

UM MÉTODO SIMPLES E DE BAIXO CUSTO PARA A ESTIMATIVA DAS DIMENSÕES DA SUPERFÍCIE FOLIAR

Karla Gabriele Florentino da Silva ¹; Jonas Magalhães Moreira ²; Luiz Maurílio da Silva Maciel ³; Márcio Assis Miranda ⁴; Leandro Elias Morais ⁵;

1 Karla Gabriele Florentino da Silva (CNPq), Bacharelado em Sistemas de Informação, IFMG Campus Ouro Branco, Ouro Branco - MG; karlaflorentino1999@gmail.com

2 Jonas Magalhães Moreira, Técnico em Informática, IFMG Campus Ouro Branco, Ouro Branco - MG

3 Luiz Maurílio da Silva Maciel, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora – MG

4 Márcio Assis Miranda, IFMG Campus Ouro Branco, Ouro Branco - MG

5 Orientador: Leandro Elias Morais, Campus Ouro Branco; leandro.morais@ifmg.edu.br

RESUMO

A folha é o órgão do corpo vegetal que realiza a fotossíntese e sua área é um dos parâmetros morfológicos que mais respondem às secas, mudanças climáticas e ataque de patógenos, associados ao acúmulo de biomassa e produtividade agrícola. Além disso, a área foliar e outros dados de superfície (por exemplo, largura e comprimento) são amplamente utilizados em estudos de anatomia e fisiologia das plantas. Os métodos de medição destes parâmetros de superfície foliar são frequentemente complicados e caros. Portanto, este trabalho visa desenvolver um método simples e de baixo custo, capaz de medir com acurácia as dimensões da superfície foliar de espécies vegetais com interesse agrícola significativo. O método proposto extrai as informações necessárias através de imagens de folhas acompanhadas de um padrão de escala cuja área real é conhecida, capturada por uma câmera simples. Além dos testes com folhas, foram realizados experimentos utilizando objetos cujas dimensões são conhecidas, de modo a avaliar a acurácia do método. Para os testes controlados, foi impresso um padrão contendo quatro elipses e o padrão de escala. O método obteve, para estes testes, uma forte correlação entre os valores estimados pelo método proposto e os valores esperados, com $R^2 > 0,96$ para todas as dimensões. Para os testes com folhas, a amostra continha 42 folhas de 3 espécies: Feijão, Algodão e Milho. Em geral, em comparação com os métodos manuais, o método teve melhor desempenho para a área e perímetro com R^2 igual a 0.996 e 0.986, respectivamente. Foram utilizados dispositivos simples para capturar as imagens para os testes. Os resultados alcançados foram promissores no que diz respeito ao método de comparação adotado. Isto indica a possibilidade real de utilizar a ferramenta.

INTRODUÇÃO:

As folhas constituem o órgão do corpo vegetal, capaz de converter a energia solar em energia química por meio da fotossíntese (EVERT e EICHHORN, 2014). Dada a sua importância, o crescimento e desenvolvimento vegetal é determinado pela morfologia desse órgão, especialmente sua área foliar – o maior componente de acúmulo de biomassa e produtividade (TAIZ e ZEIGER, 2010). O tamanho e morfologia da folha sofre uma variação intra e interespecífica e, deste modo, muitos parâmetros fisiológicos (e.g. fotossíntese e respiração foliar) são normalizados pela sua área foliar a fim de estudar a relação entre eles (OSNAS *et al.*, 2013).

A superfície foliar (determinada pela área) é fortemente usada para investigar respostas de vegetais a diferentes condições ambientais, como o efeito da aplicação de defensivos agrícolas (MAREK *et al.* 2018), fertilidade do solo (LAUGHLIN, 2011), disponibilidade de água no solo/seca (WELLSTEIN *et al.*, 2017), disponibilidade de luz (POORTER e BONGERS, 2006), mudanças climáticas (SRINIVASAN *et al.*, 2017), fitopatógenos (LU *et al.*, 2018), *screening* de genótipos para melhoramento (WERADUWAGE *et al.*, 2015), poluição (JANHÄLL, 2015). Com efeito, a área foliar *per se* (e derivações a partir desta) é uma poderosa ferramenta utilizada por profissionais ligados a diversas áreas do conhecimento, como melhoristas vegetais, botânica, fitopatologia, ecólogos e agrônomos.

