

Metodologia para processamento de
imagens digitais do sistema radicular
de milho e sorgo utilizando a plataforma
Digital Imaging of Root Traits (DIRT)



***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Informática Agropecuária
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
47**

**Metodologia para processamento de
imagens digitais do sistema radicular
de milho e sorgo utilizando a plataforma
Digital Imaging of Root Traits (DIRT)**

*Thiago Teixeira Santos
Sylvia Moraes de Sousa Tinoco
Mariana Lourenço Campolino
Ubiraci Gomes de Paula Lana
Antonio Marcos Coelho*

***Embrapa Informática Agropecuária
Campinas, SP
2019***

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Informática Agropecuária

Av. André Tosello, nº 209 Campus da Unicamp,
Barão Geraldo - Campinas - SP
CEP: 13083-886
Fone: (19) 3211-5700

www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
da Unidade Responsável

Presidente
Stanley R. de M. Oliveira

Secretária-Executiva
Carla Cristiane Osawa

Membros
Adriana Farah Gonzalez; Carla Geovana do Nascimento Macário; Jayme Garcia Arnal Barbedo; Kleber Xavier Sampaio de Souza; Luiz Antonio Falaguasta Barbosa; Magda Cruciol; Paula Regina Kuser Falcão; Ricardo Augusto Dante e Sônia Ternes

Suplentes
Michel Yamagishi e Goran Nesic

Supervisão editorial
Kleber X. Sampaio de Souza

Revisão de texto
Adriana Farah Gonzalez

Normalização bibliográfica
Carla Cristiane Osawa

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Thiago Teixeira Santos e Felipe Prado Jaconi
sob supervisão de Magda Cruciol

Foto da capa
Pexels

1ª edição
Versão digital (2019)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Informática Agropecuária

Metodologia para processamento de imagens digitais no sistema radicular de milho e sorgo utilizando a plataforma Digital Imaging of Root Traits (DIRT) / Thiago Teixeira Santos ... [et al.]. -- Campinas : Embrapa Informática Agropecuária, 2019.

PDF 21 p.) : il. color. - (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Informática Agropecuária, ISSN 1677-9266 ; 47).

1. Metodologia. 2. Processamento de imagem. 3. Digital Imaging of Root Traits. 4. Raiz de planta. 5. Fósforo. I. Santos, Thiago Teixeira. II. Embrapa Informática Agropecuária. III. Série.

CDD (21. ed.) 006.6

Carla Cristiane Osawa (CRB-8/10421)

© Embrapa, 2019

Sumário

Resumo5

Abstract6

Introdução.....7

Material e Métodos9

Resultados e Discussão13

Conclusões.....16

Referências19

Metodologia para processamento de imagens digitais do sistema radicular de milho e sorgo utilizando a plataforma DIRT

Thiago Teixeira Santos¹

Sylvia Morais de Sousa Tinoco²

Mariana Lourenço Campolino³

Ubiraci Gomes de Paula Lana⁴

Antonio Marcos Coelho⁵

Resumo – O fósforo (P) é um dos macronutrientes mais limitantes às culturas em solos tropicais e com menor eficiência de uso pelas plantas. O melhoramento vegetal necessita assim de estudos dos sistemas radiculares das plantas e suas respostas à disponibilidade de P em conjunto com outros fatores bióticos e abióticos como água e microrganismos. Uma metodologia comumente empregada no estudo de sistemas radiculares em condições reais de campo é o emprego do protocolo *Shovelomics* associado ao sistema de processamento de imagens DIRT, capaz de computar 70 atributos diferentes para os sistemas radiculares a partir de imagens coletadas. Contudo, limitações nas rotinas de identificação de raízes nas imagens levam a grandes perdas de informação e ineficiências no processo de análise. Neste trabalho, apresentamos uma nova metodologia para segmentação e identificação de itens em imagens, baseada em aprendizado de máquina, que é mais robusta que a metodologia de pré-processamento de imagens originalmente proposta para o DIRT. Quatro experimentos foram conduzidos com centenas de amostras de milho e sorgo, cujos atributos foram computados com sucesso após a adoção das modificações sugeridas. Apresentamos também duas técnicas simples para visualização dos atributos computados pelo DIRT que auxiliam melhoristas e demais pesquisadores na análise exploratória dos dados obtidos. A metodologia aqui proposta facilita a adaptação do protocolo *Shovelomics*/DIRT a outras configurações experimentais, auxiliando no estudo de sistemas radiculares e eficiência de fósforo em outras culturas de monocotiledôneas e dicotiledôneas.

Termos para indexação: fósforo, fenotipagem, raízes, *Shovelomics*, árvores de decisão.

¹Cientista da Computação, doutor em Ciências da Computação, pesquisador da Embrapa Informática Agropecuária, Campinas, SP.

²Bióloga, doutora. em Biologia Molecular, pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

³Bióloga, doutoranda em Bioengenharia, Universidade Federal de São João Del Rei, UFSJ, São João Del Rei, MG.

⁴Químico, doutor em Genética, Analista, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

⁵Engenheiro Agrônomo, doutor em Solos e Agricultura de Precisão, pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG.

A methodology for digital image processing of the maize and sorghum root system using the Digital Imaging of Root Traits (DIRT) platform

Abstract – Phosphorus (P) is one of the most limiting macro nutrients for crops in tropical soils and with the lowest use efficiency by plants. Plant breeding needs to study plant root systems and their responses to P availability in conjunction with other biotic and abiotic factors such as water and microorganisms. A methodology usually employed in the study of root systems under real field conditions is the *Shovelomics protocol* associated to the DIRT image processing system, able to compute 70 different attributes for root systems from collected images. However, restrictions on the root identification routines in images lead to large data losses and inefficiencies in the analysis process. In this paper, we present a new methodology for segmentation and identification of items in images, based on machine learning, which is more robust than the image preprocessing methodology proposed for DIRT. Four experiments were conducted with hundreds of maize and sorghum samples, such attributed were successfully computed after the adoption of the suggested changes. We also present two simple techniques for visualization of DIRT attributes, aiding researchers on exploratory analysis of the data. The methodology proposed here facilitates the adaptation of the Shovelomics/DIRT protocol to other experimental configurations, helping on the study of root systems and phosphorus efficiency in other monocotyledon and dicotyledon cultures.

