



**Desenvolvimento de um Sistema Baseado em Visão Computacional para
Identificar, Contar e Rastrear Grãos de Pólen**

Chamada FUNDECT N° 10/2015 – UNIVERSAL-MS

Universidade Católica Dom Bosco

29 julho de 2015
Campo Grande-MS

1. INSTITUIÇÕES INTEGRANTES E PARCEIRAS

INOVISAO/Universidade Católica Dom Bosco (UCDB) - 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.

CeTeAgro/UCDB - Centro de Tecnologia e Análise do Agronegócio. O CeTeAgro possui laboratório para análise palinológica, crescimento de plantas e tratamento térmico. São desenvolvidas pesquisas com comportamento animal e vegetal monitorados por câmeras, cujas imagens são posteriormente analisadas e processadas por técnicas de visão computacional, inteligência artificial e áreas afins, com o intuito de auxiliar na obtenção dos resultados de tais experimentos, minimizando consequentemente erros provenientes de limitações humanas.

Coordenadoria Geral de Perícias/ Secretária de Estado de Justiça e Segurança Pública - Responsável pela realização das perícias oficiais e identificação do Estado de Mato Grosso do Sul. O Instituto de Criminalística Hercílio Macellaro realiza perícias na área de criminalística, relacionadas aos locais de crimes decorrentes de infrações penais, assim como exames indiretos, documentoscopia, reproduções simuladas, exames de balística forense, de identificação de veículos, de perícias especiais e audiovisuais, entre outros.

Universidade de Nebraska-Lincoln – A Faculdades de Ciência Forense e a Escola de Recursos Naturais (ERN), em conjunto desenvolvem pesquisas com polens em cenas de crimes, da qual o Professor Dr. Karl Reinhard é professor titular. A universidade possui um centro de pesquisas com palinologia que examina polens arqueológicos e modernos, além de estudos com ecologia da polinização para reconstrução de cenas.

Herbário CGMS/ Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) – A coleção do herbário é a maior de Mato Grosso do Sul e heterogênea com espécimes oriundos de diferentes regiões do estado. Deste modo o Herbário CGMS, conta com espécimes do Pantanal, Chaco, Cerrado, Florestas Estacionais da planície e das morrarias. Na coleção estão incorporados predominantemente espécimes de Angiospermas, além de alguns exemplares de Pteridófitas, Briófitas e Líquens. O profº Arnildo Pott é um renomado classificador e identificador de plantas, além de ser um dos curadores deste herbário.

LABGIS/UFMS - Laboratório de Geoprocessamento para Aplicações Ambientais. O principal objetivo do LabGIS é a formação de recursos humanos e produção científica, através dos cursos de graduação (bolsistas de iniciação científica, extensão e apoio técnico), mestrado e doutorado, gerando mão de obra qualificada para atuar em ensino, pesquisa e extensão nas mais diversas áreas do conhecimento.

LEGOC/ Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) - Laboratório de Ecologia Gustavo de Oliveira Castro. O LEGOC é um dos laboratórios da Fundação Oswaldo Cruz de Manguinhos. O LEGOC desenvolve e orienta grupos e projetos de pesquisa, inter e multidisciplinares, na área de avaliação da saúde de ecossistemas naturais. Em pesquisa com palinologia aplicada, viabilizam a identificação e determinação de grãos de pólen em amostras diversas, como sedimentos recentes ou obtido através de escavações arqueológicas, de amostras de mel, de coprólitos (fezes fossilizadas) e de material botânico de coleções de herbário, entre outros.

LAMIV/ Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) - Laboratório de Micromorfologia Vegetal. O LAMIV desenvolve pesquisas em anatomia vegetal e palinologia. O LAMIV possui um acervo palinológico, único na região Nordeste, essa Palinoteca tem atualmente 2.345 registros com mais de 22 mil lâminas acondicionadas e que são constantemente utilizadas para a identificação dos tipos polínicos.

2. ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA

A identificação microscópica de pólen com visão humana apresenta limitações devido às aberturas, formas e características ornamentais da exina dos grãos de pólen serem parecidas, dificultando a identificação. Em alguns gêneros, a identificação até espécie é dificultada, devido à grande semelhança entre os polens, que por esta razão, são agrupados em tipos polínicos (SILVA e ABSY, 2000). A questão da determinação da espécie pela análise do pólen torna-se ainda mais complexa entre algumas espécies por ocorrer variabilidade polínica intraespecífica, com a exina apresentando variações entre os tipos polínicos de um mesmo gênero (SANTOS e PIN-FERREIRA, 2001).

Existem diferentes métodos na identificação e contagem de grão de pólen, entre os quais destaca-se a contagem com olho humano, feita no microscópio. No entanto, consome-se muito tempo do pesquisador (GONÇALVES et al., 2013), além de ser uma atividade monótona e exaustiva que leva a erros de classificação dos polens com o passar do tempo (CULVERHOUSE et al., 2013).

Outro método é a contagem por varredura eletrônica (COSTA e YANG, 2009). Este método requer um microscópio de varredura e não são todas as instituições que o possuem. O método é mais preciso na identificação do grão de pólen por mostrar com nitidez os detalhes microscópicos do pólen. Outra possibilidade é usar um equipamento de partículas a laser (DELL'ANNA et al., 2010), mas não é uma técnica muito apropriada, pois tem maior precisão em grãos esféricos, ocorrendo perda de informações nos formatos que fogem deste padrão (COSTA e YANG, 2009). Também, estes métodos são muito cansativos de realizar e são passíveis de erro humano.

