



Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino,
Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul

Editais Chamada FUNDECT N° _____

**Validação de Métodos Baseados em Visão Computacional para
Automação da Identificação e Contagem de Grãos de Pólen**

Ariadne Barbosa Gonçalves

Universidade Católica Dom Bosco

Prof. Dr. Hemerson Pistori
Orientador

Prof. Dra. Marney Pascoli Cereda
Co-orientadora

Mestrado em Biotecnologia
Universidade Católica Dom Bosco

Janeiro 2013
Campo Grande - MS

1. DESCRIÇÃO DO GRUPO DE PESQUISA VINCULADO AO PROJETO

INOVISAO – É um Grupo de Pesquisa de Desenvolvimento e Inovação em Visão Computacional. O INOVISAO tem como principal objetivo a integração entre pesquisa, desenvolvimento e inovação para contribuir com o desenvolvimento do estado do Mato Grosso do Sul. O grupo possui diversos projetos de visão computacional voltados para aplicações no agronegócio e outras áreas relevantes para a região. Através de parcerias com indústrias, outras instituições de pesquisa e agências de fomento. O INOVISAO tem tido sucesso na obtenção de investimentos para a pesquisa no estado, que já resultaram em diversas publicações e no registro de dois softwares, além da criação de uma empresa de base tecnológica que iniciou a inserção dos produtos gerados no mercado nacional e internacional. O grupo tem auxiliado na organização de diversos eventos da área, como CIARP, IWZIA, PSIVT, COMPIMAGE e VIPIMAGE, destacando os esforços para trazer para Campo Grande o SIBGRAPI 2008.

2. ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA

Apicultura é a atividade de criação de abelhas do gênero *Apis* em colmeias artificiais visando à produção de mel e a meliponicultura é a criação de abelhas sem ferrão. Além de boa opção para o agronegócio em seu produto principal, o mel, a criação de abelhas é uma atividade ambientalmente sustentável, que contribui para a manutenção das espécies nativas e aumento da produção agrícola (Lopes et al., 2001). Apesar dos ecossistemas Cerrado e Pantanal ainda contarem com vegetação nativa abundante, a ação da meliponicultura e apicultura ligada a flora apícola ainda é pouco explorada.

O mel é o principal produto produzido pelas abelhas sendo o pólen apícola o segundo produto mais consumido por elas, sendo ambos considerados saudáveis e benéficos para saúde. Tanto o mel quanto o pólen apícola são produtos antimicrobiano e são considerados produtos ricos em carboidratos, proteínas, lipídeos, açúcares, vários minerais e vitaminas (Goodman, 2003). Para a produção destes produtos e de outros como a própolis e geleia real, as abelhas precisam visitar várias flores em busca de néctar, óleos e polens que estão em flores masculinas. Desta forma em todos os produtos produzidos pelas abelhas terão grãos de pólen que se aderiram em seu corpo ou que colheram para formação dos poços de pólen dentro da colmeia. Então torna-se

possível rastrear a origem botânica dos produtos apícolas através da identificação dos tipos polínicos encontrados nos produtos ou dentro da colmeia.

A análise polínica é importante para detectar fraudes no mel e em conjunto diagnosticar as espécies de plantas nas quais as abelhas buscam alimento, permitindo monitorar as plantas apícolas através do pólen, que apresenta formato, tamanho e textura a diferentes espécies, o que possibilita a autenticação da origem do pólen para garantir seus benefícios para a saúde a partir de sua denominação de origem.

A determinação dos grãos de pólen apresenta limitações pelo fato de que a forma da exina dos grãos de pólen que em alguns gêneros são muito parecidas, dificultando assim sua identificação. Essa classificação é realizada por especialistas da área, sendo uma tarefa morosa e cansativa, além do que a identificação até espécie é dificultada em alguns gêneros, devido à grande semelhança entre os polens, por isso são classificados em tipos polínicos (Silva & Absy, 2000). A questão da determinação da espécie pela análise do pólen torna-se ainda mais complexa em algumas espécies por ocorrer variabilidade polínica intraespecífica, na qual a exina, que é a parede externa do grão de pólen, apresenta variações entre indivíduos de mesma espécie (Santos & Pin-Ferreira, 2001). Ainda assim, em algumas situações é possível determinar a origem do grão de pólen até o nível de espécie quando se dispõe de uma palinoteca da flora local possibilitando a comparação entre o pólen presente no mel com o de uma eventual espécie presente no local. Essa análise leva em conta a vegetação local e os caracteres morfológicos de cada pólen para classificação dos grãos de pólen (Maia et al., 2005).