O crescimento da área foliar de um vegetal determina a interceptação de luz e é um parâmetro importante na determinação da produtividade da planta (KOESTER *et al.*, 2014). A área foliar *per se* é um dos principais parâmetros de respostas ao déficit hídrico em diversas espécies de interesse agrícola e, portanto, amplamente utilizado em estudos envolvendo seca (WELLSTEIN *et al.*, 2017). Há uma relação positiva entre a produtividade de grãos de arroz e a área foliar, entretanto, uma relação negativa entre a porcentagem de

proteína de grãos com a área foliar (AL-TAHIR, 2014). Ainda, no Japão, Goto et al. (2016) mostraram que um ataque de insetos removeu cerca de 30% de área foliar de soja, implicando em perda de tecido fotossintetizante e queda expressiva de produtividade. Isso demonstra que o parâmetro área foliar é uma ferramenta robusta para estudar desempenho de espécies vegetais de interesse agrícola em diferentes condições ambientais.

Recentemente, um estudo em soja (uma das maiores *comodities* agrícolas do mundo), mostrou que num cenário esperado de aumento da concentração de CO₂ atmosférico, a redução de área foliar poderia aumentar a produtividade desta cultura (SRINIVASAN *et al.*, 2017). Em suma, a área foliar de espécies lenhosas é uma das principais respostas às ondas de calor, previstas em mudanças climáticas (TESKEY et al., 2015). Esses e outros estudos (LIANCOURT et al., 2015; FILEWOD e THOMAS, 2014) apontam a importância deste parâmetro em estudos de ecofisiologia envolvendo mudanças climáticas. Destaca-se que a partir da área foliar pode-se derivar outros parâmetros utilizados como ferramentas para medir respostas das plantas a fatores bióticos e abióticos, além disso, *screening* de genótipos em trabalhos de melhoramento.

Há equipamentos que medem as dimensões foliares com grande precisão, mas são bastante caros, custando cerca de US\$ 3,500.00 (cotação realizada em janeiro de 2021). Para o método proposto, não há necessidade de adquirir equipamento extra. Além disso, é possível estimar a área foliar usando modelos alométricos (equações) que usam variáveis de morfologia foliar (e.g. comprimento e largura), ajustados para cada espécie e/ou cultivo. Entretanto, para criação desses modelos é necessária uma elevada quantidade de folhas amostradas, como feito por Antunes et al. (2008), que analisaram 1563 folhas de café. Destaca-se que esses modelos estimam a área foliar de uma única folha por vez e em ensaios com muitas unidades amostrais tornar-se-á a aferição deste parâmetro um processo moroso e trabalhoso. Há, portanto, a necessidade de desenvolver metodologias práticas e desoneradas, a fim de garantir a execução de trabalhos que demandem aferição da área foliar com celeridade e acurácia.

Existem atualmente algumas soluções computacionais para a determinação da área foliar. Porém, os *softwares* disponíveis que permitem esse cálculo, tais como o ImageJ (IMAJEJ, 2018), são softwares para análise de imagens de modo geral, não apresentando uma *interface* intuitiva para o usuário que não tem conhecimento na área de processamento de imagens. Existem também alguns aplicativos para dispositivos móveis que permitem o cálculo da área foliar, entre eles o Petiole (PETIOLE, 2018) e o Easy Leaf Area Free (EASLON e BLOOM, 2014). Testes realizados mostraram que o aplicativo Petiole não apresenta um correto funcionamento em diversos dispositivos testados, não sendo possível realizar a calibração da câmera e, conseqüentemente, o cálculo da área foliar. Por outro lado, o aplicativo Easy Leaf Area Free permite o cálculo da área foliar, utilizando um quadrado vermelho de 2 cm de lado como padrão de escala. Esse aplicativo exige que seja feita uma calibração de cores para identificar a tonalidade correta do verde da folha e do vermelho do quadrado de escala. Uma solução mais simples seria trabalhar somente com tons de cinza. Utilizando um plano de fundo que permita contraste com os objetos (folha e padrão de escala) é possível extrair sua forma sem a necessidade de calibração de cores. Além disso, nenhum desses aplicativos apresenta funcionalidade de determinação do comprimento, largura e perímetro foliar.

Neste trabalho, pretende-se desenvolver um método simples e de baixo custo para cálculo das dimensões foliares. O método poderá ser usado em um *software desktop* ou em um aplicativo para dispositivos móveis, permitindo que o pesquisador utilize a versão para dispositivo móvel para realizar as aferições em campo e a versão para computador, caso deseje realizar as medidas em laboratório. Para a determinação das dimensões foliares será necessário apenas um padrão de escala impresso em papel e imagens capturadas por uma câmera simples. A aplicação apresenta as seguintes características, as quais são as principais contribuições do trabalho: baixo custo, simplicidade e facilidade de uso por um profissional da área de biologia/agronomia que não possua conhecimentos em processamento de imagens e detecção automática do padrão de escala e das folhas, sem a necessidade de calibração de cores ou identificação da localização dos objetos.