Index terms: Phosphorus, phenotyping, roots, *Shovelomics*, decision trees.

Introdução

Mais de 70% da biomassa terrestre ocorre em solos com baixo conteúdo de fósforo (P), incluindo mais da metade das terras agricultáveis do planeta (Lynch, 2011). O P é um dos macronutrientes mais limitantes às culturas nos solos tropicais e com menor eficiência de uso pelas plantas. Vários são os mecanismos desenvolvidos pelas plantas quando submetidas à limitação de P, sendo as modificações de atributos morfológicos da raiz uma das principais estratégias de aumento de eficiência no uso de P.

A eficiência no uso de P pelas plantas é uma característica complexa e ainda pouco conhecida, sendo, portanto, pouco utilizada em programas de melhoramento. A Embrapa vem buscando o aumento da eficiência de aquisição de P em cereais, com enfoque em milho e sorgo, por meio da exploração da variabilidade genética dos atributos radiculares (Hufnagel et al., 2014; Azevedo et al., 2015; Bernardino et al., 2019), e para tanto os estudos de genética quantitativa requerem protocolos de fenotipagem rápidos, precisos e robustos.

A arquitetura radicular é difícil de ser avaliada diretamente no solo (Trachsel et al., 2011). Já foram relatados diversos processos para se medir raiz em larga escala, porém eles se limitam a condições artificiais e as plantas podem ser cultivadas apenas por um período limitado de tempo. Rolos de papel de germinação foram utilizados para investigar a base genética da raiz lateral (Zhu et al., 2005b), raiz seminal (Zhu; Lynch, 2004) e pelos radiculares (Zhu et al., 2005a), em resposta à disponibilidade de P. Além disso, a nossa equipe vem trabalhando com uma metodologia em pasta para avaliar o sistema radicular em baixo P (Sousa et al., 2012). Em fases posteriores de crescimento, vasos podem ser usados para mimetizar condições mais naturais. Liao et al. (2001) investigaram a resposta gravitrópica de ângulos de raiz em resposta à disponibilidade de P em vasos. Embora os experimentos em vaso sejam mais representativos do que os ensaios em solução nutritiva, o crescimento das plantas pode ser limitado pelo volume do solo e disponibilidade de nutrientes. As raízes já foram medidas após as plantas atingirem a maturidade fisiológica em campo (Laboski et al., 1998; Kato et al., 2006), em caixas com solo (Araki et al., 2000) e em colunas com solo (Araki; Iijima, 1998; Hund et al., 2009; Zhu et al., 2010). O cultivo de plantas em colunas ou caixas, contendo solo ou substrato artificial, pode ajudar a reduzir esforços de amostragem em relação aos estudos em campo e permitir o crescimento sob condições controladas. No entanto, a escavação das raízes e a determinação de medidas de raiz nesses sistemas ainda necessita de mão de obra intensiva, o que não permite que seja realizada em larga escala. Por outro lado, os sistemas artificiais falharam ao tentar mimetizar a complexa interação que existe entre a planta, e parâmetros abióticos e bióticos intrínsecos do solo e condições ambientais vigentes (Walter et al., 2009). O uso da fenotipagem não-destrutiva possibilita a identificação de características morfológicas envolvidas no desempenho das plantas, a análise de características complexas e a caracterização da base genética e ecofisiológicas responsáveis pela adaptação das plantas ao seu ambiente. Contudo esse tipo de fenotipagem de raízes em plantas adultas, como raio-X

(Mooney et al., 2012) e ressonância magnética (Schulz et al., 2013), ainda tem um custo muito alto. No campo, as raízes e parte aéreas são expostas a diferentes condições ambientais, especialmente em relação à temperatura, que é um importante regulador do desenvolvimento do sistema radicular (Hund, 2010). Trachsel et al. (2011) desenvolveram uma metodologia denominada *Shovelomics*, que permite a medida de algumas características radiculares no campo. Posteriormente, Bucksch et al. (2014) descreveram uma metodologia de análise de imagem em larga escala de raízes extraídas utilizando o *Shovelomics*, implementada e disponibilizada posteriormente na forma do sistema DIRT (*Digital Imaging of Root Traits*) (Das et al., 2015).

A abordagem *Shovelomics* permite avaliar as características da arquitetura radicular em plantas adultas no campo validando as características genotípicas e fenotípicas encontradas em laboratório, através da escavação dos sistemas radiculares. Os ângulos das raízes nodais ou o número de raízes seminais e laterais são determinados a partir de raízes escavadas e lavadas por classificação ou contagem. A raiz é escavada em um raio de 20 cm ao redor do hipocótilo e 20 cm abaixo da superfície do solo. Este processo padronizado captura a maioria da biomassa do sistema radicular dentro da área de escavação (Trachsel et al., 2011). As características observadas variam entre culturas, mas geralmente se encaixam nas seguintes categorias por profundidade ou classe: ângulo, número, densidade e diâmetro das raízes (York; Lynch, 2015).

Devido à grande quantidade de dados obtidos a partir de experimentação em campo, a sistema de código aberto DIRT auxilia no processamento de milhares de fotografias digitais de raízes através de parâmetros personalizados que visualizam e analisam a saída das características do sistema radicular computadas e associadas às imagens brutas obtidas pela metodologia *Shovelomics*, tendo um alto rendimento automático para calcular características fenotípicas radiculares de monocotiledôneas e dicotiledôneas (Bucksch et al., 2014; Das et al., 2015).

A metodologia proposta por Bucksch et al. (2014) é capaz de processar imagens de raízes de monocotiledôneas e dicotiledôneas, obtidas pelo protocolo *Shovelomics*, e automatizar a extração de *atributos (features)*, sem a necessidade do uso de réguas e transferidores como proposto anteriormente por Trachsel et al. (2011). A metodologia proposta por Bucksch et al. (2014) inclui ainda novas características, computadas explorando-se as facilidades proporcionadas pelo processamento digital de imagens, sendo uma delas o *ângulo de tecido de raiz (root tissue angle – RTA)*.