Existem diferentes métodos na identificação e contagem de grão de pólen, entre eles temos: a contagem com olho humano que é possível de ser feita através de qualquer microscópio, no entanto consome-se muito tempo do pesquisador; contagem por varredura eletrônica, mas este método requer um microscópio de varredura e não são todas as instituições que possuem, no entanto este método é mais preciso na identificação do grão de pólen por ser possível mostrar com nitidez os detalhes microscópicos pólen; outra possibilita é através do contador a laser de partículas, mas não é uma técnica muito apropriada, pois tem precisão apenas em grãos esféricos e o que foge deste padrão não é contado (Costa e Yang, 2009). No entanto estes métodos apresentados são muito cansativos de realizar e são passíveis de erro humano.

A automatização no processo de identificação e contagem de grãos de pólen tornam a análise mais rápida e menos trabalhosa, pois permite contar com praticidade um número maior de grãos e é mais precisa na identificação polínica (Langford et al., 1990). Ocorreram várias tentativas para automatizar a identificação de grãos de pólen

em imagens microscópicas por algoritmos de computador, mas ainda assim não é um processo barato e totalmente automatizado (Chica & Campoy 2012).

Quinta (2009) relata que na área da visão computacional são desenvolvidos algoritmos para obtenção de informações a partir de imagens, buscando a automatização de tarefas geralmente associadas à visão humana. Na visão humana, os olhos capturam as imagens e posteriormente o cérebro realiza a análise e identificação de seu conteúdo. A visão computacional apresenta uma série de etapas para reproduzir essa tarefa realizada pelos seres humanos.

A pesquisa se justifica na validação de um programa de computador capaz de realizar a automatização da identificação e contagem de tipos polínicos, o que poderá ser feito por qualquer pessoa que saiba manusear o programa de computador e não apenas pelo especialista como é feito hoje.

Desta forma, buscando a melhoria e a automação de estudos palinológicos, um programa de computador será desenvolvido pelo Grupo de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação em Visão Computacional (INOVISÃO) da Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), que será capaz de reconhecer um conjunto de grãos de pólen e de imediato identificará a origem botânica dos produtos apícolas, o que contribui para evitar fraudes e também para agregar valor à apicultura desenvolvida no Estado do Mato Grosso do Sul, que será o primeiro no mundo a utilizar a automatização de classificação polínica.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Validar um programa de computador, capaz de realizar a identificação e a contagem dos grãos de pólen presentes em amostras de méis, utilizando a visão computacional em imagens de grãos de pólen de plantas apícolas nativas do Cerrado para determinar sua origem botânica com o intuito de chegar a rastreabilidade botânica de produtos apícolas e assim agregar valor ao produto.

3.2. Objetivos Específicos

1. Criação de uma palinoteca da flora apícola do estado de Mato Grosso do Sul;
2. Criação de um banco de imagens dos tipos polínicos;
3. Aplicação de técnicas de visão computacional e áreas afins para realização de reconhecimento e contagem de grãos de pólen;

4. Correlação dos resultados obtidos com o conhecimento de especialistas em palinologia e pessoas inexperientes nesta área e validar com os resultados obtidos com o programa de computador.
5. Proteger o programa de computador

5. REVISÃO DA LITERATURA

O objetivo da visão computacional é automatizar a tomada de decisões úteis sobre objetos físicos e cenas reais com base em imagens detectadas (Shapiro; Stockam, 2001). Segundo Yang e Gillies (2008) visão computacional é exatamente o oposto da computação gráfica. Os processos em computação gráfica iniciam com uma descrição funcional, e terminam com uma imagem de representação. Neste caso, a imagem possui as informações completas, assim, a maior parte dos problemas é de natureza algorítmica. Na visão computacional não se tem a informação completa. Conseqüentemente deve ser usado o domínio específico de conhecimento, suposições ou heurísticas para alcançar o objetivo.