Através de um programa de computador para automatizar a identificação e contagem de pólen, o tempo de processamento pode ser reduzido além de aumentar os índices de acerto da classificação. A identificação e contagem automática de grãos de pólen torna este processo mais rápido e menos trabalhoso pois, permite maior acerto na determinação e frequência polínica (LANGFORD et al., 1990), visto que muitas vezes são os fatores biológicos exaustivos e monótonos que influenciam na manipulação polínica (CULVERHOUSE et al., 2013). Um sistema computacional que otimize e solucione o problema da identificação de pólen pode ser utilizado em diversas áreas de conhecimento da Palinologia que demandam esta técnica.

A automatização no processo de identificação e contagem de grãos de pólen torna a análise mais rápida e menos trabalhosa, pois permite contar com praticidade um número maior de grãos, além da identificação polínica ser mais precisa. No entanto, este processo ainda não é acessível economicamente e totalmente automatizado (LANGFORD et al., 1990; CHICA e CAMPOY, 2012). A automatização da identificação e contagem de grãos de pólen pode ser realizada por visão computacional, que busca automatizar a tomada de decisões úteis sobre objetos físicos e cenas reais com base em imagens (SHAPIRO e STOCKAN, 2001).

O campo da visão computacional utiliza algoritmos para emulação da visão humana através de aprendizado em imagens digitais, que passam por três processos: 1) pré-processamento da imagem, por exemplo, redução de ruído; 2) segmentação da imagem, selecionar o objeto de importância na imagem; 3) nos objetos selecionados é realizada a extração de atributo, que significa a retirada de informações importantes e diferenciais em uma imagem, que possibilitam o seu reconhecimento por um computador (GONZALES e WOODS, 2010). A extração de informações do gradiente através do Histograma de Palavras Visuais (Bag of Word - BOW) (CSURKA et al., 2004), composto de um histograma com os números dos descritores de padrões e técnicas que extraem informações de cor, forma e textura (CHICA, 2012), são alguns exemplos de algoritmos de extração de atributos em imagens digitais. Outros algoritmos como Transformada

Watershed e Transformada de distância, são responsáveis por segmentar e contar objetos em uma imagem.

Para saber a procedência dos grãos de pólen é necessário saber o tipo de vegetação ocorrente em cada local, o que pode ser feito através de levantamento botânico. A aquisição das coordenadas de uma planta podem ser adquiridas tanto *in loco*, com aparelhos que medem a posição geográfica, como por imagens de satélite ou aéreas. Com as informações geográficas do posicionamento da vegetação ocorrente numa cidade é possível criar um banco de dados georreferenciado das plantas, possibilitando a busca de sua localização.

Com os dados de localização das plantas e os polens que ocorrem numa região é possível desenvolver pesquisas com a biodiversidade da flora. Dentre elas, a palinologia forense é uma ciência que utiliza as informações da flora de uma região para encontrar a procedência dos polens em uma cena de crime. A diversidade de plantas e micro-habitat em conjunto com o registro de pólen é uma excelente ferramenta para palinologia forense, pois uma determinada combinação de tipos polínicos definem um região, sendo assim uma técnica confiável para associar indivíduos ou objetos a um local (Bryant e Jones, 2006)

A pesquisa se justifica na criação de um método automático para reconhecimento, contagem e localização de grãos de pólen. Desta forma, buscando a melhoria e a automação dos estudos palinológicos, um programa de computador será desenvolvido em conjunto com o Grupo de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação em Visão Computacional (INOVISÃO) da Universidade Católica Dom Bosco (UCDB). Este grupo foi escolhido por ser pioneiro no Brasil, na construção de um programa de computador que automatize a identificação de grãos de pólen.

Enfim, com o desenvolvimento do software ele poderá ser utilizado em diversas áreas da palinologia, para denominação botânica de produtos apícolas, estudo de polens causadores de alergias, determinação dos polens encontrados em ambientes forenses, reconstrução de ambiental através dos polens encontrados nos horizontes de solo, dentre outros. Além do mais, com a identificação dos polens e registro da localização das plantas de um local, a comunidade é beneficiada por ter acesso a essas informações e assim, utilizá-las para outras finalidades e pesquisas, por exemplo, determinar o índice de CO₂ retirado da atmosfera, onde as plantas podem interferir na instalações de tubulações de água, gás, esgoto, polens alergênicos, dentre outros.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Desenvolver e validar um sistema computacional, baseado em visão computacional, com o intuito de realizar a identificação e contagem de grãos de

pólen em imagens digitais, e espacializar a localização das plantas de uma região, tornando possível a busca por determinada planta.

3.2. Objetivos Específicos

1. Estudo sobre as espécies de grãos de pólen presentes na região do Mato Grosso do Sul;
2. Aplicação de técnicas de visão computacional e áreas afins para realização de reconhecimento, contagem e busca de plantas de uma região através da imagem do grão de pólen;
3. Criação de sistema de informação para auxiliar o usuário.
4. Correlação dos resultados de identificação e contagem obtidos com o conhecimento de palinólogos e validar com os resultados obtidos com o programa de computador;
5. Validação do software na palinologia forense, documentação do programa implementado e proteção do software.

4. INOVAÇÃO E/OU ORIGINALIDADE DESTACADA NO PROJETO

Criação do primeiro programa de computador capaz de identificar, contar e rastrear grãos de pólen, possibilitando assim maior eficiência e rapidez no estudos com grãos de pólen e em várias áreas que demandam destas técnicas. Com a validação do programa de computador na palinologia forense, esta pesquisa será a primeira feita no Brasil, abrindo assim outras oportunidades para execução dessa pesquisa em demais regiões do país.

