

Figura 32. Relação entre os diâmetros nominais e os estimados pela macro IJ\_Rhizo com imagens de fios de náilon de 300 dpi.

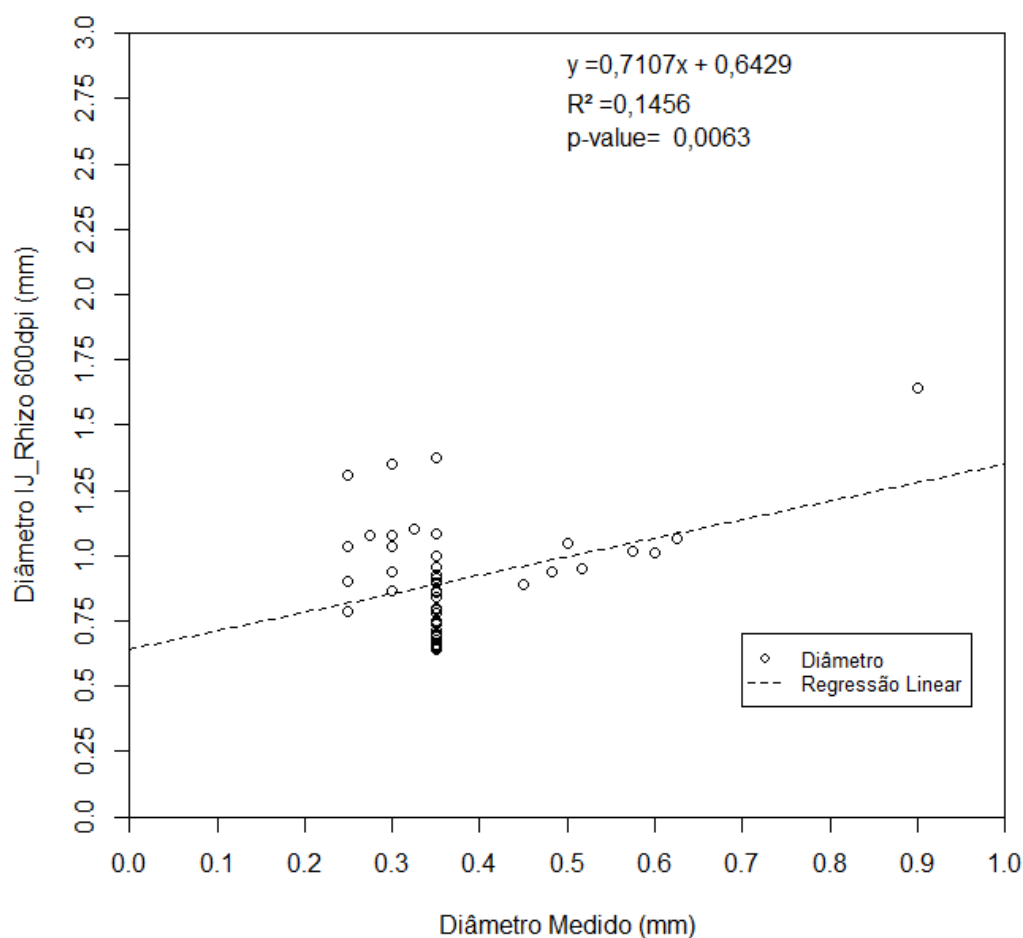


(FONTE: AUTOR, 2016)

Após aplicar o teste de Wilcoxon com nível de significância igual a 0,001, foi obtido um  $p\text{-value}$  de  $7,79 \times 10^{-10}$ . Esse fato indica que macro IJ\_Rhizo, para as imagens de fios de náilon com 300dpi, apresentou diâmetros discrepantes em relação aos diâmetros nominais. Ainda é possível observar que os diâmetros estimados e os diâmetros nominais obtiveram uma relação linear fraca, esse fato reforça que a macro não possui uma boa acurácia na estimativa do diâmetro médio.

A Figura 33 apresenta a regressão linear entre os diâmetros nominais e os diâmetros estimados pela macro IJ\_Rhizo para imagens de fio de náilon com 600 dpi. É possível observar que o coeficiente angular, após o aumento da resolução, ficou mais próximo de um. Isso pode indicar que o aumento da resolução pode ter ocasionado o aumento da acurácia na estimativa do diâmetro médio. Contrariando os resultados obtidos por Pierret et al. (2013) para o diâmetro médio, também foi obtido um coeficiente de determinação fraco de 0,1456 entre os diâmetros nominais e os diâmetros estimados pelo macro IJ\_Rhizo. Ao utilizar imagens com 600 dpi, a macro obteve coeficientes de variação de 36,05% a 96,02%, sendo que o coeficiente de determinação médio foi 58,84%. Todos os coeficientes de variação ultrapassaram o valor máximo aceitável de 5%, indicando que a macro possui uma baixa acurácia para a estimativa do diâmetro médio (SMIT et al., 2000).

Figura 33. Relação entre os diâmetros nominais e os estimados pela macro IJ\_Rhizo com imagens de fios de náilon de 600 dpi.



(FONTE: AUTOR, 2016)

Os erros relativos percentuais variaram de 68,43% a 422,96 %, sendo que o erro relativo percentual médio foi de 157,06%. Esse fato indica que mesmo após o aumento da resolução, a macro superestimou os diâmetros médios consideravelmente. Os desvios padrões variaram de 0,2043 mm a 0,7477 mm, sendo que o desvio padrão médio foi de 0,3787 mm. Isso indica que a macro teve um aumento de precisão na estimativa do diâmetro médio com o aumento da resolução. No entanto, a precisão da macro não conseguiu superar a precisão do método tradicional para a estimativa do diâmetro médio. Além disso, a macro ainda possui uma baixa precisão na estimativa do diâmetro médio mesmo com o aumento da resolução da imagem.

Após aplicar o teste de Wilcoxon com nível de significância igual a 0,001, foi obtido um *p-value* de  $7,79 \times 10^{-10}$ . Esse fato indica que macro IJ\_Rhizo, para as imagens de fios de náilon com 600dpi, apresentou diâmetros discrepantes em relação aos diâmetros nominais. Ainda é possível observar que os diâmetros estimados e os diâmetros nominais obtiveram uma relação linear fraca, mesmo com o aumento da resolução, esse fato reforça ainda mais o argumento que a macro não possui uma boa acurácia na estimativa do diâmetro médio.