METODOLOGIA:

O método proposto para estimativa das dimensões foliares consiste em seis etapas: captura, limiarização, obtenção dos contornos, filtragem, detecção dos objetos, e cálculo das dimensões.

Etapa de Captura

Primeiro deve-se imprimir o padrão de escala, que consiste em um quadrado preto cuja área real é conhecida. Depois, deve-se planificar a folha, utilizando, por exemplo, uma placa de vidro para mantê-la esticada. O fundo sobre o qual a folha é colocada deve ser claro e deve-se evitar reflexos. Recomenda-se que a foto seja tirada preferencialmente a uma distância em torno de 30 cm, em um ângulo perpendicular ao plano onde se encontram a folha e o padrão.

Etapa de Limiarização

Na etapa de captura é obtida uma imagem colorida I_c . Para realizar a detecção é necessário realizar uma limiarização na imagem. Inicialmente é aplicada a função *cvtColor*, implementada pela biblioteca OpenCV (BRADSKI, 2000), gerando uma nova imagem I_g . A maioria das funções citadas no método foram implementadas utilizando essa biblioteca na linguagem de programação C++.

Na nova imagem gerada I_g é aplicado a limiarização Otsu (OTSU, 1979). Este método transformará a imagem em escala de cinza I_g em uma imagem binarizada I_b .

Etapa de Obtenção dos Contornos

Nesta etapa, os contornos dos objetos de interesse, ou seja, as folhas e o padrão de escala são obtidos pela aplicação da função *findContours*, a qual implementa o algoritmo descrito em (SUZUKI et al., 1985) na imagem I_b . Este método extrai um conjunto \mathbf{C} , onde cada \mathbf{C}_i é um contorno, representado pelo conjunto de pontos (*pixels*) que o compõem.

Etapa de Filtragem

O conjunto \mathbf{C} contém, além dos contornos dos objetos de interesse, alguns ruídos que são eliminados por meio de uma filtragem. Aplica-se a função *contourArea*, a qual calcula a área em *pixels* dos contornos por meio da fórmula de Green (STEWART, 2009), obtendo-se o conjunto de áreas \mathbf{A} . As áreas do conjunto \mathbf{A} que não estão no intervalo $[a_{min}, a_{max}]$ são descartadas, assim como seus respectivos contornos. Obtêm-se assim os conjuntos $\mathbf{C}^f \subseteq \mathbf{C}$ e $\mathbf{A}^f \subseteq \mathbf{A}$ dos contornos e áreas, respectivamente, resultantes da filtragem.

Etapa de Detecção dos Objetos

De modo a automatizar o processo, é necessário separar o padrão de escala. Para isso, em cada contorno do conjunto \mathbf{C}^f é realizada uma aproximação poligonal por meio da aplicação da função *approxPolyDp*, a qual implementa o algoritmo de Douglas-Peucker (DOUGLAS et al., 1973), que faz uma redução dos pontos presentes, gerando um novo conjunto \mathbf{C}_p .

Para determinação do contorno $\mathbf{C}^{p_s} \in \mathbf{C}_p$ que representa o quadrado, analisam-se as seguintes condições: o número de pontos de \mathbf{C}^{p_s} deve ser igual a 4 e o $|\cos(\theta)| < 0.3$ para todos os 4 ângulos internos do polígono. Ao final do processo, tem-se a respectiva área do quadrado em *pixels* $a_s \in \mathbf{A}^f$ e o conjunto das áreas das folhas $\mathbf{A}^l = \mathbf{A}^f - \{a_s\}$.

Etapa de Cálculo das Dimensões

Nesta última etapa, todos os objetos de interesse estão devidamente separados, contornados e inclusive já apresentam a área em *pixels*. O método está pronto para calcular as dimensões.

Para estimar a área foliar, uma vez conhecida a área real a^r_s do padrão de escala em cm^2 , e a área do padrão de escala a_s e de cada folha $a_i \in \mathbf{A}^l$ em *pixels*, a área real de cada folha a^r_i pode ser obtida pela seguinte equação:

Para estimar a largura e o comprimento, é aplicada a Análise de Componentes Principais (*Principal Component Analysis - PCA*) (COHEN-OR et al., 2015) em cada contorno original das folhas a fim de se encontrar a direção principal. Essa direção está associada ao comprimento da folha. Cada contorno é alinhado de modo que a direção principal coincida com o eixo horizontal da imagem. Aplica-se então a função *boundingRect* para obter o retângulo que envolve o contorno. Dessa forma, a base desse retângulo corresponderá ao comprimento da folha em *pixels* e a altura corresponderá a largura da folha em *pixels*. Para o padrão de escala, a estratégia utilizada foi determinar a largura e comprimento em *pixels* através dos vértices do contorno aproximado. E uma vez conhecidos a largura e o comprimento reais do padrão de escala em cm, as dimensões reais de cada folha podem ser obtidas pela razão o produto da medida em *pixels* da folha pela medida real do padrão e a medida em *pixels* do padrão.