5. REVISÃO DE LITERATURA

As flores estão presentes em angiospermas. Uma flor bissexuada possui os órgãos femininos e masculinos na mesma flor e as flores unissexuadas apresentam o órgão feminino ou o masculino (GONÇALVES e LORENZI, 2007). O androceu é o órgão masculino da flor e é onde estão os grãos de pólen, que carregam o material gênico. O pólen apresenta duas estruturas: intina (parede interna) e a exina (parede externa). As aberturas ou poros, que é por onde o material gênico extravasa da célula, é uma estrutura que permite a identificação polínica (GONÇALVES e LORENZI, 2007). A exina é importante para classificação de tipos polínicos, pois é onde estão os elementos de análise para classificação, como as ornamentações, aberturas como poros, fissuras, dentre outras características do grão de pólen (Figura 1).

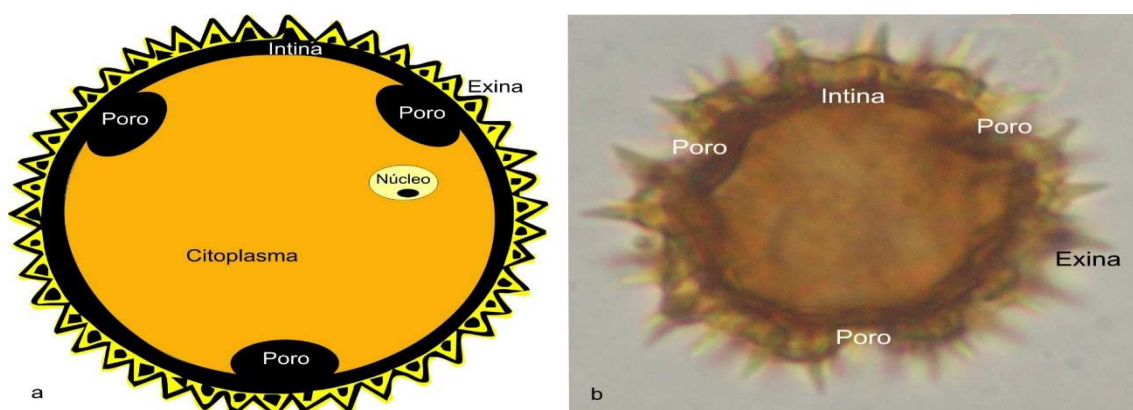


Figura 1: Detalhes das estruturas do grão de pólen. a) Ilustração; b) Imagem microscópica.

A Palinologia Forense se utiliza de grãos de pólen presentes em cenas de crime, cadáveres, vítimas, suspeitos, dentre outros. Através do pólen presente no objeto analisado é possível saber se este pertence ou não ao caso estudado, e se foi deixado no local. Assim, o pólen contribui para a investigação criminal. Já a Melissopalynologia trata do estudo dos grãos de pólen presentes em produtos apícolas. O pólen tem grande importância na determinação da origem botânica de produtos apícolas pois, para a fabricação, as abelhas precisam visitar várias flores em busca recursos florais.

A identificação de tipos polínicos é feita por um especialista que coleta os grãos de pólen de interesse, processa a amostra e visualiza sob o microscópio a lâmina palinológica. No entanto, a identificação de pólen tem interferência de fatores humanos como o cansaço, fadiga e capacidade limitada da memória (MANDER et al., 2014), que influenciam no reconhecimento das características dos polens, que pode levar a classificações errôneas.

A determinação da espécie pela análise do pólen torna-se ainda mais complexa em algumas espécies por ocorrer variabilidade polínica intraespecífica, na qual a exina apresenta variações entre indivíduos da mesma espécie (SANTOS e 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, que possibilita a comparação entre o pólen presente no local com o de uma eventual espécie não existente 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).

Outra maneira de determinar a ocorrência de plantas é através de geotecnologias, que permite saber a localização de plantas que ocorrem em uma região, tornando possível ir até seu local para realização de coleta de flores e conhecer o pólen da espécie. Uma das ferramentas espaciais disponíveis é a análise geoespacial, que é o estudo de um local específico na superfície da Terra, ou seja, a utilização do uso de informações geográficas que liga funções cartográficas, como a análise de vegetação. Este método é capaz de operar em

escalas espaciais e temporais, utilizando dados populacionais e de qualidade ambiental (PARANHOS-FILHO, 2008; ROSA, 2011; SMITH et al, 2013). As geotecnologias como geoprocessamento e sistemas de informações geográficas são ferramentas que tornam possível automatizar a análise espacial.

Análise Geoespacial é o estudo de um local específico na superfície da Terra, este método é capaz de operar em escalas espaciais e temporais, utilizando dados populacionais e ambiental (PARANHOS -FILHO, 2008; ROSA, 2011; SMITH et al, 2013). As geotecnologias como sensoriamento remoto e geoprocessamento são ferramentas que tornam possível automatizar a análise espacial. O Sensoriamento remoto é uma técnica para obtenção de dados ou imagens através de satélites (PARANHOS-FILHO, 2008), é uma ferramenta importante, pois permite obter imagens em tempo real ou recente de determinado local e assim estudá-la. Georreferenciamento é uma técnica que permite conhecer a informação geoespacial sobre um objeto em um espaço geográfico. Por exemplo, o georreferenciamento de vegetação é uma informação que toda a comunidade pode se beneficiar porque não há caracterização da espacialização sobre a biodiversidade da flora local.

5.2 Visão Computacional

Na área da visão computacional são desenvolvidos algoritmos para obtenção de informações a partir de imagens, algumas vezes, 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 possui uma série de etapas para reproduzir essa tarefa realizada pelos seres humanos.

Para determinados problemas, todas as etapas da visão computacional são aplicadas em sequência, porém essa não é uma regra para aplicações nessa área. Embora os conceitos mencionados em seguida estejam apresentados em sequência e relacionados, eles são independentes, sendo assim, pode haver situações em que apenas uma ou algumas etapas conseguem resolver o problema em questão com metodologias diferentes dessa apresentada.