O protocolo de imageamento das raízes proposto por Bucksch et al. (2014) consiste em disponibilizar a coroa da raiz e a raiz principal sobre um anteparo escuro, paralelo ao sensor da câmera. Junto às amostras de raízes é colocado com marcador circular branco que atua como referência de escala e uma etiqueta (*tag*) que identifica o espécime em análise, como pode ser observado na Figura 1. Para que os quatro itens (coroa, raiz seccionada, marcador e etiqueta) sejam corretamente identificados, não deve haver sobreposição entre eles.

Os algoritmos propostos por Bucksch et al. (2014) são capazes de extrair as características da coroa e da raiz principal, ajustadas conforme a referência de escala fornecida pelo marcador circular, uma vez que esses três itens (coroa, raiz e marcador)



Figura 1: Exemplos de imagens coletas pela metodologia *Shovelomics*/DIRT.

tenham sido corretamente segmentados e identificados na imagem. Assim, uma etapa de preliminar de processamento de imagens é conduzida com o fim de isolar os pixels do anteparo, um processo conhecido na literatura de processamento de imagens como *subtração de fundo*, seguida da segmentação e identificação de cada item.

Porém, em nossos experimentos, observamos repetidas falhas nos resultados de segmentação e identificação obtidos pela implementação original de Bucksch et al. (2014) e Das et al. (2015). Quando tais falhas de identificação e segmentação ocorrem, as características computadas são completamente inválidas e devem ser descartadas.

O presente trabalho apresenta duas contribuições. A primeira delas é um método de segmentação e identificação de itens mais robusta que a proposta originalmente no DIRT. A segunda contribuição é o emprego de técnicas de visualização e agrupamento de dados que auxiliam as análises das características obtidas pelo DIRT, tornando mais fácil a análise exploratória comparativa das amostras.

Material e Métodos

Cultivo de milho e sorgo e coleta do sistema radicular

Quatro genótipos de milho (BRS1055, 1M1752, AG8088 e DKB390) e quatro de sorgo (BRS330, BRS373, DK540, 1G100) foram cultivados independentemente no campo experimental da Embrapa Milho e Sorgo (solo sob plantio direto desde 2000), em Latossolo, textura argilosa (64% de argila), deficiente em P nas safras de 2016/2017 e 2017/2018. Foram utilizadas três fontes de P: totalmente solúvel (superfósforo triplo); parcialmente solúvel (fósforo reativo - Bayóvar) e pouco solúvel (fósforo de rocha - Ita-

fós) aplicadas em diferentes doses: 0, 50 e 100 Kg de P_2O_5 ha⁻¹. Foi utilizado o delineamento experimental de blocos ao acaso com três repetições, com os tratamentos dispostos em parcelas sub-subdivididas, dispondo nas parcelas fontes de P, nas sub-parcelas as doses de P subdivididas ainda entre os genótipos de milho e sorgo. Cada parcela foi constituída de quatro linhas de 6 m de comprimento e espaçamento de 0,50 (Campolino et al., 2018).

As plantas foram coletadas no período de florescimento, sendo coletado o sistema radicular de quatro plantas de milho e quatro de sorgo de cada sub-subparcela nas fileiras mais externas das sub-subparcelas. A parte mais robusta dos sistemas radiculares foi lavada para a remoção total do solo conforme descrito por *Shovelomics* (Trachsel et al., 2011) e fotografada segundo Bucksch et al. (2014).

Processamento de imagens

O pré-processamento é dividido em duas partes. Na subtração de fundo é realizada uma classificação binária de cada pixel, que é atribuído a ou a classes *figura* (*foreground*) ou a classe fundo (*background*). Os pixels classificados são então agrupados em *componentes conexas*, conjuntos de pixels conectados entre si apenas por pixels *foreground*. Finalmente, os itens *marcador*, *etiqueta*, *coroa* e *raiz* são identificados entre as componentes conexas existentes. A seguir, descrevemos a implementação original proposta por Bucksch et al. (2014), suas limitações e as modificações propostas.

Subtração de fundo baseada em K -médias no espaço CIELAB

Bucksch et al. (2014) propõem a conversão da imagem RGB original em uma imagem em tons de cinza, seguida por uma subtração de fundo baseada em limiarização (*thresholding*). Um limiar T é computado pelo método proposto por (Otsu, 1979), que minimiza a variância interna nas classes *figura* e *fundo*. Em seguida um algoritmo de limiarização adaptativa é aplicado à imagem, na qual o limiar T é ajustado de acordo com a variância observada na região ao redor do pixel⁶.

Substituímos o método original por uma classificação binária baseada no algoritmo K -médias, conduzida nos valores dos pixels no espaço de cor perceptualmente uniforme CIELAB. Este método usa toda a informação do pixel disponível (intensidade e cor) na subtração de fundo, ao invés de restringir-se à intensidade apenas (como no método original, que converte a informação RGB para o valor de intensidade). O algoritmo K -médias irá se adaptar a cada imagem, minimizando a variância intraclases de forma que, se fundo for distinto dos demais elementos, mesmo que apresente uma distribuição de cor mais complexa (com variações de cor ao longo da imagem, por

⁶Após analisar o código original do DIRT (*commit* 3c6a3d), acreditamos que a implementação original *não* corresponda ao descrito por Bucksch et al. (2014). No código, o limiar de Otsu parece ser erroneamente empregado como o desvio padrão de um filtro espacial Gaussiano, conceitualmente incorreto e distinto do proposto no artigo original.

exemplo), será identificado com sucesso como uma das classes. Consequentemente, os pixels pertencentes ao *foreground* serão agrupados na outra classe.

A Figura 2 apresenta um conjunto de imagens, a subtração de fundo obtida pela implementação original do DIRT e pelo método proposto aqui. É possível ver diferenças nos resultados sobretudo nas regiões do caule e das raízes que apresentam pixels escuros – como o método original discrimina os pixels apenas por intensidade, ele atribui erroneamente pixels mais escuros da planta como pertencentes ao fundo. Uma vantagem do método proposto neste trabalho é que o anteparo utilizado não precisará ser necessariamente preto ou escuro: um fundo azul ou vermelho, por exemplo, poderia ser utilizado, desde que difira suficientemente das raízes, do marcador e da etiqueta.