Para estimar o perímetro, é aplicada a função *arcLength* sobre o contorno aproximado do padrão de escala e o contorno original de cada folha para determinar o perímetro em *pixels* deles. E uma vez conhecido o perímetro real do padrão de escala em cm, o perímetro real de cada folha pode ser obtido pela razão entre o perímetro em *pixels* da folha vezes o perímetro real do padrão e o perímetro em *pixels* do padrão.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Foram realizados experimentos com padrões controlados compostos por figuras de dimensões conhecidas, a fim de verificar a acurácia do método. Também foram realizados testes com folhas e os resultados foram comparados com outros métodos de estimativa de dimensões foliares.

Testes controlados

A fim de avaliar a precisão do método proposto, foram realizados experimentos preliminares com um padrão controlado. Para estes testes, foi utilizado um padrão contendo quatro elipses impresso com um padrão de escala de 4 cm de lado. Uma placa de vidro foi utilizada para planificar o padrão. Para capturar as imagens, foram utilizados os modelos de *smartphones* Samsung Galaxy J2 Core e Motorola MotoC e o *scanner* da impressora HP Deskjet série 2050. Os gráficos de dispersão, gerados para os testes, mostraram uma forte correlação entre os valores estimados pelo método proposto e os valores esperados. Além disso, o método proposto obteve $R^2 > 0,96$ para todas as dimensões.

Testes com folhas

A amostra de folhas utilizada foi composta por 42 folhas de 3 espécies: 18 de feijão, 11 de algodão, e 13 de milho. A distância de captura foi entre 12 e 40 cm. As folhas foram acompanhadas de padrões de escala de 1, 2 e 4 cm de lado. Uma placa de vidro foi usada para planificar as folhas e o padrão. As imagens foram capturadas por dois modelos diferentes de *smartphones*: Motorola Moto C e Motorola One Vision; e pelo *scanner* da impressora MultiXpress.

Para verificar a precisão dos resultados foram comparados dois métodos, o *software* ImageJ e um método simples, mas muito difundido, de estimativa de área foliar baseado no peso. O *software* ImageJ foi utilizado como método padrão, pois esta aplicação é amplamente utilizada por pesquisadores da literatura.

O método baseado no peso consiste em traçar o contorno da folha em um papel, cuja gramatura g é conhecida. O contorno é cortado e pesado em uma balança de precisão, obtendo o peso w . A área a é estimada pela razão entre w e g . O mesmo contorno é medido com uma regra simples para estimar a largura e o comprimento esperados. Uma linha ou barbante é passado ao redor do contorno e depois medida com uma regra para estimar o perímetro esperado.

Em geral, em comparação com os métodos manuais, o método proposto teve melhor desempenho para a área e perímetro com R^2 igual a 0.996 e 0.986, respectivamente. Considerando que para largura e comprimento, os métodos manuais foram melhores, o que pode ser justificado pela morfologia das folhas e pela alta semelhança entre a medida usando uma régua e a linha traçada pelo usuário no *software* ImageJ. Podemos destacar também que as linhas retas do método proposto apresentavam inclinação mais próxima a um, exceto no gráfico de comprimento.

Uma análise geral dos resultados, mostra que o método proposto é capaz de calcular as dimensões com alta correlação em relação a métodos de estimativa padrões. O método proposto está sendo incorporado a um *software*, com *interface* intuitiva e adequada para utilização pelos profissionais da área de fisiologia vegetal. A Figura 1 mostra uma das telas desse *software*. Está sendo desenvolvido também um aplicativo para dispositivos móveis que implementa o método proposto.

Figura 1 – Tela do *software desktop* em funcionamento.



CONCLUSÕES:

Este projeto propõe um método simples e de baixo custo para o cálculo das dimensões das folhas com base no processamento de imagens. Foram utilizados dispositivos simples para capturar as imagens para os testes. Os resultados alcançados foram promissores no que diz respeito aos métodos de comparação adotados. Isto indica a possibilidade real de utilizar a ferramenta. O método pode ser incorporado em um dispositivo móvel, que pode ser usado por um profissional de agricultura/biologia no laboratório e no campo. Esta aplicação móvel está em desenvolvimento e é um dos trabalhos futuros.