Na etapa de pré-processamento, ocorrem processos como a redução de ruídos e o realce das imagens, geralmente, com o intuito de aumentar a qualidade da imagem para que as etapas posteriores não sofram as interferências dessas imperfeições. Com a imagem pré-processada, ocorre a segmentação, que tem como objetivo dividir a imagem de acordo com os objetos de interesse. Com os grupos de objetos segmentados (por exemplo, fundo e grão de pólen), é necessário realizar a extração de informações que permitam a caracterização dos tipos de objetos de interesse para cada problema.

Para maiores informações os trabalhos (SILVA et al., 2013) e (GONÇALVES et al., 2013), apresentam aplicações e técnicas distintas de

extração de atributos. Definidas as classes de um determinado problema, quando apenas a informação do objeto específico é analisada, consegue-se identificar a qual classe essa informação pertence. Esse processo é realizado por algoritmos de reconhecimento de padrões, por exemplo, encontrar padrões que refere-se a grãos de pólen. Uma das principais abordagens para reconhecimento de padrões é a aprendizagem supervisionada, que, a partir de exemplos previamente classificados de objetos das diferentes classes, busca inferir modelos capazes de representar e reconhecer novos objetos.

5.3 Técnicas de Extração de Atributos e Detecção

Atributos são informações contidas nas imagens que podem ser detectadas e lidas por algoritmos especializados. Os atributos de cor, forma e textura podem ser utilizados para extração de informações em imagens. Na área computacional as cores primárias, vermelho (Red), verde (Green) e azul (Blue), que originam outras cores, são definidas como cores RGB. Dentro deste sistema, as cores são obtidas através da mistura das três cores RGB, em que cada cor varia numa escala de 0 a 255 (PASCALE, 2003).

O modelo de cores que se refere a matiz (Hue), saturação (Saturation) e brilho (Brightness) da imagem, denomina-se HSB. Nesse modelo, a matiz é um atributo que descreve uma tonalidade ou cor pura, que é medido de -180° a 180° , totalizando 360° . A saturação determina a profundidade da cor, ou seja, de esmaecida a intensa. O brilho indica o nível de iluminação, ou seja, é a intensidade de luz em uma cor que define claro e escuro, em uma escala 0% sem luz (preto) e 100% iluminação completa (branco) (PASCALE, 2003).

A forma é um dos elementos levados em consideração para a classificação de imagens, onde a linha que limita exteriormente o objeto é o contorno ou borda (VERNON, 1991). A delimitação da fronteira é importante para determinar sua forma e assim o distinguir entre outros objetos. A textura é atribuída à percepção humana e apresenta uma repetição de padrões como brilho, tonalidade, tamanho, inclinação, dentre outros (NIXON e AGUADO, 2002; SÁ-JUNIOR et al., 2013). Entre os grãos de pólen, é possível visualizar a textura através da parede da exina que apresenta superfícies distintas entre os tipos polínicos (Figura 2).

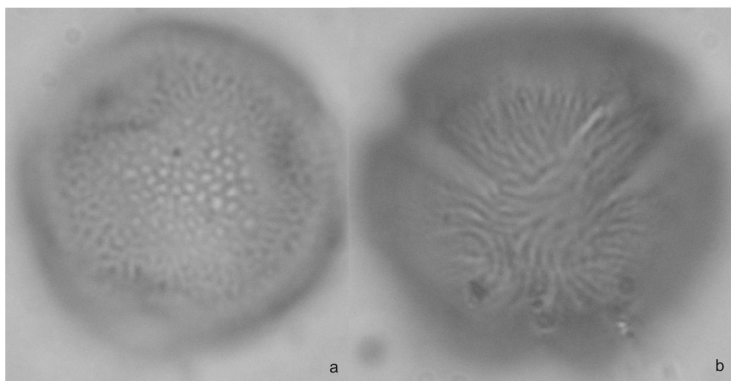


Figura 2: Diferença de textura entre polens pertencentes à família Anacardiaceae. a) Superfície com pontos. b) Superfície ondulada.

Dentre os algoritmos para extração de textura, existem os Padrões Binários Locais (PBL), os Padrões Binários Locais Invariantes à Rotação (PBLROT) e Matriz de Co-ocorrência. O PBL analisa a textura local, e é definido como uma medida da textura invariante à escala de cinza. É um código binário que descreve o padrão de textura local sendo construído por pixels vizinhos que são somados para obtenção do PBL (MÄENPÄÄ et al., 2000). O PBLROT consiste na utilização dos valores obtidos pelo operador PBL de textura, mas que se diferencia deste por ser invariante à rotação (ZHAO e PIETIKÄINEN, 2007).

A Matriz de Co-ocorrência é um método proposto por Haralick et al. (1973), que determina quantas vezes um determinado tom de cinza aparecerá em par com outro tom de cinza na imagem. Neste método, a imagem é representada em valores de tons de cinza, baseado na distância e ângulo com que cada valor de cinza ocorre na imagem, é construída a matriz.

A técnica de Histograma de Palavras Visuais (Bag of Visual Words – BOW) detecta a variação de gradiente ocorrida na imagem, esta técnica cria um histograma com números dos descritores de padrões encontrados em uma imagem (CSURKA et al., 2004). Pontos de interesse na imagem são encontrados e extraídos por algoritmo de detecção de interesse, por exemplo, Speeded Up Robust Features (SURF), que é rápido em detectar os pontos de interesse e estes são agrupados pelo algoritmo K-means.

Segmentação é o processo que objetos são encontrados numa imagem e realizada isolamento entre o objeto e fundo da imagem. Existem muitos algoritmos de segmentação, dentre eles a Transformada *Watershed*, utiliza imagens em tons de cinza e realiza a segmentação através da leitura de valores de pixels, ou seja, valores altos representam montanha e valores baixos representam vales, analogicamente a modelos de relevo topográfico (ROERDINK E MEIJSTER, 2001). A segmentação *watershed* possibilita encontrar e segmentar grãos de pólen em uma imagem (ANDRADE et al., 2012).