Classificação de objetos por árvore de decisão

Bucksch et al. (2014) utilizam uma heurística simples para identificação das componentes conexas encontradas após a subtração de fundo. A coroa seria a componente conexa com mais pixels e o marcador circular a componente com relação altura/largura mais próxima a 1.0. Já a raiz seccionada seria o segundo maior componente e discernida pela razão *foreground/background* observada em seu *fecho retangular*⁷. A etiqueta é assumida como a componente com uma proporção mais alta *foreground/background* que a raiz e deve ser o segundo menor componente em termos de número geral de pixels. Essas premissas são frágeis e sujeitas a erros diversos, causando falhas frequentes na identificação dos elementos, que são confundidos entre si. Considere, por exemplo, o posicionamento da raiz seccionada: a área do fecho retangular varia conforme a inclinação da raiz, ou seja, a característica utilizada para identificá-la varia conforme sua disposição na imagem. Em nossos experimentos, outra fonte expressiva de erros foi o uso de etiquetas que tinham dimensões relativas à coroa maiores que as vistas nos trabalhos de Bucksch et al. (2014) e Das et al. (2015).

Para obter um classificador mais robusto, treinamos uma *árvore de decisão*, avaliando diversas características dos componentes, e encontramos um classificador simples e compreensível, baseado em apenas duas características (área e solidez) que é capaz de identificar os itens de forma mais eficaz que a metodologia original. Árvores de decisão são modelos facilmente *interpretáveis*, isto é, são modelos obtidos por aprendizado de máquina que podem ser facilmente compreendidos em termos de suas representações de informação e operações sobre essas representações. Em outras palavras, de uma árvore de decisão é possível extrair uma sequência simples de regras para a classificação dos elementos.

Foi criada uma base de dados contendo 328 imagens de coroas, 321 imagens de marcadores circulares, 296 etiquetas e 267 raízes seccionadas. Oito diferentes características foram testadas: área, área do fecho convexo, solidez⁸, extensão, número de

⁷O fecho retangular (*bounding box*) é o menor retângulo que contém a componente e cujos lados estão são paralelos às bordas de imagem.

⁸A *solidez* é a razão entre o número de pixels da componente e o número de pixels de seu fecho convexo. Importante notar que o fecho convexo não varia com a posição da componentes na cena.

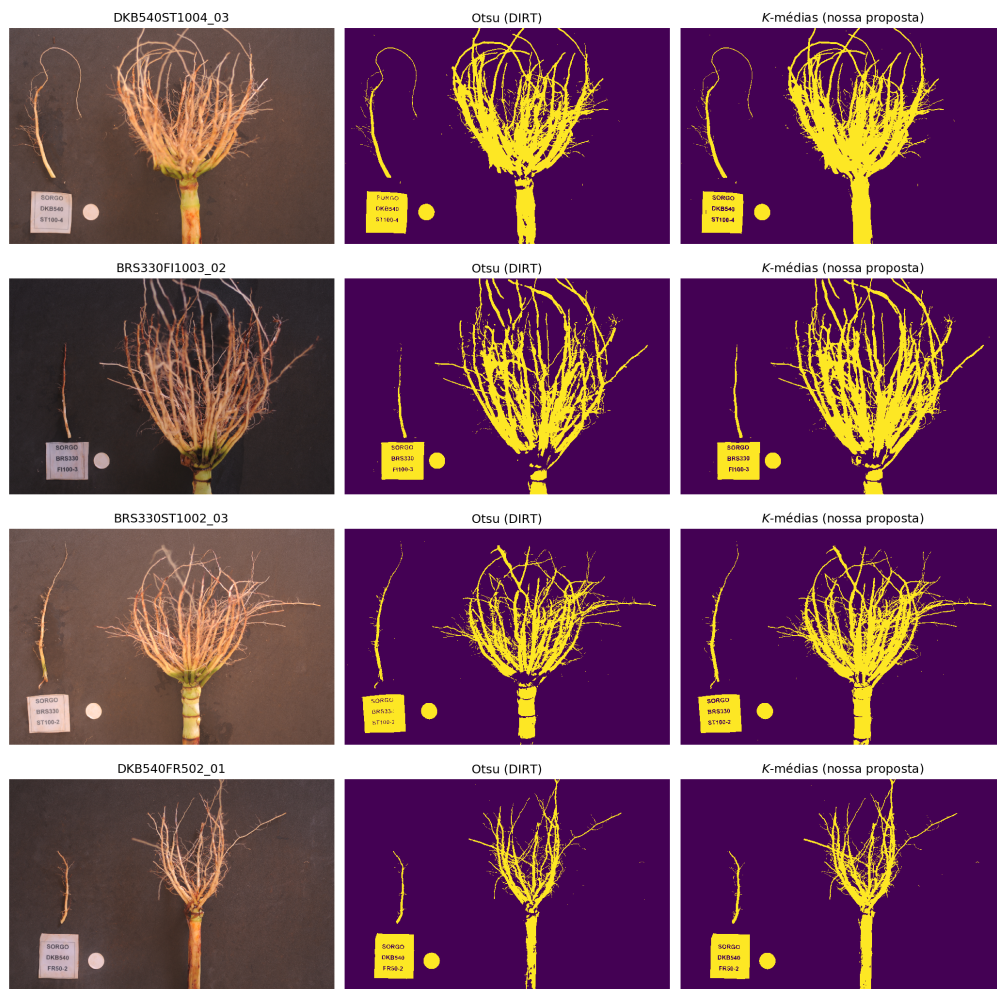


Figura 2: Subtração de fundo pelo método de Otsu, como na implementação original de DIRT, e pelo método de K -médias no espaço CIELAB proposto neste trabalho.

Euler, comprimento do eixo principal e comprimento do eixo secundário. Identificamos que uma árvore de decisão de apenas 3 níveis utilizando duas características, área e solidez, foi capaz de identificar com sucesso todas as amostras.