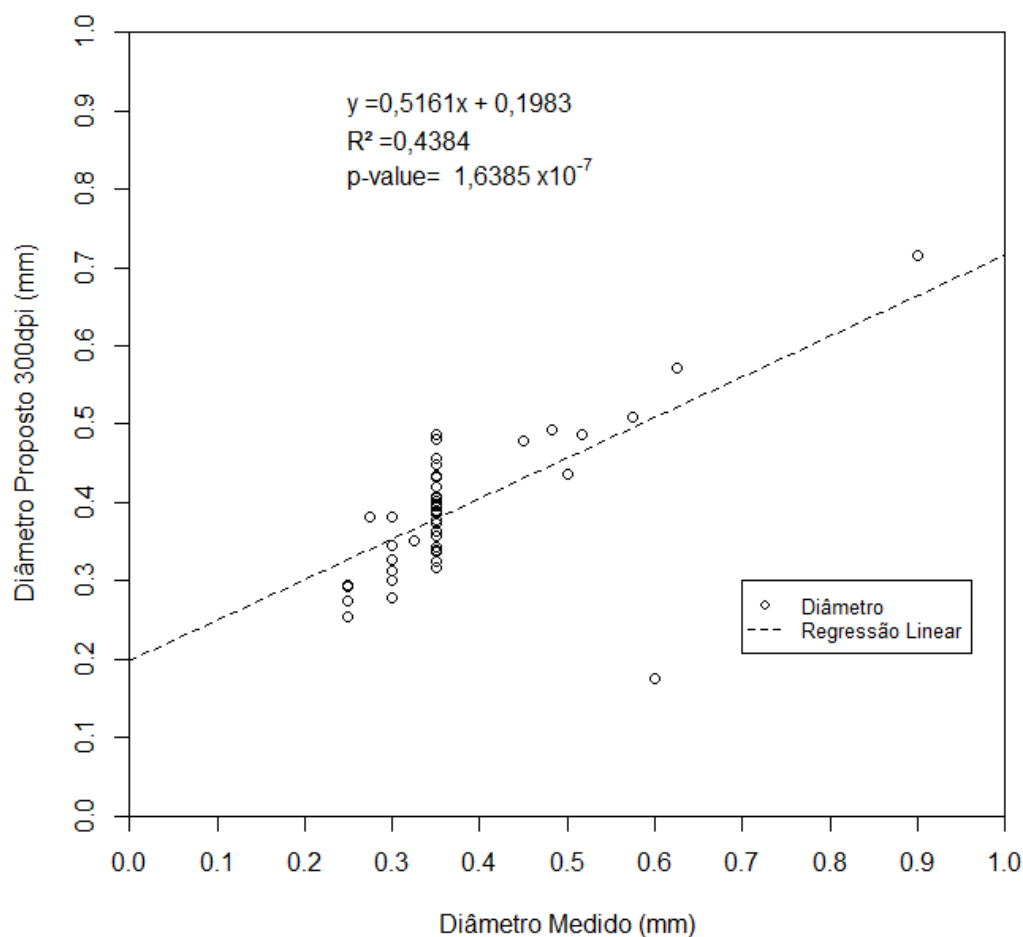
Ao comparar os resultados obtidos pela macro IJ\_Rhizo para ambas as resoluções, é possível constatar que houve o aumento da acurácia e precisão na estimativa do diâmetro médio com o aumento da resolução. Com o aumento da resolução, os coeficientes de variação reduziram em média 28,14% e os erros relativos percentuais reduziram em média 48,22%. No entanto, o aumento da resolução não foi o suficiente para compensar a baixa acurácia e precisão da macro na estimativa do diâmetro médio.

Assim como na estimativa do comprimento, a acurácia e a precisão da macro IJ\_Rhizo podem ter sido comprometidas pela utilização do padrão de imagem JPEG. Antes de realizar qualquer operação a macro converteu as imagens originalmente em formato BMP para o JPEG. Essa conversão pode acarretar a perda de dados das imagens originais, prejudicando o processo de medição. Ainda, a conversão pode intensificar o aparecimento de ruídos nas bordas dos fios de náilon dificultando a identificação e a estimativa do diâmetro médio (MARQUES FILHO e VIEIRA NETO, 1999). O baixo contraste entre o fundo e os fios de náilon, e problemas resultantes da iluminação durante a aquisição de imagens também podem ter afetado significativamente a acurácia do método (PIERRET et al., 2013).

#### 4.2.1.3 Método Proposto

A Figura 34 apresenta a regressão linear entre os diâmetros nominais e os diâmetros estimados pelo método proposto para imagens de fio de náilon com 300 dpi. Ao fim da regressão linear obteve-se um coeficiente de determinação moderado de 0,438 entre os diâmetros nominais e os diâmetros estimados pelo método proposto. O coeficiente angular inferior a um indica que o método proposto subestimou consideravelmente o diâmetro médio. No entanto, o coeficiente angular pode ter sido drasticamente influenciado devido ao erro relativo percentual de -70,79%, para o diâmetro nominal de 0,6000 mm (Tabela 6).

Figura 34. Relação entre os diâmetros nominais e os obtidos pelo método proposto para imagens de fios de náilon com 300 dpi.



(FONTE: AUTOR, 2016)

Comparando os valores de diâmetros nominais e os estimados pelo método proposto, para as imagens de fio de náilon com 300 dpi, foram obtidos coeficientes de

variação de 0,23% a 77,49%, sendo que o coeficiente de variação médio foi de 10,22%. A maioria dos coeficientes de variação (74%) ultrapassaram o valor máximo aceitável de 5% (SMIT et al., 2000). Isso indica que o método proposto demonstrou uma maior acurácia na estimativa do diâmetro médio em relação aos demais métodos. Os erros relativos percentuais variaram de -70,79% a 39,11%, sendo que o erro relativo percentual médio foi de 8%. Assim como na estimativa do comprimento, não houve um padrão bem definido para os erros de estimativa do diâmetro médio. Houve casos em que o diâmetro médio foi superestimado e subestimado. Os desvios padrões variaram de 0,0007 mm a 0,3004 mm, sendo que o desvio padrão médio foi de 0,0401 mm. Esse fato indica que o método proposto obteve uma maior precisão na estimativa do diâmetro médio em relação ao método tradicional e a macro IJ\_Rhizo.