Determina a frequência polínica de cada espécie em uma amostra é importante para inferir porque alguns grãos de pólen aparecem mais vezes que

outros. Neste sentido, a implementação de técnica de contagem de pólen é necessária, e dentre as técnicas existentes a Transformada de Distância. Esta técnica é aplicada em imagens binárias, onde é calculada a menor distância entre um pixel de um objeto e o fundo da imagem (FELZENSZWALB e HUTTENLOCHER, 2004). A utilização de *watershed* para destacar os pixels da borda do objeto, do fundo da imagem faz com que a transformada de distância encontre o objeto e gere um centroide que determina sua localização, permitindo assim a localização e contagem do objeto.

6. METODOLOGIA

Gonçalves (2015) deu início ao primeiro banco de imagens de grãos de pólen ocorrentes no Estado do Mato Grosso do Sul. Este banco será utilizado e serão acrescidos a ele os demais pólen encontrados na pesquisa. Para aumentar o banco de pólen serão coletadas em todas as épocas do ano as plantas encontradas em floração no Estado do Mato Grosso do Sul durante o período de dois anos.

Das plantas encontradas floridas no estado serão coletados ramos para o preparo de exsicatas que serão devidamente identificadas e flores para o preparo de lâminas palinológicas. O curador do herbário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Arnildo Pott, será responsável pela identificação das plantas e assim, será possível determinar o nome científico dos grãos de pólen. Além do mais, com a parceria existente com o LAMIV e LEGOC, será possível buscar na palinoteca destes locais as lâminas palinológicas dos tipos polínicos que ocorrem no estado e assim capturar as imagens dos polens das plantas que não forem encontradas em floração. As seções seguintes descrevem a construção do programa de computador para identificação, contagem e rastreamento de pólen, além do modo que o programa será validado.

6.1 Espacialização de Plantas

Para que seja possível o rastreamento das plantas de uma localidade, é necessário a escolha de um local. Assim, o local para rastreamento de espécies desta pesquisa será a cidade de Campo Grande, capital do Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. A população estimada da cidade é de 843.120 habitantes e a localização central da cidade está localizada sob as coordenadas 20° 26' 34" S e 54° 38' 47" O (IBGE 2014).

A análise espacial será utilizada nesta pesquisa para espacialização das plantas. Não há um registro completo sobre a localização das plantas de Campo Grande, por isso, é necessário conhecer a flora local para localizar as fontes

produtoras de pólen. Para o levantamento botânico de Campo Grande, serão compradas imagens recentes do satélite WorldView-2 com resolução de 40cm para fazer um banco de dados da flora local.

Para espacialização das plantas da cidade (Figura 3) serão sorteadas regiões dentro de bairros para aquisição das coordenadas geográficas através de GPS de todas as plantas de vias públicas. Assim, conhecendo o tipo de vegetação que ocorre em cada localidade e de posse das localizações das plantas, será possível determinar as plantas presentes em localidades particulares através do reconhecimento das copas das plantas.



Figura 3: Espacialização de plantas públicas em uma quadra de Campo Grande.

Desta maneira, as demais plantas da cidade serão identificadas e suas coordenadas serão obtidas através das imagens de satélite. Caso não seja possível a identificação de algumas espécies por estas imagens, então serão localmente visitadas. Todas as coordenadas das plantas serão inseridas no software Qgis 2.8.2 em cima da camada urbana da cidade, permitindo assim visualizar a ocorrência de cada planta.

Essas imagens permitirão saber onde estão os pontos de vegetação e, em alguns casos, por meio das imagens podemos identificar a planta até nível de espécie. As imagens serão selecionadas para conter pouca ou nenhuma cobertura de nuvens para aumentar a visualização da vegetação e assim possibilitar a identificação das plantas. Com a localização das plantas e informações palinológicas, será possível localizar as plantas que dispersam pólen na cidade de Campo Grande.

6.2 Implementação da Identificação de Pólen

Através das lâminas palinológicas de cada espécie serão capturadas imagens para compor o banco de dados. O grão de pólen possui uma visão tridimensional por isso é necessária a captura de várias imagens com visões diferentes da mesma espécie (Figura 4). Para a composição do banco de imagens serão capturadas 35 imagens dos grãos de pólen.

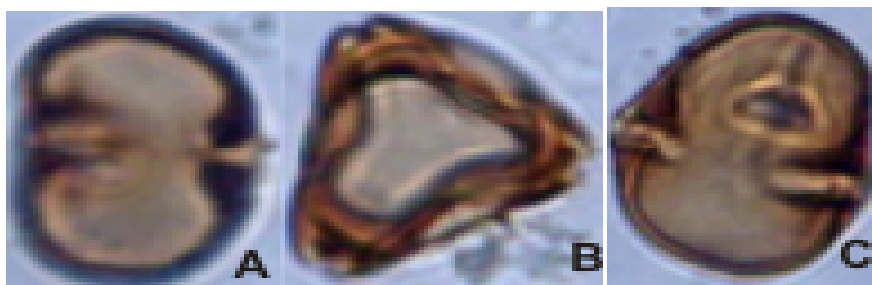


Figura 4: Diferentes visões do pólen de *Protium heptaphyllum*. A) Visão equatorial; B) Visão polar; C) outra visão.

A captura das imagens será realizada em microscópio Carl Zeiss com lentes de aumento de 40x em lâmina microscópica. O microscópio possui uma câmera que é acoplada nele e em um computador, sendo possível a captura e armazenamento da imagem visualizada no microscópio diretamente no computador. No computador as imagens serão segmentadas utilizando o software CorelDraw X3, de maneira que em cada imagem, permaneça somente o grão de pólen de interesse, excluindo o máximo de fundo da imagem (Figura 5).