A Figura 3 mostra a árvore de decisão aprendida e como ela classifica a base de dados. Na figura, é possível ver o índice *Gini*, uma medida de pureza que mensura o grau de mistura entre classes de um subconjunto de amostras. Uma árvore de decisão deve idealmente atingir um Gini de zero para uma classificação perfeita em suas *folhas* – cada folha representa subconjunto atribuído a um certa classe.

A árvore na Figura 3 mostra que a área pode ser usada inicialmente para segmentar a coroa, o que corrobora o critério proposto originalmente por Bucksch et al. (2014). A partir desse ponto, a solidez é empregada para discriminar as três classes restantes: marcador, etiqueta e raiz. O critério final, identificado facilmente na árvore, é mais simples e mais robusto do que o proposto originalmente. Uma vantagem adicional é a possibilidade de treinar novamente o classificador para conjuntos de dados que tenham características específicas (outras culturas, ou outros formatos de etiqueta, por exemplo). Isto é algo que decorre da formulação do problema dentro do paradigma *aprendizado de máquina*: ao invés de se codificar um novo programa para cada situação, gera-se um novo código (um novo modelo) automaticamente para novas situações que são similares à original mas apresentam variações de distribuição que quebram as premissas do programa original. A Figura 4 exhibe um exemplo de classificação obtido pelo método proposto.

Implementação

As alterações descritas na Seção 2 foram implementadas na forma de edições significativas no código de pré-processamento do sistema DIRT. O código original usa a linguagem Python e as modificações foram realizadas com o uso de código e bibliotecas para essa linguagem. A conversão de cores de RGB para CIELAB, a identificação de componentes conexas e o cálculo de características como área e solidez foi realizado com o uso da biblioteca de processamento de imagens Scikit-image (van der Walt et al., 2014). A subtração de fundo foi realizada com o uso da implementação de *K*-médias disponível na biblioteca Scikit-learn (Pedregosa et al., 2011).

Resultados e Discussão

A Tabela 1 exhibe um comparativo entre o pré-processamento original e o método proposto neste trabalho para um conjunto de 149 raízes de milho. O método original falhou neste comparativo a uma taxa acima de 70%. Altas taxas de falha também foram observadas em outros experimentos durante o projeto. A principal fonte de erro foi a identificação incorreta da etiqueta como sendo a raiz principal. Acreditamos que isso se deva em parte a escolha do fecho retangular pelos autores do DIRT, uma caracterís-

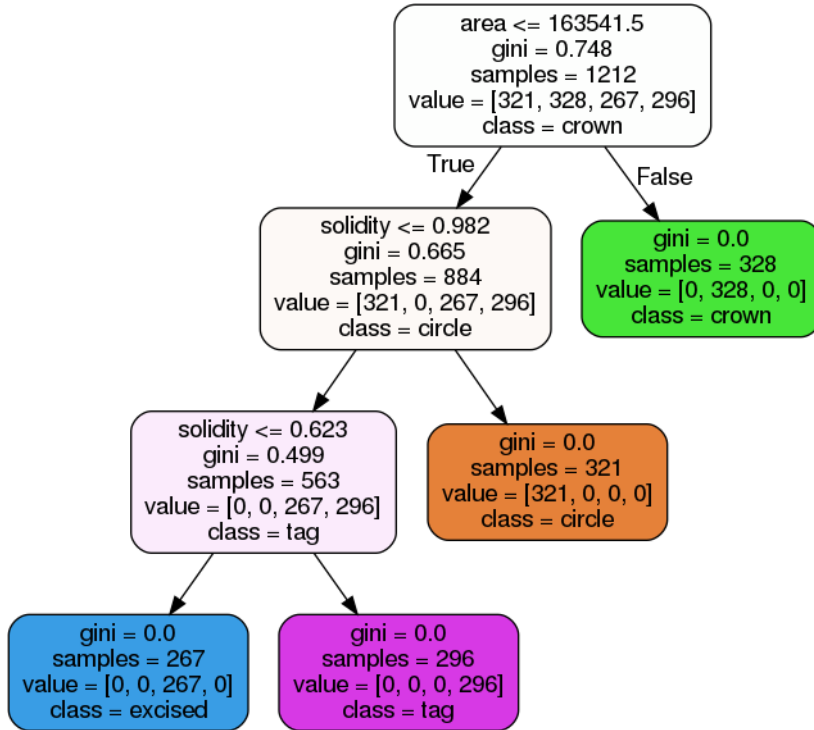


Figura 3: Árvore de decisão para classificação dos objetos: coroa (*crown*), raiz seccionada (*excised*), marcador circular (*circle*) e etiqueta (*tag*). Apenas duas características são utilizadas: área e solidez (*solidity*).

tica que não é invariante a pose e também varia abruptamente com a curvatura da raiz seccionada: duas raízes de mesmo tamanho podem exibir fechos retangulares muito distintos se uma delas, por exemplo, exibir um formato em *L*. A área do fecho convexo, utilizada para determinar a característica *solidez* no método proposto aqui, é invariante à pose e sujeita a variações menores devidas a diferenças de curvatura. Outra fonte de erro é a divisão da coroa em duas componentes principais, uma falha no processo de segmentação de fundo. O novo método proposto também é menos propenso a este tipo de erro por utilizar uma técnica superior de segmentação de fundo. Porém, este tipo de erro foi responsável pelas quatro falhas observadas para o método proposto (Tabela 1), em que o segmento menor da coroa foi confundido com a raiz seccionada.