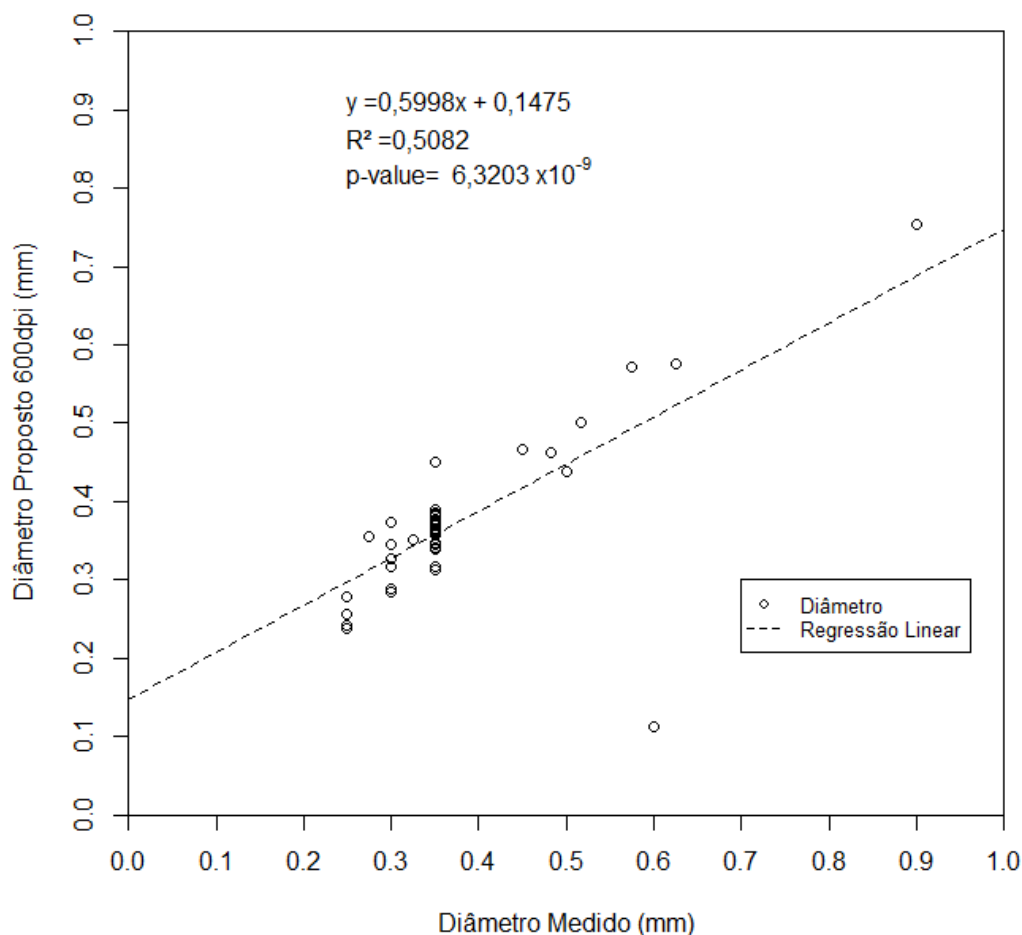
Após aplicar o teste de Wilcoxon com nível de significância igual a 0,001, foi obtido um *p-value* de  $9,785 \times 10^{-4}$ . Esse fato indica que o método proposto, para as imagens de fios de náilon com 300 dpi, apresentou diâmetros discrepantes em relação aos diâmetros nominais. Ainda é possível observar que o *p-value* obtido foi o mais próximo do nível de significância estipulado, se comparado aos outros dois métodos. Esse fato pode indicar que ao aumentar a resolução da imagem pode haver um aumento na acurácia da estimativa do diâmetro médio pelo método proposto.

A Figura 35 apresenta a regressão linear entre os diâmetros nominais e os diâmetros estimados pelo método proposto para imagens de fio de náilon com 600 dpi. Ao fim da regressão linear obteve-se um coeficiente de determinação também moderado de 0,508, entre os diâmetros nominais e os diâmetros estimados pelo método proposto. Para as imagens de fio de náilon com 600 dpi, foram obtidos coeficientes de variação de 0,54% a 96,61%, sendo que o coeficiente de variação médio foi de 7,05%. Diferente do método tradicional, 46% dos coeficientes de variação obtidos pelo método proposto foram superiores ao limite aceitável de 5% (SMIT et al., 2000). Esse fato demonstra que o aumento da resolução contribui com o aumento da acurácia do método proposto para a estimativa do diâmetro médio. Assim como as imagens de 300 dpi, o método proposto subestimou e superestimou o diâmetro para as imagens de 600 dpi, obtendo erros relativos percentuais de -81,18 % a 28,98 %, sendo que o erro relativo percentual médio foi de 1,97%.

Com aumento da resolução, os coeficientes de variação dos diâmetros obtidos pelo método proposto reduziram em média 43% e os erros relativos percentuais reduziram em média 50,83%. Esse fato demonstra que ao contrário do comprimento, o

aumento da resolução de 300 dpi para 600 dpi aumentou a acurácia na estimativa do diâmetro ao aplicar o método proposto.

Figura 35. Relação entre os diâmetros nominais e os estimados pelo método proposto para imagens de fios de náilon com 600 dpi.



(FONTE: AUTOR, 2016)

Após aplicar o teste de Wilcoxon com nível de significância igual a 0,001, foi obtido um  $p\text{-value}$  de 0,031. Esse fato indica que o método proposto, para as imagens de fios de náilon com 600 dpi, apresentou diâmetros que não diferem significativamente dos diâmetros nominais. Além disso, esse fato ajuda a confirmar a hipótese anteriormente levantada, com o aumento da resolução da imagem houve também um aumento acurácia do método proposto na estimativa do diâmetro médio.

Os desvios padrões variaram de 0,0020 mm a 0,3444 mm, sendo que o desvio padrão médio foi de 0,0264 mm. Por meio da Figura 34 e da Figura 35 é possível observar que com o aumento da resolução das imagens houve uma redução nas dispersões das estimativas dos diâmetros médios. Esses fatos indicam que ao aumentar a

resolução da imagem, o método proposto além de obter uma maior acurácia também obteve uma maior precisão na estimativa do diâmetro médio.

Com o aumento da resolução, a imagem que anteriormente era representada com menos detalhes passa a ter um nível de detalhamento maior. Isso pode aumentar o nível de detalhamento dos ruídos da imagem, assim como aumentar o nível de detalhamento das bordas dos fios de náilon e de raízes. O método proposto considerou abordagens distintas para a estimativa do comprimento total e diâmetro médio. Para a estimativa do comprimento total foram utilizados somente os esqueletos e a resolução da imagem. Além dos erros decorrentes da segmentação e das etapas anteriores, a acurácia do comprimento total pode ter sido afetada pelo nível de detalhamento da imagem. Com imagens de maior resolução, o ruído pode apresentar mais detalhes afetando o processo de afinamento. Como consequência, o esqueleto resultante da etapa de afinamento pode prejudicar na estimativa do comprimento. Por outro lado, imagens com maior resolução podem beneficiar a estimativa do diâmetro médio. Com o maior nível de detalhamento, as bordas do fio de náilon ou da raiz podem ser identificados com maior precisão, contribuindo para o aumento da acurácia na estimativa do diâmetro médio. Por exemplo, em uma imagem com 300 dpi um pixel pode representar a dimensão de 0,0847 mm, ao duplicarmos a resolução da imagem (600 dpi), um pixel passa a representar aproximadamente a dimensão de 0,0423 mm. Com uma dimensão menor, há uma maior possibilidade de se estimar o diâmetro médio com maior acurácia e precisão (ZOBEL, 2008). Portanto, uma imagem com maior resolução pode contribuir na estimativa do diâmetro médio, mas pode prejudicar a estimativa do comprimento total.