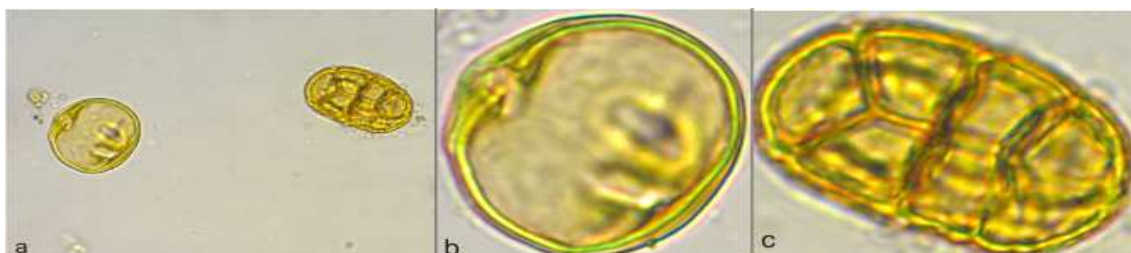


Figura 5: Imagem original capturada do microscópio. A) Imagem original com dois pólenes; B) Segmentação do pólen de *Protium heptaphyllum*; C) Segmentação do pólen de *Anadenanthera colubrina*.

Serão implementados algoritmos que extraem atributos de cor, forma, textura e gradiente para extração das informações das imagens de pólen. A técnica de cor utilizada será obtida através da média dos canais H (matiz), S (saturação) B (brilho) e R (vermelho). Para extração da forma, serão utilizados os métodos de fator de forma e circularidade, com algoritmos de k-curvaturas e descritores de forma. Além destas técnicas mencionadas, outras serão estudadas e implementadas para classificação dos polens.

Das imagens capturadas de cada espécie, 30 imagens serão utilizadas para aprendizagem do programa e 5 imagens para teste da aprendizagem. Será gerado um arquivo arff das imagens identificadas e analisado no software Weka. Além do mais, técnicas estatística como ANOVA e Friedman serão empregadas para conhecer quais técnicas terão melhor desempenho.

6.3 Implementação da Contagem de Pólen

Serão coletadas amostras de pólen presentes nos ambiente de casos forenses, pois possuem uma diversidade de tipos polínicos nas amostras. A partir disso, será criado um banco com 100 imagens com vários grãos (Figura 6) totalizando ao menos 500 grãos de pólen com todas as imagens. A captura de imagens será feita no microscópio Carl Zeiss com objetiva de 10x.

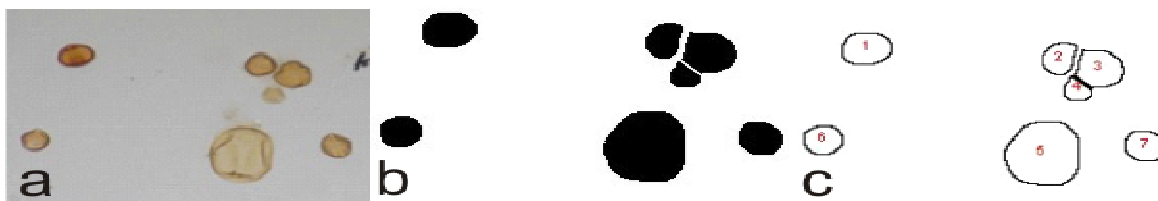


Figura 6: Imagem com vários grãos de pólen. a) Imagem original; b) Segmentação *watershed*; c) Contagem dos grãos de pólen.

Para contagem dos grãos de pólen nas imagens (Figura 5a), serão implementados algoritmos de *watershed* em conjunto com transformada de distância. Sendo que o primeiro, separa os grãos de pólen do fundo da imagem (Figura 5b) e o segundo encontra a localização de cada grão de pólen na imagem e quantifica (Figura 5c). Com estas imagens também é gerado um arquivo arff., que será analisado no Weka para avaliação do desempenho da contagem. Por fim, com o arquivo gerado da identificação em conjunto com o arquivo de contagem será possível determinar quantos grãos de cada tipo polínico cada imagem possui.

6.4 Módulo de apoio e tomada de decisão

Todas as coordenadas das plantas serão inseridas em um banco de dados que possuirá a imagem de satélite da cidade de Campo Grande ortorretificada e georreferenciada segundo o datum WGS84. A partir disso, será criado um sistema que fará a busca da ocorrência das plantas através de coordenadas, nome científico ou nome vernáculo. Assim, estas informações permitirão selecionar diferentes espécies de plantas ou seu conjunto e a sua ocorrência no local de estudo em uma escala com detalhes espaciais a 40cm. Além do mais, é possível a otimização do sistema com a constante atualização do banco de dados.

Com esta ferramenta o perito ou qualquer pessoa de posse do tipo de planta que quer encontrar numa localidade poderá fazer a busca no sistema onde ocorre determinada planta. Para o perito, a partir dos tipos polínicos encontrados num local ou objeto de caso forense, poderá levantar a ocorrência dos tipos encontrados em uma localidade e assim inferir os locais prováveis da procedência do polens.

6.5 Validação do Software

Para validação do software é necessário utilizá-lo em caso concreto, desta maneira, será feita uma aplicação em palinologia forense na cidade de Campo Grande/MS. A palinologia forense foi escolhida por ainda não existirem pesquisas no Brasil e por ser uma área de grande importância para a segurança pública, pois auxilia na resolução de crimes.