A Figura 5 exibe alguns exemplos de resultado de segmentação. O classificador desenvolvido e exibido na Figura 3 foi usado com sucesso no pré-processamento de imagens para 4 experimentos distintos: experimentos com milho e sorgo conduzidos em 2017 e 2018 (em cada ano, um experimento para cada espécie). Contudo, é importante notar que novos classificadores podem ser facilmente treinados para outras

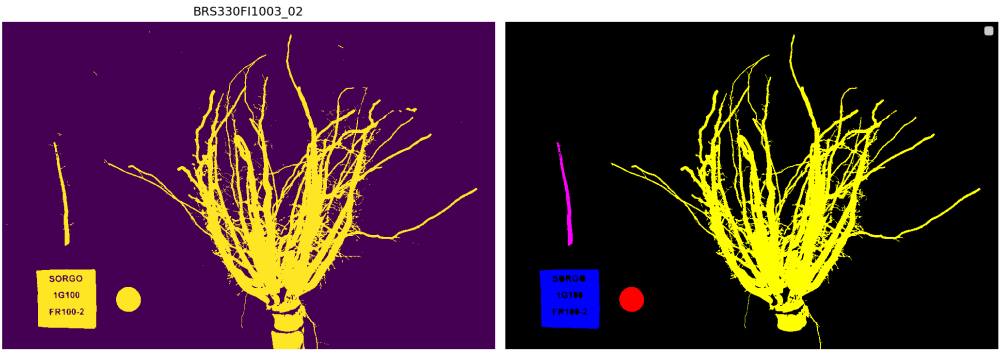


Figura 4: Exemplo classificação: coroa (amarelo), raiz seccionada (púrpura), marcador circular (vermelho) e etiqueta (azul).

Tabela 1: Comparativo entre dois métodos de pré-processamento na identificação de raízes para um conjunto de 149 amostras de milho.

	Coroas perdidas	Raízes seccionadas perdidas
Original (DIRT)	4	108
Este trabalho	0	4

configurações, bastando a montagem de uma nova base de dados para treinamento.

Uma vez que as raízes (coroa e raiz seccionada) e o marcador circular (ajuste de escala) tenham sido identificados com sucesso, o sistema DIRT computa 70 diferentes atributos para a amostra. Considerando que cada experimento continha mais de 300 amostras, a visualização e análise exploratória desses dados pode ser desafiadora. A Figura 6 exibe um *mapa de calor (heatmap)* para os atributos D10 a D90 computados pelo DIRT. Esses atributos são associados à distribuição de massa da coroa de acordo com a profundidade da raiz. Exibidos na forma de um mapa de calor, esses valores podem ser analisados pelos melhoristas de forma mais conveniente do em tabelas, ao menos em uma análise exploratória inicial, uma vez que a comparação entre amostras se torna direta e visual.

A Figura 7 exibe um aglomerado hierárquico (*hierarchichal clustering*) (Müllner, 2011) para o experimento de milho de 2018. Note que são agrupadas não só as amostras que exibem atributos similares mas também os *atributos* que apresentam comportamento similar entre amostras, o que pode auxiliar os melhoristas na identificação de *traits* correlacionados.

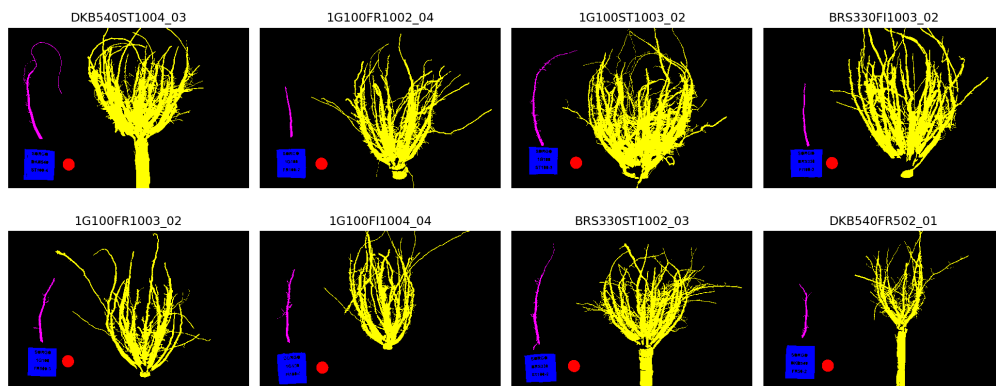


Figura 5: Exemplo de classificação em oito amostras diferentes: coroa (amarelo), raiz seccionada (púrpura), marcador circular (vermelho) e etiqueta (azul).

Conclusões

As modificações na etapa de pré-processamento de imagens, responsável pela identificação das raízes nas imagens, tornaram as análises via plataforma DIRT menos suscetíveis a erros permitindo a caracterização de genótipos de milho e sorgo quanto aos atributos radiculares relacionados à eficiência na aquisição de fósforo. As melhorias realizadas, incluindo o uso de técnicas de visualização de dados baseadas em mapas de calor e aglomerados hierárquicos, podem ser utilizadas na montagem de painéis de diversidade e estudo de populações biparentais, dentre outros, e para análise do comportamento do sistema radicular em diferentes sistemas de produção, condições de fertilização e água.

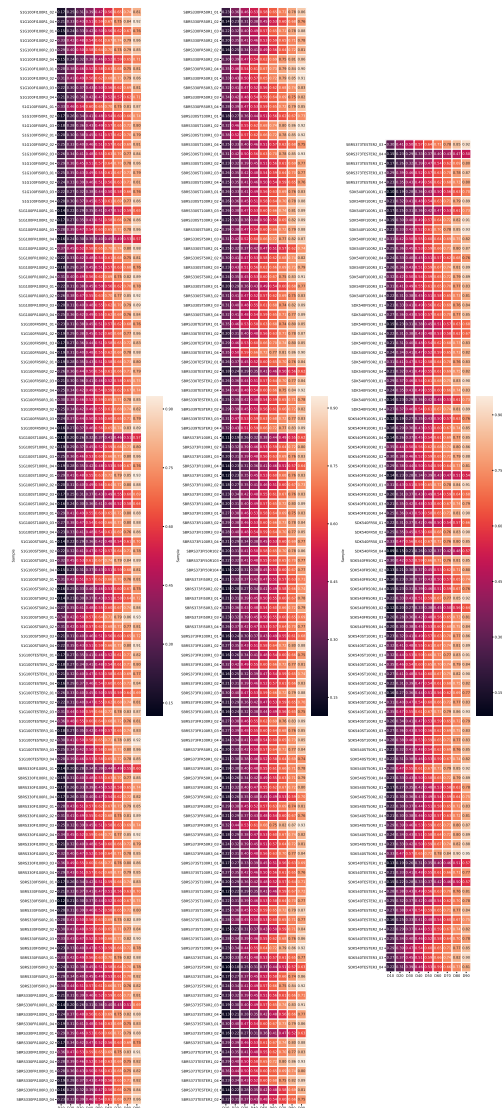


Figura 6: Mapa de calor (*heatmap*) exibindo os valores de D10 a D90 para o experimento de Sorgo de 2017. D_x é a porcentagem da largura acumulada a $x\%$ da profundidade e é computada pelo DIRT, ver (Bucksch et al., 2014) para detalhes.