#### 4.2.2 Teste com Raízes de Milho

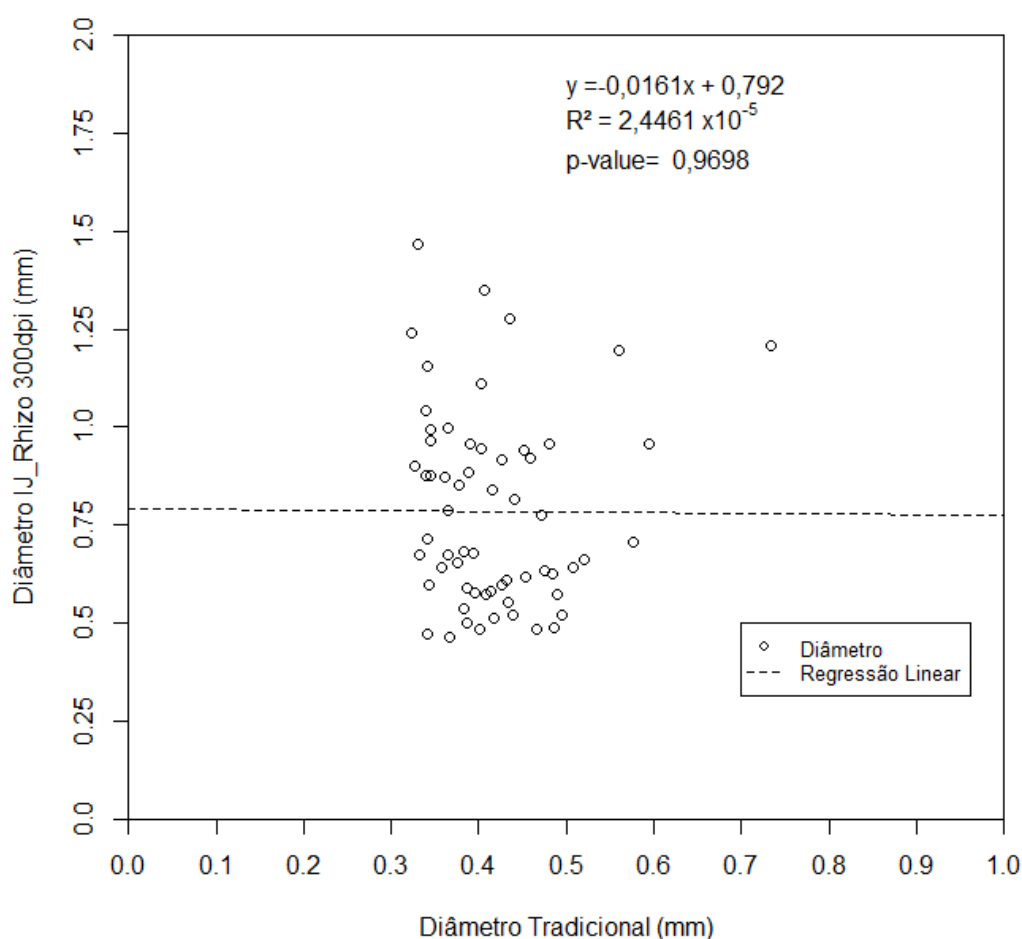
Como observado anteriormente, o método tradicional não demonstra a acurácia necessária para a obtenção do diâmetro radicular. Apesar disso, ele ainda é utilizado para a determinação do diâmetro médio radicular (SMIT et al., 2000). Para fins demonstrativos, os diâmetros médios obtidos pelo método tradicional foram comparados aos obtidos pela macro IJ\_Rhizo e pelo método proposto.



#### 4.2.2.1 Método de Tradicional e IJ\_Rhizo

A Figura 36 apresenta a relação entre os valores de diâmetro médio obtidos pelo método tradicional (SCHENK e BARBER, 1979) e os obtidos pelo macro IJ\_Rhizo, utilizando imagens de raízes de milho lavadas com resolução de 300 dpi e limiar igual a 31. Em 100% das amostras de raízes de milho o diâmetro radicular médio obtido pela macro foi superior ao método de tradicional. Isso pode ser atribuído a dois fatores principais. Durante os testes com fios de náilon, o método tradicional subestimou consideravelmente 100% dos diâmetros enquanto a macro superestimou consideravelmente também 100% dos diâmetros. Ainda, foram obtidos coeficientes de variação de 0,13% a 89,52%. Também é possível notar que foi obtido um coeficiente de determinação muito fraco entre ambos os métodos, demonstrando que os valores de diâmetro dos métodos não possuem uma relação linear entre si.

Figura 36. Relação entre os diâmetros estimados pelo método tradicional e pela macro IJ\_Rhizo, para imagens de raízes de milho com 300 dpi.