Conforme convênio firmado entre a Universidade Católica Dom Bosco com a Secretaria de Segurança Pública do Estado do Mato Grosso do Sul e em conjunto com a Coordenaria Geral de Perícia do mesmo estado, será possível a realização de coletas de grãos de pólen nos locais de crimes que ocorrem na capital do estado, Campo Grande. Assim, serão acompanhados pelo menos um caso por semana durante um ano, totalizando pelo menos 52 casos, de modo que seja possível acompanhar todas as variações sazonais de tipos polínicos na cidade. Além do mais, os locais de onde os polens forem coletados serão feitos registro fotográficos, documentação e obtenção da coordenada geográfica dos locais de crime.

Para evitar a contaminação dos tipos polínicos, alguns cuidados serão tomados como: 1) Mãos limpas; 2) Use de luvas, espátulas, escovas e cotonetes descartáveis; 3) Lâminas e lamínulas sempre novas; 4) Esterilização das ferramentas; 5) No laboratório a porta e janela serão fechados e será feita coleta para detecção de possível contaminação do ar, como descrito por Montali et al. (2006).

Amostras de pólen serão coletadas com swab e armazenadas em recipientes de plástico individuais. Em laboratório o swab será colocada dentro de um tubo de 50 mL Falcon, adicionar 20 ml de uma mistura de água e álcool (1:1) para a sedimentação de pólen através da centrifugação a $3.000 \times g$, durante 10 minutos. Após a centrifugação, o pólen é decantado no fundo do tubo e o sobrenadante é descartado (LOUVEAUX et al., 1970). O pólen isolado será retirado do tubo com uma espátula e colocado em uma lâmina contendo gelatina glicerinada (1cm x 1cm) para fixação da lâmina polínica.

Amostras de pólen do solo, como pegada, serão coletadas com uma espátula e armazenadas em sacos plásticos individuais. O sedimento será colocado em tubo Falcon de 50 mL com 20 mL de água destilada, seguido por uma centrifugação de $3.000 \times g$ por 10 minutos. O sobrenadante será descartado e o sedimento decantado será lavada duas vezes com ácido acético e acetólise durante quatro minutos, lavado com água destilada, fervido por 15 minutos em ácido clorídrico e por fim lavado com água destilada (YBERT et al., 1992). Com uma espátula os polens de dentro do tubo Falcon serão recolhidos e colocados

na superfície de uma lâmina com gelatina glicerizada para o preparo da lâmina palinológica.

Após o processamento das amostras coletadas nas cenas de crimes, os grãos de pólen serão fotografados e inseridos no programa, para que este faça a classificação e contagem dos grãos encontrados nas amostras. Ademais, as coordenadas dos locais de crime serão inseridas no programa para que através dos polens encontrados nas amostras em conjunto com a localização do local de crime seja possível rastrear a possível procedência dos grãos de pólen.

7. ATIVIDADES E CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

7.1 Cronograma de execução

Metas	Atividades	Tempo (Bimestre)											
		2015	2016						2017				
		6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5
1)	Revisão de Literatura	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
2)	Aquisição das Coordenadas de Plantas, Coleta de Ramos das Plantas, Flores e Identificação	X	X	X	X	X	X	X					
3)	Preparo de Lâminas Palinológicas e Construção de Banco de Imagens			X	X	X	X	X	X				
4)	Construção do Banco de Dados das Plantas					X	X	X	X	X			
5)	Visita a palinoteca da UEFS e LEGOC para captura das imagens dos polens das plantas que não foram encontradas florindo.								X	X	X		
6)	Aprendizado da coleta de pólen em cena de crime e processamento das amostras	X	X	X	X	X	X	X	X				
7)	Implementação das Técnicas Computacionais	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
8)	Realização de Experimentos nas Técnicas Computacionais	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
9)	Validação do software na palinologia forense		X	X	X	X	X	X	X				
10)	Registro e divulgação de resultados						X				X	X	X

7.2 Equipe e Atividades

Dr. Hemerson Pistori (pistori@ucdb.br): Professor permanente do Doutorado em Ciências Ambientais e Sustentabilidade Agropecuária e líder do Grupo de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação em Visão Computacional na Universidade Católica Dom Bosco. Coordenará o projeto e proporá os algoritmos de visão computacional para desenvolvimento do software.

Dr. Karl Reinhard (kreinhard1@mac.com): Antropólogo e professor permanente do Programa de Doutorado em Ciências Naturais da Universidade de Nebraska. Atuará na implantação da metodologia para coleta de pólen em locais de crime.

Dr^a. Marney Pascoli Cereda (cereda@ucdb.com.br). Professor permanente do Doutorado em Ciências Ambientais e Sustentabilidade Agropecuária, Coordenadora do Centro de Tecnologia e Análise do Agronegócio Pesquisador nível 2 do CNPq. Proporá aplicações de rastreabilidade de plantas.

Dr. Arnildo Pott (arnildo.pott@gmail.com): Professor permanente do Doutorado em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul Pesquisador nível 2 do CNPq. Identificação morfológica das plantas.

Dr. Antonio Conceição Paranhos Filho (toniparanhos@gmail.com): Professor permanente do Doutorado em Ecologia e Conservação da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e Pesquisador nível 2 do CNPq. Atuará na geoespacialização das plantas.

Dr. Francisco de Assis Ribeiro dos Santos (f.a.r.santos@gmail.com): Professor permanente do Programa de Doutorado em Botânica da Universidade Estadual de Feira de Santana e Pesquisador nível 2 do CNPq. Atuará na identificação de tipos polínicos desconhecidos.

Dr. Sérgio Augusto de Miranda Chaves (sdemirandachaves8@gmail.com): Coordenador e professor permanente do departamento de endemias da Fundação Oswaldo Cruz e Pesquisador nível 2 do CNPq. Atuará no procedimento de extração de grãos de pólen em sedimentos.