O campo da visão computacional é dedicado à descoberta de algoritmos de como representar uma determinada imagem, existem também os algoritmos que melhoram a imagem captada, como por exemplo, a diminuição de ruído, eliminação de sombras, detecção das bordas do objeto, dentre outros. Após o melhoramento da imagem, segue-se a parte de segmentação do objeto, que consiste na utilização de programas específicos para manipulação de imagem que faz recortes automáticos ao redor do objeto de interesse. A segmentação da imagem é uma das partes mais importantes em visão computacional, pois se a imagem for segmentada de maneira errônea, as partes seguintes do reconhecimento de imagem serão comprometidas.

A extração de pontos de interesse na imagem é feita por algoritmos específicos como, por exemplo, o SURF que detecta um ponto de interesse em objeto e o descreve formando assim uma coleção de vetores de cada imagem, gerando assim um dicionário visual. Como este processo gera-se muitos pontos de interesse em cada imagem, o que pode dificultar a utilização do software. Para diminuir a quantidade de pontos de interesse é primeiramente definido qual será o tamanho do vocabulário que é o K do algoritmo K-means, então este algoritmo será responsável por encontrar os pontos médios entre os vocabulários e criar assim um agrupamento dos conjuntos dos vetores mais similares entre si que foram extraídos de cada imagem, essas médias de vetores constitui então as palavras do vocabulário.

As palavras utilizadas pela técnica de “Bag-of-words” são derivadas do algoritmo “K-means”, então quando chega uma imagem nova os pontos de interesse são extraídos para se gerar um vetor, então o “Bag-of-words” consegue identificar de qual palavra o novo vetor tem maior afinidade, então ele procura os pontos mais semelhantes entre si através de um histograma das palavras código. Então quando o “Bag-of-words” precisa classificar um novo vetor ele busca em sua biblioteca aquele vetor que é o mais próximo daquele apresentado, que é um treinamento realizado através da aprendizagem de máquina.

A apicultura traz diversos benefícios por ser uma atividade sustentável e proporciona tanto vantagens econômicas com a comercialização do mel e seus derivados, como sociais através da geração de empregos. Apesar de ser produzido no Brasil há muito tempo, pouco se sabe sobre as características e origem dos produtos apícolas comercializados em cada região do país.

Na atividade apícola, a exploração comercial dos produtos das abelhas exige do apicultor, além do manejo adequado de suas colmeias, a suficiência de pasto apícola que é constituído do conjunto de plantas cujas flores produzem néctar, pólen, resinas ou óleos, os quais são de essencial para que o produtor tenha sucesso no seu empreendimento de produção de mel (Pinho-Filho, 2007).

Como alimento, o mel é produzido pelas abelhas a partir do néctar das flores, das secreções de partes vivas das plantas ou ainda de excreções de insetos sugadores das mesmas. As abelhas recolhem estes produtos e os transformam, combinam com substâncias específicas próprias, armazenam e deixam maturar nos favos da colmeia (Brasil, 2000). Ao procurarem estas secreções que geralmente estão próximas às flores, as abelhas podem carregar os grãos de polens aderidos às suas cerdas para o mel, fato este que pode ser usado na caracterização da sua origem botânica.

6. METODOLOGIA

O trabalho será desenvolvido nos Laboratórios do Centro de Tecnologia para o Agro-negócio (CeTeAgro) da Universidade Católica Dom Bosco-MS e no ambiente do Laboratório do Grupo de Pesquisa INOVISÃO da UCDB.

A metodologia prevê a identificação e contagem manual em microscópio dos grãos de pólen presentes nas amostras de méis com comparação das imagens coletadas da palinoteca e posterior validação da automação da identificação e contagens dos mesmos materiais que será realizado pelos módulos do programa de

computador desenvolvido pelo grupo de pesquisa. Para ambas as metodologias há necessidade de preparo prévio das amostras de mel. Quando o programa de computador for capaz de fazer automaticamente a identificação e contagem dos grãos de pólen, então será feita a validação do programa com pesquisadores da área de palinologia e pessoas leigas do assunto.