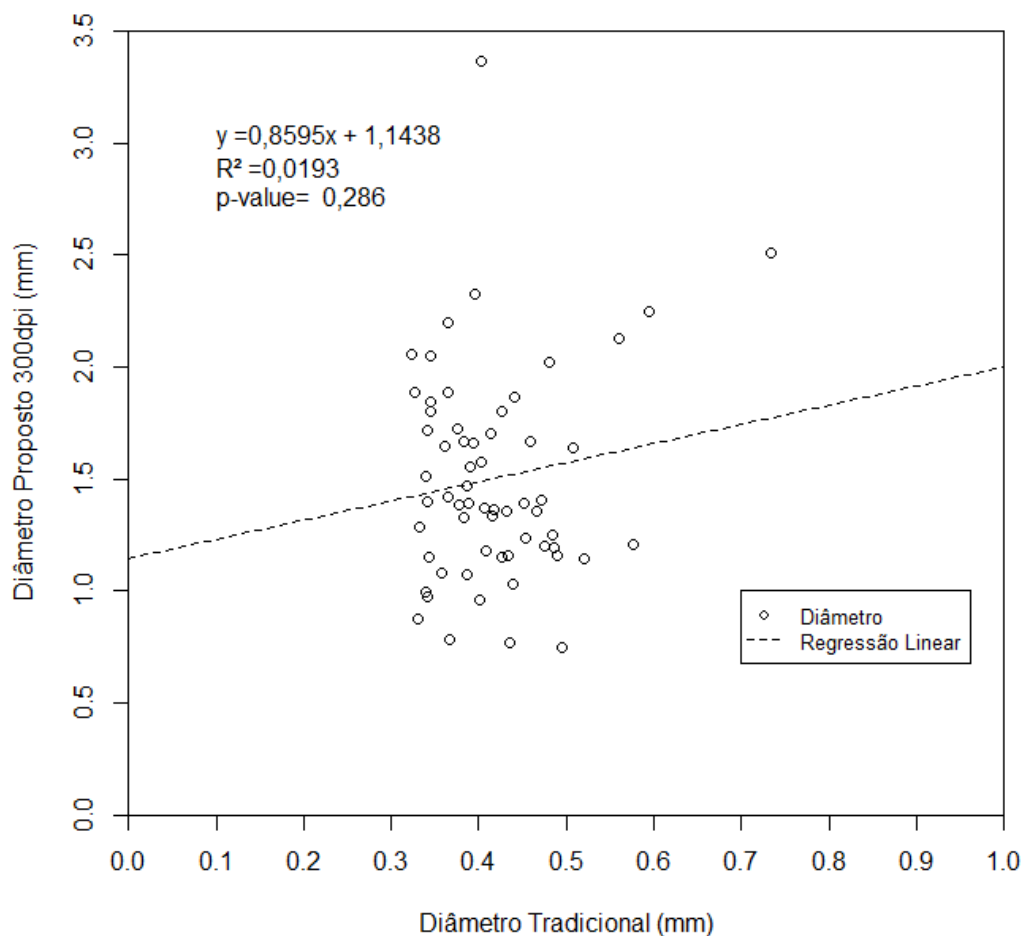


(FONTE: AUTOR, 2016)

#### 4.2.2.2 Método de Tradicional e Método Proposto

A Figura 37 apresenta a relação entre os valores de diâmetro médio obtidos pelo método tradicional (SCHENK e BARBER, 1979) e os obtidos pelo método proposto, utilizando imagens de raízes de milho lavadas com resolução de 300 dpi e limiar igual a 31. Em 100% das amostras de raízes de milho o diâmetro radicular médio obtido pelo método proposto foi superior ao método de tradicional. Isso pode ser atribuído a um fator principal. Durante os testes com fios de náilon, foi observado que o método tradicional subestimou consideravelmente 100% dos diâmetros. Ainda, foram obtidos coeficientes de variação de 28,58% a 111,12%. É possível notar que também foi obtido um coeficiente de determinação muito fraco entre ambos os métodos, demonstrando que os valores de diâmetro obtidos não possuem uma relação linear entre si.

Figura 37. Relação entre os diâmetros estimados pelo método tradicional e pelo método proposto, para imagens de raízes de milho com 300 dpi.



(FONTE: AUTOR, 2016)

## 5 CONCLUSÕES

Este trabalho teve como objetivo desenvolver um método computacional que auxiliasse na avaliação do diâmetro e comprimento radicular da cultura de milho. Buscou-se também aumentar acurácia desse processo utilizando a abordagem de processamento digital de imagens e a metodologia proposta. Para tanto, a acurácia do método proposto foi comparado a dos métodos tradicionais para medição do comprimento (TENNANT, 1975) e do diâmetro médio (SCHENK e BARBER, 1979) de raízes. A acurácia do método proposto também foi comparada a de outro método baseado em processamento de imagens (PIERRET et al., 2013).

Por meio da utilização de amostras de fios de náilon com comprimento conhecido, foi possível comprovar que o método de Tennant (1975) apresentou coeficientes superiores ao valor aceitável de 5% (SMIT et al., 2000) para a medição do comprimento no intervalo de 1000 a 30000 mm. Ainda, foi possível observar que os comprimentos foram subestimados pelo método de Tennant (1975) no mesmo intervalo. Portanto o método de Tennant (1975) não apresenta a acurácia necessária para a avaliação do comprimento radicular.

O método proposto mostrou grande potencial para medição do comprimento radicular, obtendo coeficientes de variação inferiores a 5% em mais de 95% dos casos de teste, tanto para imagens com 300dpi quanto imagens com 600 dpi. Além disso, durante os testes, o método proposto obteve coeficientes de variação inferiores ao método tradicional e a macro IJ\_Rhizo para a medição do comprimento. Esses fatos, demonstram que o método proposto possui uma maior acurácia para a medição do comprimento radicular em relação aos demais métodos testados.

Apesar do método proposto ter obtido coeficientes de variação superiores a 5% para o diâmetro médio, os coeficientes observados foram inferiores aos obtidos pelo método tradicional (SCHENK e BARBER, 1979) e pela macro IJ\_Rhizo (PIERRET et al., 2013), em mais de 95% dos casos de teste. Devido a esse fato, o método proposto torna-se mais qualificado para avaliação do diâmetro radicular médio do que os demais métodos avaliados.

Para o método proposto, ao aumentar a resolução da imagem, a acurácia da medição do diâmetro médio radicular aumentou enquanto a acurácia do comprimento radicular diminuiu. Apesar de haver uma redução na acurácia do comprimento ao utilizar imagens com 600 dpi, o método proposto ainda obteve coeficientes de variação

inferiores a 5% em 96,67 % dos casos de teste. Portanto, até 600 dpi é possível manter a acurácia desejada para a obtenção do comprimento radicular, e uma maior acurácia em relação ao método tradicional e ao macro IJ\_Rhizo para a obtenção do diâmetro médio. Mais testes devem ser realizados para definir a resolução ideal para a obtenção do comprimento e do diâmetro com coeficientes de variação inferiores a 5%.

O desempenho do método proposto ainda pode ser otimizado utilizando outras técnicas que não foram abordadas devido a limitações operacionais. Durante a aquisição de imagens, pode-se utilizar a luz de fundo uniforme para facilitar a identificação de raízes para posterior medição. Além disso, essa técnica pode reduzir o aparecimento de sombras na imagem que dificultam na posterior medição das raízes (JÄHNE, 2004). Outra técnica que pode ser utilizada para melhorar o desempenho do método proposto, é a utilização de placas gráficas para o processamento de imagens (LAGNIÈRE, 2011).

A acurácia e a precisão na medição dos parâmetros radiculares também podem ser melhoradas utilizando outras técnicas mais robustas de processamento digital de imagens. Técnicas de iluminação associadas a imagens com super-resolução, ou precisão de subpixel são utilizadas na indústria para obtenção de medidas de alta precisão e acurácia (KOLJONEN, 2010; SZELISKI, 2010).