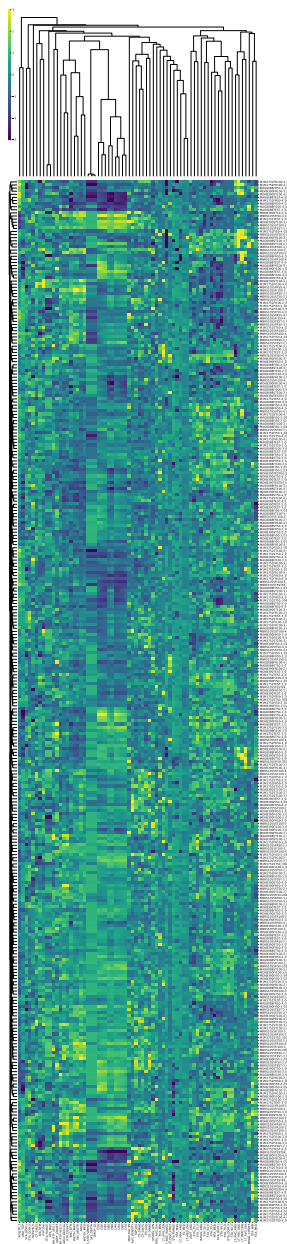


Figura 7: Aglomerado hierárquico (*hierarchichal clustering*).

Referências

- ARAKI, H.; HIRAYAMA, M.; HIRASAWA, H.; IIJIMA, M. Which Roots Penetrate the Deepest in Rice and Maize Root Systems? **Plant Production Science**, v. 3, n. 3, p. 281–288, jan 2000. DOI:10.1626/pps.3.281.
- ARAKI, H.; IIJIMA, M. Rooting Nodes of Deep Roots in Rice and Maize Grown in a Long Tube. **Plant Production Science**, CROP SCIENCE SOCIETY OF JAPAN, v. 1, n. 4, p. 242–247, jan 1998. DOI:10.1626/pps.1.242.
- AZEVEDO, G. C.; CHEAVEGATTI-GIANOTTO, A.; NEGRI, B. F.; HUFNAGEL, B.; SILVA, L. d. C. e; MAGALHAES, J. V.; GARCIA, A. A. F.; LANA, U. G.; SOUSA, S. M. de; GUIMARAES, C. T. Multiple interval QTL mapping and searching for PSTOL1 homologs associated with root morphology, biomass accumulation and phosphorus content in maize seedlings under low-P. **BMC Plant Biology**, v. 15, p. 1-17, 2015. DOI:10.1186/s12870-015-0561-y.
- BERNARDINO, K. C.; PASTINA, M. M.; MENEZES, C. B.; SOUSA, S. M. de; MACIEL, L. S.; JR, G. C.; GUIMARÃES, C. T.; BARROS, B. A.; da Costa e Silva, L.; CARNEIRO, P. C. S.; SCHAFFERT, R. E.; KOCHIAN, L. V.; MAGALHÃES, J. V. The genetic architecture of phosphorus efficiency in sorghum involves pleiotropic QTL for root morphology and grain yield under low phosphorus availability in the soil. **BMC Plant Biology**, v. 19, p. 1-15, 2019. DOI:10.1186/s12870-019-1689-y.
- BUCKSCH, A.; BURRIDGE, J.; YORK, L. M.; DAS, A.; NORD, E.; WEITZ, J. S.; LYNCH, J. P. Image-based high-throughput field phenotyping of crop roots. **Plant Physiology**, v. 166, n. 2, p. 470–486, Oct 2014. DOI:10.1104/pp.114.243519.
- CAMPOLINO, M.; LANA, U. d. P.; GOMES, E.; COELHO, A.; SOUSA, S. de. **Diversidade genética da comunidade de microrganismos da rizosfera de genótipos de milho e sorgo cultivados em condições de campo sob diferentes fontes e níveis de fósforo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2018. 29 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 169).
- DAS, A.; SCHNEIDER, H.; BURRIDGE, J.; ASCANIO, A. K. M.; WOJCIECHOWSKI, T.; TOPP, C. N.; LYNCH, J. P.; WEITZ, J. S.; BUCKSCH, A. Digital imaging of root traits (DIRT): a high-throughput computing and collaboration platform for field-based root phenomics. **Plant Methods**, v. 11, n. 1, p. 51, 2015. DOI:10.1186/s13007-015-0093-3.
- HUFNAGEL, B.; SOUSA, S. M. de; ASSIS, L.; GUIMARAES, C. T.; LEISER, W.; AZEVEDO, G. C.; NEGRI, B.; LARSON, B. G.; SHAFF, J. E.; PASTINA, M. M.; BARROS, B. A.; WELTZIEN, E.; RATTUNDE, H. F. W.; VIANA, J. H.; CLARK, R. T.; FALCÃO, A.; GAZAFFI, R.; GARCIA, A. A. F.; SCHAFFERT, R. E.; KOCHIAN, L. V.; MAGALHAES, J. V. Duplicate and conquer: multiple homologs of PHOSPHORUS-STARVATION TOLERANCE1 enhance phosphorus acquisition and

sorghum performance on low-phosphorus soils. **Plant physiology**, v. 166, n. 2, p. 659–77, Oct 2014. DOI:10.1104/pp.114.243949.

HUND, A. Genetic variation in the gravitropic response of maize roots to low temperatures. **Plant Root**, v. 4, p. 22–30, 2010. DOI:10.3117/plantroot.4.22.

HUND, A.; TRACHSEL, S.; STAMP, P. Growth of axile and lateral roots of maize: I development of a phenotyping platform. **Plant and Soil**, v. 325, n. 1-2, p. 335–349, Dec. 2009. DOI:10.1007/s11104-009-9984-2.