6.1. Processamento das amostras de mel

Será coletada uma amostra de mel de cada um dos 78 municípios de Mato Grosso do Sul, na qual será feita a análise melissopalínológica que consiste em suspender 10 mL de mel que será pesado em balança analítica com quatro casas decimais e posteriormente diluído em 10 mL de água destilada a 40°C. Serão acrescentados 50 mL de álcool etílico 95% e a mistura será centrifugada a 1500rpm para isolamento e concentração dos grãos de pólen no fundo do tubo. Após o descarte do sobrenadante, o pólen residual será submetido ao processo de acetólise conforme técnica descrita por Louveaux et al. (1970) e adaptada por Jones & Bryant Jr. (2004) o que permite melhor destacar as imagens. A técnica utiliza de 1 parte de ácido sulfúrico e 9 partes de anidrido acético (Louveaux et al., 1970) para preparar uma solução da qual 2mL serão vertidos sobre cada amostra. Os frascos são colocados em banho-maria a temperatura de ebulição que em Campo Grande, MS é de 97°C por dois minutos, o sobrenadante é descartado e 2 mL de ácido acético é acrescentado à amostra de forma a proporcionar uma aparência seca. A amostra deve ficar em repouso por uma hora e posteriormente o sobrenadante é descartado e o precipitado deve ser suspenso em 2 mL de glicerina líquida para reidratação dos grãos de pólen.

Para o preparo das lâminas permanentes corta-se um cubo 3mmx3mm de gelatina glicerinada de Kisser (Salgado-Labouriau, 1973), que é usada para friccionar o fundo dos tubos de forma a recolher os grãos de pólen por adesão à gelatina (Louveaux et al., 1970). Os tipos polínicos serão identificados nestas lâminas segundo palinoteca local, técnica descrita por Santos (2011), com auxílio da literatura polínica especializada de Roubik & Moreno (1991), Palacios et al. (1991), Carreira & Barth (2003), Melhem et al. (2003), Borges *et al.* (2006) e Silva (2012).

Para ter a validação confiável de que os grãos identificados são realmente das referidas plantas, as lâminas serão levadas em centros palinológicos fora do Estado, para especialistas da área, pois como trabalham com a identificação polínica há muito tempo, espera-se que eles tenham certeza quanto à identificação de cada pólen, extinguindo-se assim a dúvida quanto à classificação, desta forma a confirmação dos

tipos polínicos por pesquisadores experientes será o “ground-truth”, ou seja, o conjunto de referência de pólen que se sabe a real procedência botânica.

6.2. Captura da imagem de grão de pólen

Para capturar as imagens dos grãos de pólen (Figura 2) será utilizado um microscópio digital LCD micro Bresser com lentes de aumento de 40X que faz a captura das imagens da lâmina microscópica (100 campos) e que através do cartão de memória são transferidas para um laptop onde estará instalado o programa de computador de identificação que é dotado de um módulo que faz o pré-processamento da imagem para redução de ruídos, segmenta e isolar as regiões contendo os grãos de pólen para reconhecimento dos padrões que identifica os diferentes tipos polínicos. Em um segundo módulo do programa, ele fará a contagem dos grãos de pólen iguais, para estipular a frequência polínica em cada amostra de mel. Em situações que ocorram aglomerados de grãos de pólen (Figura 3) muito complexos, o programa de computador deverá ignorar essas regiões e estimar o total de grãos de pólen com base nas amostras passíveis de contagem.