Existe uma grande gama de etapas necessárias para avaliação de sistemas radiculares. Além da medição de parâmetros radiculares, etapas como a coleta de raízes e a lavagem de amostras de raízes merecem uma atenção em especial. A coleta de raízes por meio de sonda é demorada, desgastante, depende de fatores climáticos e requer bastante vigor, principalmente na coleta de raízes mais profundas. Apesar de ser um procedimento repetitivo, ele ainda é manual. O processo de lavagem de raízes também é um processo demorado, desgastante e requer grande volume de água (aproximadamente 2 m<sup>3</sup> neste trabalho). Além disso, como parte do mesmo processo, a separação de raízes dos demais componentes do solo requer bastante atenção, habilidade motora, paciência, e habilidade de distinção entre raízes e demais componentes (SMIT et al., 2000).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, J. A.; REINERT, D. J. Densidade Radicular do Milho Considerando os Atributos de um Solo com Horizonte B Textural. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, p. 539-549, 2001.
- ARMENGAUD, P.; ZAMBAUX, K.; HILLS, A.; SULPICE, R.; PATTISON, R. J.; BLATT, M. R.; AMTMANN, A. EZ-Rhizo: Integrated Software for the Fast and Accurate Measurement of Root System Architecture. **The Plant Journal**, v. 57, p. 945-956, 2009.
- ARSENAULT, J. L.; POULCUR, S.; MESSIER, C.; GUAY, R. WinRhizoTM, a Root-measuring System with a Unique Overlap Correction Method. **HortScience**, Alexandria, v. 30, p. 906, 1995.
- BAUHUS, J.; MESSIER, C. Evaluation of Fine Root Length and Diameter Measurements Obtained Using RHIZO Image Analysis. **Agronomy Journal**, v. 91, p. 142-147, 1999.
- BENADUCCI, D. **Nanocompósitos de Poliamida 6,6 Reciclada Reforçados com Nanofibras de Celulose para Aplicação em Peças Automotivas**. 2014, 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Engenharia de Materiais). Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.
- BEYER, F.; HERTEL, D.; LEUSCHNER, C. Fine Root Morphological and Functional Traits in *Fagus sylvatica* and *Fraxinus excelsior* saplings as dependent on species, root order and competition. **Plant and Soil**, v. 373, n. 1, p. 143-156, 2013.
- BHADORIA, P. S.; DESSOUGI, H. E.; LIEBERSBACH, H.; CLASSEN, N. Phosphorus Uptake Kinetics, Size of Root System and Growth of Maize and Groundnut in Solution Culture. **Plant and Soil**, v. 262, p. 327-336, 2004.
- BLAND, W. L.; MESARCH, M. A. Counting Error in the Line-Intercept Method of Measuring Root Length. **Plant and Soil**, v. 125, p. 155-157, 1990.
- BLUM, H. A Transformation for Extracting New Descriptors of Shape. **Models for the Perception of Speech and Visual Form**, v. 19, n. 5, p. 362-380, 1967.
- BÖHM, W. **Methods of Studying Root Systems**. Springer, 1979.
- BRADSKI, G.; KAEHLER, A. **Learning OpenCV**. O'Reilly Media, 2008.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Coordenação Geral de Apoio Laboratorial (2009). **Glossário Ilustrado de Morfologia**. 1 ed. Brasília, DF, p. 340, 2009.
- BUCZKO, U.; KUCHENBUCH, R. O.; GERKE, H. H. Evaluation of a Core Sampling Scheme to Characterize Root Length Density of Maize. **Plant and Soil**, v. 316, p. 205-215, 2009.

CAIRES, E. F.; FONSECA, A. F.; FELDHAUS, I. C.; BLUM, J. Crescimento Radicular e Nutrição da Soja Cultivada no Sistema Plantio Direto em Resposta ao Calcário e Gesso na Superfície. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 25, n. 4, p. 1029-1040, 2001.

CAIRES, E. F.; BARTH, G.; GARBUJO, F. J.; KUSMAN, M. T. Correção da Acidez do Solo, Crescimento Radicular e Nutrição do Milho de Acordo com a Calagem na Superfície em Sistema Plantio Direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 26, n. 4, p. 1011-1022, 2002.

CAIRES, E. F.; ZARDO FILHO, R.; BARTH, G.; JORIS, H. A. W. Optimizing Nitrogen Use Efficiency for No-Till Corn Production by Improving Root Growth and Capturing  $\text{NO}_3\text{-N}$  in SubSoil. **Pedosphere**, v. 26, n. 4, p. 474-485, 2016.

CANADELL, J.; JACKSON, R. B.; EHLERINGER, J. R.; MOONEY, H. A.; SALA, O. E.; SCHULZE, E.-D. Maximum Rooting Depth of Vegetation Types at the Global Scale. **Oecologia**, v. 108, p. 583-595, 1996.

CORREA, S. M. B. B. **Probabilidade e Estatística**. 2 ed. Belo Horizonte: PUC Minas Virtual, 2003.

COSTA, L. da F.; CESAR JUNIOR, R. M. **Shape Analysis and Classification: Theory and Practice**. CRC Press, 2000.

CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; ALVARENGA, R. C.; GONTIJO NETO, M. M.; VIANA, J. H. M.; OLIVEIRA, M. F. de; SANTANA, D. P. Manejo da Cultura do Milho. **Circular Técnica**. Sete Lagoas, n. 87, 12 p., 2006.

DI RUBERTO, C.; DEMPSTER, A. Circularity Measures Based on Mathematical Morphology. **Electronics Letters**, v. 36, n. 20, p. 1691-1693, 2000.

DUBE, E. D. N.; MADANZI, T.; KAPENZI, A.; MASVAYA, E. Root Length Density in Maize/Cowpea Intercropping Under a Basin Tillage System in a Semi-Arid Area of Zimbabwe. **American Journal of Plant Sciences**, v. 5, n. 11, p. 1499-1507, 2014.

EDWARDS, J. **Maize Growth and Development**. NSW Department of Primary Industries, 2009.

FEOFILOFF, P.; KOHAYAKAWA, Y.; WAKABAYASHI, Y. **Uma Introdução à Teoria dos Grafos**. São Paulo, 2011. Disponível em: <<http://www.ime.usp.br/~pf/teoriadosgrafos/>>. Acesso em: 25 out. 2014.

FREDDI, O. DA S.; CENTURION, J. F.; BEUTLER, A. N.; ARATANI, R. G.; LEONEL, C. L. Compactação do Solo no Crescimento Radicular e Produtividade da Cultura do Milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, n. 4, p. 627-636, 2007.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. **Processamento de Imagens Digitais**. São Paulo: Editora Edgard Blücher LTDA, 2000.

GRANT, R. S.; MATTHEWS, M. A. The Influence of Phosphorus Availability and Rootstock on Root System Characteristics, Phosphorus Uptake, Phosphorus Partitioning, and Growth Efficiency. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 47, n. 4, p. 403-409, 1996.

GREGGIO, N.; BERNARDINO, A.; LASCHI, C.; DARIO, P.; SANTOS-VICTOR, J. Fast Estimation of Gaussian Mixture Models for Image Segmentation. **Machine Vision and Applications**, v. 23, p. 773-779, 2012.

HIMMELBAUER, M. L.; LOISKANDL, W.; KASTANEK, F. Estimate Length, Average Diameter and Surface Area of Roots Using Two Different Image Analyses Systems. **Plant and Soil**, v. 260, p. 111-120, 2004.

JAGNA, A.; BHIMA, K. An Improved Order Independent Parallel Thinning Algorithm for Image Thinning. **International Journal of Computer Applications**, v. 46, n. 3, 2012.