Entretanto, o método apresenta algumas limitações. É sensível ao ângulo e distância de captura, à iluminação e aos ruídos que podem aparecer na imagem. As imagens tiradas de um ângulo inclinado sofrem de distorção perspectiva. Dependendo do local de iluminação, pode causar sombras ou reflexos na imagem. Todos estes fatores comprometem o cálculo das dimensões da folha. Estas são limitações típicas das aplicações que envolvem o processamento de imagens, e pretende-se propor melhorias a fim de minimizar tais problemas.

A morfologia das folhas também é uma limitação do método, especialmente no cálculo da largura e do comprimento. Estas dimensões ainda precisam de alguns ajustes para espécies com folhas compostas e/ou trilobadas. A área e o perímetro, por outro lado, já provaram ser bastante eficientes.

Para concluir, como trabalhos futuros, pretende-se melhorar o método, especialmente no cálculo do comprimento e da largura. Espera-se ainda realizar uma melhoria na etapa de segmentação, evitando a detecção de ruídos nos contornos detectados. Finalmente, pretende-se incluir o método em um dispositivo móvel e aplicação Web.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ANTUNES, W. C. et al. Allometric models for non-destructive leaf area estimation in coffee (*coffea arabica* and *coffea canephora*). **Annals of Applied Biology**, vol. 153, no. 1, pp. 33–40, 2008.
- BRADSKI, G. **The opencv library**. Dr Dobb's J. Software Tools, vol. 25, pp. 120–125, 2000.
- COHEN-OR, D.; GREIF, C.; JU, T.; MITRA, N. J.; SHAMIR, A.; SORKINE-HORNUNG, O.; ZHANG, H. R.; 2015. **A sampler of useful computational tools for applied geometry, computer graphics, and image processing**. CRC Press.
- DOUGLAS, D. H.; PEUCKER, T. K. Algorithms for the reduction of the number of points required to represent a digitized line or its caricature. **Cartographica: the international journal for geographic information and geovisualization**, vol. 10, no. 2, pp. 112–122, 1973.
- EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Raven – Biologia vegetal**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.
- JANHÄLL, S. **Review on urban vegetation and particle air pollution– deposition and dispersion**. Atmospheric Environment, vol. 105, pp. 130– 137, 2015.
- LAUGHLIN, D. C. Nitrification is linked to dominant leaf traits rather than functional diversity. **Journal of Ecology**, vol. 99, no. 5, pp. 1091–1099, 2011.
- LU, J. et al. Detection of multitomato leaf diseases (late blight, target and bacterial spots) in different stages by using a spectral-based sensor. **Scientific reports**, vol. 8, no. 1, p. 2793, 2018.
- MAREK, J. et al. Photoynthetic and productive increase in tomato plants treated with strobilurins and carboxamides for the control of *alternaria solani*. **Scientia horticultrae**, vol. 242, pp. 76–89, 2018.
- OSNAS, J. L. et al. **Global leaf trait relationships: mass, area, and the leaf economics spectrum**. Science, vol. 340, no. 6133, pp. 741–744, 2013.
- OTSU, N. A threshold selection method from gray-level histograms. **IEEE transactions on systems, man, and cybernetics**, vol. 9, no. 1, pp. 62–66, 1979.
- POORTER, L.; BONGERS, F. **Leaf traits are good predictors of plant performance across 53 rain forest species**. Ecology, vol. 87, no. 7, pp. 1733–1743, 2006.

SRINIVASAN, V.; KUMA, P.; LONG, S. P. **Decreasing, not increasing, leaf area will raise crop yields under global atmospheric change.** *Global change biology*, vol. 23, no. 4, pp. 1626–1635, 2017.

STEWART, J. **Calculus: Concepts and contexts.** Cengage Learning, 2009.

SUZUKI, S. et al. **Topological structural analysis of digitized binary images by border following.** *Computer vision, graphics, and image processing*, vol. 30, no. 1, pp. 32–46, 1985.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology.** 5. ed. Sunderland: Sinauer Associates Inc, 2010.

WELLSTEIN, C. et al. **Effects of extreme drought on specific leaf area of grassland species: A metaanalysis of experimental studies in temperate and sub-mediterranean systems.** *Global change biology*, vol. 23, no. 6, pp. 2473–2481, 2017.

WERADUWAGE, S. M. et al. **The relationship between leaf area growth and biomass accumulation in *arabidopsis thaliana*.** *Frontiers in plant science*, vol. 6, p. 167, 2015.