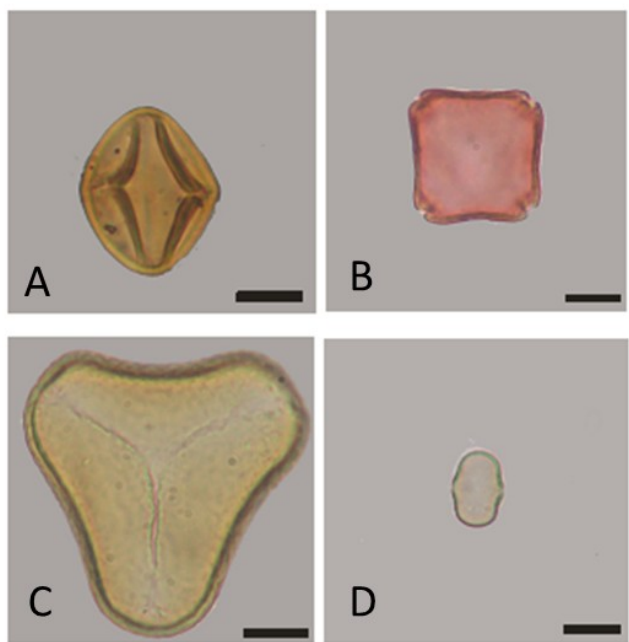


Figura 2: Imagens de grãos de pólen com aumento de 40X. A- Anacardiaceae; B- Myrtaceae; C- Arecaceae; D- Urticaceae.



Figura 3: Caso em que ocorre aglomerados de grãos de pólen.
Aumento de 40X.

6.3. Módulo de identificação dos grãos de pólen

O grão de pólen possui uma visão tridimensional, desta maneira, de cada tipo polínico identificado serão capturadas 30 imagens de cada grão em diferentes posições, para o treinamento do programa de computador no reconhecimento de um determinado pólen por vários ângulos e independente da posição que o pólen se encontre.

As imagens captadas dos campos da lâmina serão transferidas para um laptop e feita a segmentação da imagem usando o programa Photoshop de maneira que em cada imagem permaneça somente os grãos de pólen identificados.

Como os grãos de pólen possuem um padrão de forma e pontos de interesse o programa de computador a ser desenvolvido possui um módulo baseado em Visão Computacional que será utilizado para reconhecer a forma dos grãos de pólen nas imagens, com aplicação das técnicas de pré-processamento e segmentação como descritos nos tópicos a seguir:

1. O pré-processamento consiste em transformar a imagem capturada em outra imagem melhorada, ou seja, visa melhorar a qualidade da imagem apresentada anteriormente. Exemplificando, a imagem pode ser trabalhada quanto a sua nitidez, ruído, distorção, brilho, contraste, cores, dentre outras formas de melhorar a imagem.

2. A segmentação é a transformação da imagem em uma escala reduzida de informações que tem por objetivo reduzir ao máximo as informações desnecessárias da imagem para as etapas posteriores. Este módulo realça e separa os grãos de pólen que podem estar muito próximos (Figura 3) e elimina todo o fundo da imagem, deixando somente célula. Este procedimento tem a finalidade de evitar possíveis enganos do classificador quando a mudança de gradiente da imagem ou agrupamentos dos grãos de pólen.

3. A extração de atributos da imagem será feita através do algoritmo SURF que detecta e descreve os pontos de interesse na imagem. Após a detecção de grãos de pólen ocorre a extração de um ou vários pontos de interesse da imagem. No passo de aprendizagem automática do algoritmo é realizada a automatização da identificação dos grãos de pólen que possuem visão tridimensional, sendo que primeiramente é fornecido ao algoritmo 30 imagens de várias visões de um determinado pólen para que ele possa extrair todos os pontos de interesse das imagens.

4. Posteriormente os atributos de cada espécie de pólen são apresentados ao “Bag-of-words” que fará a extração dos atributos com mais afinidades entre si e então formará um histograma dos vetores em que a imagem possui maior afinidade.

6.4 Módulo de contagem dos grãos de pólen

Quando o programa de computador for capaz de reconhecer todos os grãos de pólen das amostras será feito o segundo módulo do programa de computador que será a capacidade de fazer com que o programa faça a contagem automática dos grãos de pólen presentes nas amostras de mel.

Nesta fase serão entregues ao programa de computador imagens que contenham vários grãos de pólen (Figura 4), e a partir da imagem original será utilizada a Transformada Generalizada de Hough (Ballard, 1981) para detecção dos grãos de pólen, pois esta transformada é capaz de reconhecer qualquer forma geométrica paramétrica a partir de um conjunto de pontos.