JÄHNE, B. **Practical Handbook on Image Processing Scientific and Technical Applications**. 2 ed. CRC Press, 2004.

JIN, K.; SHEN, J.; ASHTON, R. W.; DODD, I. C.; PARRY, M. A. J.; WHALLEY, W. R. How Do Roots Elongate in a Structured Soil? **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 15, p. 4761-4777, 2013.

KASPAR, T. C.; EWING, R. P. ROOTEDGE: Software for Measuring Root Length from Desktop Scanner Images. **Agronomy Journal**, v. 89, n. 6, p. 932-940, 1997.

KIMURA, K.; KIKUCHI, S.; YAMASAKI, S. Accurate Root Length Measurement by Image Analysis. **Plant and Soil**, v. 216, p. 117-127, 1999.

KIMURA, K.; YAMASAKI, S. Root Length and Diameter Measurement Using NIH Image: Application of the Line-Intercept Principle for Diameter Estimation. **Plant and Soil**, v. 234, p. 37-46, 2001.

KIRCHHOF, G. Measurement of Root Length and Thickness Using a Hand-Held Computer Scanner. **Field Crops Research**, v. 29, p. 79-88, 1992.

KOLJONEN, J. **Computer Vision and Optimization Methods Applied to the Measurements of In-plane Deformations**. Vaasan Yliopisto, 2010.

KROON, H. de; VISSER, E. J. W. **Root Ecology**. Springer, 2003.

KUCHENBUCH, R. O., INGRAM, K. T.; BUCZKO, U. Effects of Decreasing Soil Water Content on Seminal and Lateral Roots of Young Maize Plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 169, p. 841-848, 2006.

KWON, J. Improved Parallel Thinning Algorithm to Obtain Unit-Width Skeleton. **The International Journal of Multimedia & Its Applications**, v. 5, n. 2, p. 1-14, 2013.

KWON, J.; GI, J.; KANG, E. An enhanced thinning algorithm using parallel processing. In: PROCEEDINGS 2001 INTERNATIONAL CONFERENCE ON IMAGE PROCESSING, v. 3, 2001.

LAGNIÈRE, R. **OpenCV 2 Computer Vision Application Programming CookBook**. Pakt Publishing, 2011.

LARSON, R.; FARBER, B. **Estatística Aplicada**. 4 ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2010.

LEBOWITZ, R. J. Digital Image Analysis Measurement of Root Length and Diameter. **Environmental and Experimental Botany**, v. 28, p. 267-273, 1988.

LEITNER, D.; MEUNIER, F.; BODNER, G.; JAVAUX, M.; SCHNEPF, A. Impact of Contrasted Maize Root Traits at Flowering on Water Stress Tolerance – A Simulation Study. **Field Crops Research**, v. 165, p. 125-137, 2014.

LIU, J.; CHEN, F.; OLOKHNUUD, C.; GLASS, A. D. M.; TONG, Y.; ZHANG, F.; MI, G. Root Size and Nitrogen-Uptake Activity in Two Maize (*Zea mays*) Inbred Lines Differing in Nitrogen-Use Efficiency. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 172, p. 230-236, 2009.

LIVESLEY, S. J.; STACEY, C. L.; GREGORY, P. J.; BURESH, R. J. Sieve Size Effects on Root Length and Biomass Measurements of Maize (*Zea mays*) and *Grevillea robusta*. **Plant and Soil**, v. 207, p. 183-193, 1999.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. Fisiologia da Produção de Milho. **Circular Técnica**. Sete Lagoas, n.76, 10 p., 2006.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; CARNEIRO, N. P.; PAIVA, E. Fisiologia do Milho. **Circular Técnica**. Sete Lagoas, n.22, 23 p., 2002.

MAIRHOFER, S.; ZAPPALA, S.; TRACY, S.; STURROCK, C.; BENNETT, M. J.; MOONEY, S. J.; PRIDMORE, T. P. Recovering Complete Plant Root System Architectures from Soil via X-ray  $\mu$ -Computed Tomography. **Plant Methods**, v. 9, n.8, p.1-7, 2013.

MARQUES FILHO, O.; VIEIRA NETO, H. **Processamento Digital de Imagens**. Rio de Janeiro: Brasport, 1999.

MARSH, B. a'B. Measurement of Length in Random Arrangements of Lines. **Journal of Applied Ecology**, v. 8, n. 1, p. 265-267, 1971.

MATERECHERA, S. A.; MLOZA-BANDA, H. R. Soil Penetration Resistance, Root Growth and Yield of Maize as Influenced by Tillage System on Ridges in Malawi. **Soil & Tillage Research**, v. 41, p.13-24, 1997.

MURAKAMI, T.; YONEYAMA, T. Comparison of Root Length of Two Rice (*Oryza sativa* L.) Varieties by Using an Image Analyzer. **Plant and Soil**, v. 105, n. 2, p. 287-289, 1988.



NAME, M. H. **Método Computacional para Avaliação do Crescimento Radicular da Cultura da Soja**. 2013, 62 f. Dissertação (Mestrado em Computação Aplicada). Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2013.

NAME, M. H.; RIBEIRO, S. S.; MARUYAMA, T. M.; VALLE, H. DE P.; FALATE, R.; VAZ, M. S. M. G. Metadata Extraction for Calculating Object Perimeter in Images. **Latin America Transactions, IEEE**, v. 12, n. 8, p. 1566-1571, 2014.

NEWMAN, E. I. A Method of Estimating the Total Length of Root in a Sample. **Journal of Applied Ecology**, v. 3, n. 1, p. 139-145, 1966.

NING, P.; LI, S.; WHITE, P. J.; LI, C. Maize Varieties Released in Different Eras Have Similar Root Length Density Distributions in the Soil, Which Are Negatively Correlated with Local Concentrations of Soil Mineral Nitrogen. **PLoS ONE**, v. 10, n.3, 2015.

NINOMIYA, K.; TSUSHIMA, Y.; KINO-OKA, M.; TAYA, M. An Automatic Image Analyzing System for Evaluation of Elongating Behavior of Plant Hairy Roots Exposed to Herbicidal Stimuli. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 96, n. 1, p. 98-101, 2003.

OTSU, N. A Threshold Selection Method for Gray-level Histogram. **IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics**, v. 9, n. 1, p. 62-66, 1979.

PEREIRA FILHO, I. A. **O Cultivo do Milho Verde**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2002.

PIERRET, A.; GONKHAMDEE, S.; JOURDAN, C.; MAEGHT, J. IJ\_Rhizo: an open-source software to measure scanned images of root samples. **Plant and Soil**, v. 373, n. 1-2, jul. 2013.

REDJALA, T.; ZELKO, I.; STERCKEMAN, T.; LEGUÉ, V.; LUX, A. Relationship Between Root Structure and Root Cadmium Uptake in Maize. **Environmental and Experimental Botany**, v. 71, p. 241-248, 2011.