KATO, Y.; ABE, J.; KAMOSHITA, A.; YAMAGISHI, J. Genotypic Variation in Root Growth Angle in Rice (*Oryza sativa* L.) and its Association with Deep Root Development in Upland Fields with Different Water Regimes. **Plant and Soil**, v. 287, n. 1-2, p. 117–129, Sept. 2006. DOI:10.1007/s11104-006-9008-4.

LABOSKI, C.; DOWDY, R.; ALLMARAS, R.; LAMB, J. Soil strength and water content influences on corn root distribution in a sandy soil. **Plant and Soil**, v. 203, n. 2, p. 239–247, 1998. DOI:10.1023/A:1004391104778.

LIAO, H.; RUBIO, G.; YAN, X.; CAO, A.; BROWN, K. M.; LYNCH, J. P. Effect of phosphorus availability on basal root shallowness in common bean. **Plant and Soil**, v. 232, n. 1/2, p. 69–79, 2001. DOI:10.1023/A:1010381919003.

LYNCH, J. P. Root phenes for enhanced soil exploration and phosphorus acquisition: tools for future crops. **Plant physiology**, v. 156, n. 3, p. 1041–9, jul 2011. DOI:10.1104/pp.111.175414.

MOONEY, S. J.; PRIDMORE, T. P.; HELLIWELL, J.; BENNETT, M. J. Developing X-ray Computed Tomography to non-invasively image 3-D root systems architecture in soil. **Plant and Soil**, v. 352, n. 1-2, p. 1–22, Mar. 2012. DOI:10.1007/s11104-011-1039-9.

MÜLLNER, D. **Modern hierarchical, agglomerative clustering algorithms**. [S. l.], 2011, p. 1-29. Disponível em: <<https://arxiv.org/pdf/1109.2378.pdf>>. Acesso em: 12 Dez. 2019.

OTSU, N. A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms. **IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics**, v. 9, n. 1, p. 62–66, Jan. 1979. DOI:10.1109/TSMC.1979.4310076.

PEDREGOSA, F.; VAROQUAUX, G.; GRAMFORT, A.; MICHEL, V.; THIRION, B.; GRISEL, O.; BLONDEL, M.; PRETTENHOFER, P.; WEISS, R.; DUBOURG, V.; VANDERPLAS, J.; PASSOS, A.; COURNAPEAU, D.; BRUCHER, M.; PERROT, M.; DUCHESNAY, E. Scikit-learn: machine learning in Python. **Journal of Machine Learning Research**, v. 12, p. 2825–2830, 2011.

SCHULZ, H.; POSTMA, J. A.; DUSSCHOTEN, D. van; SCHARR, H.; BEHNKE, S. Plant Root System Analysis from MRI ImagesIn: INTERNATIONAL JOINT CONFERENCE,

7., 2012, Rome. **Computer vision, imaging and computer graphics: theory and application**. Berlin: Springer, 2013. p. 411–425. (Communications in computer and information science, 359). DOI:10.1007/978-3-642-38241-3_28.

SOUSA, S. M. de; CLARK, R. T.; MENDES, F. F.; Carlos de Oliveira, A.; Vilaça de Vasconcelos, M. J.; PARENTONI, S. N.; KOCHIAN, L. V.; GUIMARÃES, C. T.; MAGALHÃES, J. V. A role for root morphology and related candidate genes in P acquisition efficiency in maize. **Functional Plant Biology**, v. 39, n. 11, p. 925–935, 2012. DOI:10.1071/FP12022.

TRACHSEL, S.; KAEPLER, S. M.; BROWN, K. M.; LYNCH, J. P. Shovelomics: High throughput phenotyping of maize (*Zea mays* L.) root architecture in the field. **Plant and Soil**, v. 341, n. 1-2, p. 75–87, Apr. 2011. DOI:10.1007/s11104-010-0623-8.

VAN DER WALT, S.; SCHÖNBERGER, J. L.; NUNEZ-IGLESIAS, J.; BOULOGNE, F.; WARNER, J. D.; YAGER, N.; GOUILLART, E.; YU, T. scikit-image: image processing in Python. **PeerJ**, v. 2, p. 1-18, 2014. DOI:10.7717/peerj.453.

WALTER, A.; SILK, W. K.; SCHURR, U. Environmental Effects on Spatial and Temporal Patterns of Leaf and Root Growth. **Annual Review of Plant Biology**, v. 60, p. 279–304, 2009. DOI:10.1146/annurev.arplant.59.032607.092819.

YORK, L. M.; LYNCH, J. P. Intensive field phenotyping of maize (*Zea mays* L.) root crowns identifies phenes and phene integration associated with plant growth and nitrogen acquisition. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 18, p. 5493–5505, Sept. 2015. DOI:10.1093/jxb/erv241.

ZHU, J.; BROWN, K. M.; LYNCH, J. P. Root cortical aerenchyma improves the drought tolerance of maize (*Zea mays* L.). **Plant, Cell & Environment**, v. 33, n. 5, p. 740–749, May 2010. DOI:10.1111/j.1365-3040.2009.02099.x.

ZHU, J.; KAEPLER, S. M.; LYNCH, J. P. Mapping of QTLs for lateral root branching and length in maize (*Zea mays* L.) under differential phosphorus supply. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 111, n. 4, p. 688–695, Aug. 2005a. DOI:10.1007/s00122-005-2051-3.

ZHU, J.; KAEPLER, S. M.; LYNCH, J. P. Topsoil foraging and phosphorus acquisition efficiency in maize (*Zea mays*). **Functional Plant Biology**, v. 32, n. 8, p. 749–762, 2005b. DOI:10.1071/FP05005.

ZHU, J.; LYNCH, J. P. The contribution of lateral rooting to phosphorus acquisition efficiency in maize (*Zea mays*) seedlings. **Functional Plant Biology**, v. 31, n. 10, p. 949, 2004. DOI:10.1071/FP04046.



Informática Agropecuária

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



PÁTRIA AMADA
BRASIL
GOVERNO FEDERAL