Após o treinamento do programa e ele que será capaz de contar os grãos de pólen em uma amostra e quantificar os tipos polínicos de cada espécie, apresentando assim a frequência polínica de cada amostra de mel.

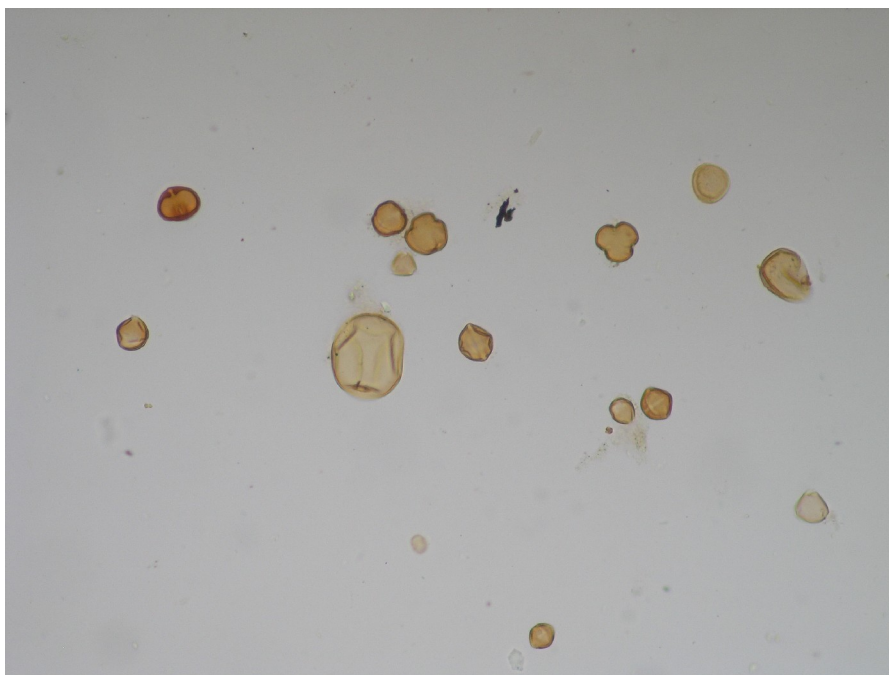


Figura 4: Captura de imagem de vários grãos de pólen presentes no mel com aumento de 10X.

6.5 Validação do programa de computador na identificação e contagem dos grãos de pólen

O programa de computador será treinado no reconhecimento de grãos de pólen e para validar seu desempenho no reconhecimento dos grãos, serão selecionadas 20 imagens de cada tipo polínico nos mais diversificados ângulos que se possa encontrar um grão de pólen, mas que não foram utilizadas no treinamento do programa, ou seja, o programa não teve acesso às imagens. E então serão realizados testes com o programa de computador em relação ao desempenho humano. As imagens selecionadas serão entregues ao programa de computar e a grupos de pessoas que possuem diferentes graus de conhecimento em palinologia para que eles realizem a classificação dos polens, os grupos são descrito a seguir: A- Cinco especialistas em palinologia com no mínimo dois anos de experiência nesta área; B-Treinamento de cinco apicultores que nunca tiveram contado com a palinologia e serão ensinados a identificar grãos de pólen durante dois dias; C- Cinco apicultores sem conhecimento de palinologia e nenhum treinamento prévio, contudo terão acesso a um banco de imagem que possua apenas um ângulo da imagem de pólen de cada espécie.

Serão selecionadas 50 imagens com vários grãos de pólen em que o programa não teve acesso, e apresentadas ao programa de computador e aos mesmos grupos de pessoas para que seja feita a contagem da proporção de cada tipo polínico nas imagens.

Após a certificação dos erros e acertos que cada grupo obteve será feito a estatística do desempenho do programa de computador versus a do desempenho humano, para verificar a precisão do programa na identificação dos grãos de pólen.