RICHARDS, F.; GOUBRAN, F. H.; GARWOLI, W. N.; DALY, M. W. A Machine for Determining Root Length. **Plant and Soil**, v. 52, n. 1, p. 69-76, 1979.

ROOSE, T. **Mathematical Model of Plant Nutrient Uptake**. 2000, 226 f. Tese (Doutorado em Filosofia). Universidade de Oxford, 2000.

ROWSE, H. R.; PHILLIPS, D. A. An Instrument for Estimating the Total Length of Root in a Sample. **Journal of Applied Ecology**, v. 11, n. 1, p. 309-314, 1974.

SCHENK, M. K.; BARBER, S. A. Root Characteristics of Corn Genotypes as Related to P Uptake. **Agronomy Journal**, v. 71, n. 6, p. 921-924, 1979.

SCHNEIDER, C. A.; RASBAND, W. S.; ELICEIRI, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 Years of Image Analysis. **Nature Methods**, v. 9, n. 7, p. 671-675, 2012.

SHIMADZU. Shimadzu Corporation Kyoto Japan, Analytical & Measuring Instruments Division (2007). **Instruction Manual for Eletronic Balance**. Quioto, 2007. Disponível em: <http://www.shimadzu.com/an/balance/analytical/n9j25k0000015nsz-att/n9j25k0000015w9y.pdf>. Acesso em: 15 ago. 2016.

SILVA, M. A. de A. e. **Desenvolvimento Radicular das Culturas de Feijão, Soja e Milho, Sob Diferentes Manejos de Solo, Irrigadas por Pivô Central**. 2007, 140 f. Tese(Doutorado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2007.

SILVA, V. R.; REINERT, D. J.; REICHERT, J. M. Densidade do Solo, Atributos Químicos e Sistema Radicular do Milho Afetados Pelo Pastejo de Manejo do Solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 24, p. 1991-1999, 2000.

SMIT, A. L.; SPRANGERS, J. F. C. M.; SABLİK, P. W.; GROENWOLD, J. Automated Measurement of Root Length with a Three-dimensional High-Resolution Scanner and Image Analysis. **Plant and Soil**, v. 158, p. 145-149, 1994.

SMIT, A. L.; BENGOUGH, A. G.; ENGELS, C.; VAN NOORDWIJK, M.; PELLERIN, S.; VAN DE GEIJN, S. C. **Root Methods: A Handbook**. Berlim: Springer-Verlag, 2000.

SUZUKI, S.; ABE, K. Topological Structural Analysis of Digitized Binary Images by Border Following. **Computer Vision, Graphics, and Image Processing**, v. 30, p. 32-46, 1985.

SZELISKI, R. **Computer Vision: Algorithms and Applications**. Springer, 2010.

TANAKA, S.; YAMAUCHI, A.; KONO, Y. Easily Accessible Method for Root Length Measurement Using an Image Analysis System. **Japanese Journal of Crop Science**, v. 64, n. 1, p. 144-147, 1995.

TENNANT, D. A Test of a Modified Line Intersect Method of Estimating Root Length. **Journal of Ecology**, v. 63, n. 3, p. 995-1001, nov. 1975.

THIVIERGE, M.; ANGERS, D. A.; CHANTIGNY, M. H.; SEGUIN, P.; VANASSE, A. Root Traits and Carbon Input in Field-Grown Sweet Pearl Millet, Sweet Sorghum, and Grain Corn. **Agronomy Journal**, v. 108, n. 1, 2016.

TISSI, J. A. **Crescimento Radicular e Nutrição de Milho (*Zea mays L.*) Cultivado em Sistema de Plantio Direto em Função da Aplicação Superficial de Calcário em Latossolo Argiloso**. 2001, 75 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2001.

VAN NOORDWIJK, N.; BROUWER, G. Review of Quantitative Root Length Data in Agriculture. In: MCMICHAEL, B.L.; PERSSON, H., eds. **Plant roots and their environment**. New York, Elsevier, p. 515-525, 1991.

VAN NOORDWIJK, N.; VAN DE GEIJN, S. C. Root, Shoot and Soil Parameters Required for Process-Oriented Models of Crop Growth limited by Water or Nutrients. **Plant and Soil**, v. 183, p. 1-25, 1996.

WANG, H.; SIOPONGCO, J.; WADE, L. J.; YAMAUCHI, A. Fractal Analysis on Root Systems of Rice Plants in Response to Drought Stress. **Environmental and Experimental Botany**, v. 65, p. 338-344, 2009.

WASSON, A. P.; RICHARDS, R. A.; CHATRATH, R.; MISRA, S. C.; PRASAD, S. V. S.; REBETZKE, G. J.; KIRKEGAARD, J. A.; CHRISTOPHER, J.; WATT, M. Traits and Selection Strategies to Improve Root Systems and Water Uptake in Water-Limited Wheat Crops. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 9, p. 3485-3498, 2012.

WIESLER, F.; HORST, W. J. Root Growth and Nitrate Utilization of Maize Cultivars Under Field Conditions. **Plant and Soil**, v. 163, p. 267-277, 1994.

WU, Q.; CHEN, F.; CHEN, Y.; YUAN, L.; ZHANG, F.; MI, G. Root Growth in Response to Nitrogen supply in Chinese maize hybrids released between 1973 and 2009. **Science China**, v. 54, n. 7, p. 642-650, 2011.

XIA, H.; ZHAO, J.; SUN, J.; BAO, X.; CHRISTIE, P.; ZHANG, F.; LI, L. Dynamics of Root Length and Distribution and Shoot Biomass of Maize as Affected by Intercropping with Different Companion Crops and Phosphorus Application Rates. **Field Crops Research**, v. 150, p. 52-62, 2013.

ZHANG, T. Y.; SUEN, C. Y. A Fast Parallel Algorithm for Thinning Digital Patterns. **Communications of the ACM**, v. 27, n. 3, p. 236-239, mar. 1984.

ZHUANG, J.; YU, G. R.; NAKAYAMA, K. Scaling of Root Length Density of Maize in Field Profile. **Plant and Soil**, v. 235, p. 135-142, 2001.

ZOBEL, R. W. Sensitivity Analysis of Computer-Based Diameter Measurement from Digital Images. **Crop Science**, v. 43, p. 583-591, n. 2, 2003.

ZOBEL, R. W. Hardware and Software Efficacy in Assessment of Fine Root Diameter Distributions. **Computer and Electronics in Agriculture**, v. 60, p. 178-189, 2008.

ZOON, F. C.; TIENDEREN, P. H. A Rapid Quantitative Measurement of Root Length and Root Branching by Microcomputer Image Analysis. **Plant and Soil**, v. 126, p. 301-308, 1990.