O modelo estatístico que será utilizado será o teste de Friedman que é um teste não paramétrico que também são conhecidos como testes de distribuição livre, porque fazem poucas ou nenhuma suposições sobre o tipo de dados que pode ser utilizado (Field, 2009). Para esta proposta, o teste de Friedman visa analisar o resultado obtido por cada grupo e verificar se a hipótese previamente descrita por ele é verdadeira ou não. Este teste assume a hipótese de que o programa de computador rivalizando o desempenho humano é igual, ou seja, assume o que se chama de hipótese nula. Um valor, chamado de valor p é calculado e, com base no resultado que ele apresenta, a hipótese nula pode ser rejeitada ou não. Através do valor de p é possível rejeitar ou não a hipótese nula de acordo com o grau de significância que seu teste irá adotar. Se o valor de p for menor que o valor de significância a hipótese nula será rejeitada, logo é possível concluir que programa de computador rivalizando o desempenho humano é diferente. Caso contrário, pode-se dizer que a hipótese nula é aceita e que programa de computador rivalizando o desempenho humano é igual. Para o teste de Friedman, os dados se dispõem em uma tabela dupla entrada com n linhas e k colunas. As linhas apresentam os vários indivíduos ou conjunto correspondentes de indivíduos, e as colunas representam as diversas condições. Se esta sendo estudados os scores dos indivíduos observados sob todas as condições, então cada linha da o score de um indivíduo sob as k condições. Caso, utilizando-se um nível de significância de 95% (p -value < 0.05), seja constatado diferença, um teste post-hoc será realizado e os Box-plots resultantes analisados. O teste post-hoc, também disponível no R, tem como base o teste de Wilcoxon com correção para FWER (Family-wise Error Rate) descrito por Hollander e Wolf (1999).

7. ATIVIDADES E CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

| ATIVIDADES | BIMESTRES | | | | | | | | | | | |
|------------|-----------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| | | | | | | | | | | | | |

| | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Revisão da literatura | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Isolamento dos grãos de pólen das amostras de mel | X | X | X | X | X | X | X | X | X | | | |
| Uso do programa de computador na identificação dos grãos de pólen | | | | X | X | X | X | X | X | | X | |
| Uso do programa de computador na contagem dos grãos de pólen | | | | | | X | X | X | X | X | X | |
| Desempenho humano na identificação dos grãos de pólen | | | | | | | | | X | X | X | |
| Tabulação e organização dos resultados | | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Redação de relatório parcial | | | | | | X | | | | | | |
| Redação de relatório final e artigos | | | | | | | | | X | X | X | X |
| Defesa da Dissertação | | | | | | | | | | | | X |

8. RESULTADOS ESPERADOS

A criação de um programa de computador desenvolvido pelo grupo de pesquisa INOVISÃO e realizar seu registro, pois o mesmo será capaz de identificar e contar os grãos de pólen, que será o primeiro programa desenvolvido no Brasil permitindo assim aos pesquisadores do Estado do Mato Grosso do Sul a automatização na identificação e contagem de grãos de pólen presentes em produtos apícolas, o que permitiu a denominação botânica dos produtos, agregando assim valores aos produtos apícolas produzidos no Estado e evitando possíveis fraudes nestes produtos.

O domínio da tecnologia que poderá ser também aplicada em outros setores como a palinologia forense, que utilizada de grãos de pólen presentes em cadáver para averiguar se este foi morto no local em que foi encontrado ou deixado neste local, além da contribuição na própria palinologia como a identificação de grãos de pólen do quaternário e presente em coprólitos o que permite desvendar a história da Terra em outras eras, ressaltando que a pesquisa é original e inédita.

9. REFERÊNCIAS

Ballard, D. H. (1981). Generalizing the Hough transform to detect arbitrary patterns. *Pattern Recognition*, 13(2):111–122.

Borges, R.L.B., Lima, L.C.L., Oliveira, P.P., Silva, F.H.M., Novais, J.S., Dórea, M.C., Santos, F.A.R. (2006) O pólen no mel do Semi-Árido brasileiro. v.3, in: Santos F.A.R. (Ed.), *Apium plantae*, IMSEAR, Recife, Brazil.

Brasil. (2000). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Defesa Animal. Legislação. Sistema de Consulta a Legislação. Módulo de Legislação Agropecuária. Instrução Normativa n. 11, de 20-11-2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do mel, online: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>.

Carreira, L.M.M., Barth, OM. (2003) Atlas de pólen da vegetação de canga da Serra de Carajás (Pará, Brasil), Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, Brazil.

Chica, M.; Campoy, P. (2012). Discernment of bee pollen loads using computer vision and one-class classification techniques. *Journal of food Engineering*, n. 112, p. 50–59.

Costa, C.M.; Yang, S. Counting pollen grains using readily available, free image processing and analysis software. ***Annals of Botany***, n. 104, p. 1005–1010, 2009.

Field, A.P. ***Descobrimos a estatística usando o SPSS***. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

Goodman, L.J. Form and function in the honey bee. International Bee Research Association, 220 p., 2003

Hollander, M.; Wolf, D. A. *Nonparametric Statistical Methods*. 2nd Edition. New York: John Wiley & Sons, 1999.

Jones, G.D., Bryant, V.M.Jr. (2004) The use of ETOH for the dilution of honey, *Grana*, 43, 174–182.

Langford, M., Taylor, G.E., Flenley, J.R., (1990). Computerized identification of pollen grains by texture analysis. *Review of Palaeobotany and Palynology*, n. 64, p. 197-203.

Lopes, M.T.R., Camargo, R.C.R., Vilela, S.L.O. (2001) *Apicultura*, Embrapa Meio-Norte, Teresina, Brazil.

Louveaux, J., Maurizio. A., Vorrwohl, G. (1970) *Methods of melissopalynology*, *Bee World* 51, 125-131.

Maia, M., Russo-Almeida, P.A., Pereira, J.O. (2005) Caracterização do espectro polínico dos méis do Alentejo (Portugal), *Silva Lusitana* 13, 95 - 103. LIU, X.; WANG, D.; RAMIREZ, J.R. Boundary detection by contextual non-linear smoothing. *Pattern Recognition*, vol. 33, p.263-280, 2000.

Melhem, T.S., Cruz-Barros, M.A.V., Corrêa, A.M.S., Makino-Watanabe, H., Silvestre-Capelato, M.S.F., Gonçalves-Esteves, V.L. (2003) Variabilidade polínica em plantas de Campos do Jordão (São Paulo, Brasil), *Boletim do Instituto de Botânica* 16, 1–104.

Palacios, C.R., Ludlow, W.R., Villanueva, G.R. (1991) *Flora palinologica de la reserva de la biosfera de Sian Ka'An Quintana Rôo, México*, Centro de Investigaciones Quintana Roo, Chetumal.

Pinho Filho, R. (2007) *Criação de Abelhas*, 3. ed., SEBRAE-MT, Cuiabá, Brazil.

Quinta, B.N.L. C. (2009). *Desenvolvimento de um Sistema de Visão Computacional para o Controle Microbiano em Processos de Produção de Etanol*. 2009. 50p. Monografia (Final de Curso de) Engenharia de Computação, Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande.

Roubik, D.W., Moreno, J.E. (1991) Pollen and Spores of Barro Colorado Island, Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden 36.

Salgado-Labouriau, M.L., (1973). Contribuição a Palinologia dos Cerrados. São Paulo: Academia Brasileira de Ciências, 291p.

Santos, F.A.R.; Pin-Ferreira, A.B. (2001) Variabilidade polínica de *Opuntia brasiliensis* (Willd.) Haw. (Cactaceae), *Sitientibus* 1, 95-98.

Santos, F.A.R. (2011) Identificação botânica do pólen apícola, *Magistra* 23, 4-9.

Shapiro, L.; Stockman, G. (2001) Computer vision. New Jersey: Prentice Hall.

Silva, A.P.C. (2012) Análise palinológica de amostras de mel de *Apis mellifera* L. produzidas no estado de Sergipe, Brasil, Dissertação (Mestrado em Botânica), Universidade Estadual de Feira de Santana, Brazil.

Silva, S.J.R., Absy, M.L. (2000) Análise do pólen encontrado em amostras de mel de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) em uma área de savana de Roraima, Brasil, *Acta Amazonica* 30, 579-588.

Yang, GZ; Gillies, D.F. (2008). Computer Vision, Department of Computing, Imperial College. Disponível em < www.doc.ic.ac.uk/~gzy>. Acesso em 30 de Outubro de 2011.