Ma. Ariadne Barbosa Gonçalves (ariadne.gon@gmail.com): Doutoranda no Programa de Ciências Ambientais e Sustentabilidade Agropecuária da Universidade Católica Dom Bosco. Realizará o experimento com a coleta de plantas e coordenadas, preparo das lâminas palinológicas, captura e processamento de imagem, sugerir melhorias no software e operar o programa de computador desenvolvido.

Msc. Wedney Rodolpho de Oliveira (wedney7@hotmail.com): Professor permanente dos cursos de Ciências Biológicas e Direito da Universidade Católica Dom Bosco, ademais é perito criminal da Coordenadoria Geral de Perícias do Mato Grosso do Sul. Proporá como proceder nos locais de crime.

Ma. Natascha Góes Cintra Borlachenco (nacintra@hotmail.com): Professora permanente do curso de Engenharia Florestal e Agronomia da Universidade Estadual do Mato Grosso do Sul e doutoranda no Programa de Ciências Ambientais e Sustentabilidade Agropecuária da Universidade Católica Dom Bosco. Atuará no preparo de lâminas palinológicas e captura de imagem dos grãos de pólen.

Alunos de Iniciação Científica:

Jessica Beatriz Pereira (jessica.beatriz.pereira.2012@gmail.com): Graduanda em Ciência Biológicas na Universidade Católica Dom Bosco. Atuará no preparo de exsicatas e confecção de lâminas palinológicas.

Wilton Gomes Nogueira (wiltongomes05hotmail.com): Graduando em Agronomia na Universidade Católica Dom Bosco. Atuará no preparo na confecção de lâminas palinológicas e captura de imagem.

8. RESULTADOS ESPERADOS, PRODUTOS E AVANÇOS

Espera-se com a pesquisa que seja possível a construção de um programa de computador que inovará as pesquisas com grãos de pólen, tornando possível a identificação, contagem e localização dos tipos polínicos de uma região. O software poderá ser aplicado em todas as áreas que demandam de seu uso, como a Palinologia Forense, Melissopalynologia, dentre outros.

A utilização do programa poderá ser feita por qualquer pessoa que saiba manuseá-lo e não apenas pelo especialista como a identificação e contagem de pólen é feita hoje. Além do mais, a validação do programa em casos de estudo com palinologia forense, fará do estado do Mato Grosso do Sul pioneiro nessa área e o tornará como referência para estudos futuros em outras regiões do país.

9. IMPACTOS E BENEFÍCIOS PARA MATO GROSSO DO SUL

Pretende-se que os resultados da pesquisa torne possível a facilitação do acesso a palinologia por qualquer pessoa capaz de utilizar o programa de computador. Pois, através deste será possível a automatização da análise quantitativa, qualitativa e espacial dos grãos de pólen.

Com o software também é esperado o uso na Segurança Pública, através de sua utilização na palinologia forense, o que possibilitará além da identificação e contagem dos tipos polínicos encontrados na cena do crime, a localização dos possíveis locais de que os polens são provenientes. Tornando possível a conexão ou não de outros locais além da cena de crime, vinculando ou excluindo determinado agente do local.

Além do mais, o conhecimento das plantas ocorrentes na cidade de Campo Grande e sua localização, traz benefícios para a comunidade que poderá utilizar estas informações para novas pesquisas. Espera-se também que os resultados obtidos possam propiciar um diferencial na economia local, pois a apicultura no estado tem crescido e com o software será possível a utilizá-lo para identificar e contar grãos de pólen em produtos apícolas. Isso possibilita determinar a origem botânica dos produtos apícolas produzidos no estado com rapidez e eficiência, além da valorização de sua procedência.

10. REFERÊNCIAS

1. ANDRADE, W.T.; QUINTA, L.N.B.; GONÇALVES, A.B.; CEREDA, M.P.; PISTORI, H. Segmentação baseada em Textura e Watershed aplicada a imagens de Pólen. **In: 25 Conference on Graphics, Patterns and Images**, p. 108-113, 2012.
2. BRYANT, V.M.; JONES, G.D. Forensic palynology: Current status of a rarely used technique in the United States of America. **Forensic Science International**, v. 163, p. 183–197, 2006.
3. CHICA, M.; CAMPOY, P. Discernment of bee pollen loads using computer vision and one-class classification techniques. **Journal of food Engineering**, v. 112, p. 50–59, 2012.
4. CHICA, M. Authentication of Bee Pollen Grains in Bright-Field Microscopy by Combining One-Class Classification Techniques and Image Processing. **Microscopy Research And Technique**, v. 75, p. 1475–1485, 2012.
5. COSTA, C.M.; YANG, S. Counting pollen grains using readily available, free image processing and analysis software. **Annals of Botany**, v. 104, p. 1005–1010, 2009.
6. CSURKA, G.; DANCE, C.; FAN, L.; WILLAMOWSKI, J.; BRAY, C. Visual categorization with bags of keypoints. **In: Workshop on Statistical Learning for Computer Vision**, p. 59–74, 2004.
7. CULVERHOUSE, P.F.; MACLEOD, N.; WILLIAMS, R.; BENFIELD, M.C.; LOPES, R.M.; PICHERAL, M. An empirical assessment of the consistency of taxonomic identifications. **Marine and Freshwater Research**, v. 10, p. 73-84, 2014.
8. DELL'ANNA, R.; CRISTOFORI, A.; GOTTARDINI, E.; MONTI, F. **A critical presentation of innovative techniques for automated pollen identification in aerobiological monitoring networks**. Pollen: Structure, types and effects. Ed: KAISER, B.J. New York, Nova science, p. 273-288, 2010.
9. FELZENSZWALB, P.; HUTTENLOCHER, D. **Distance transforms of sampled functions**. Cornell Computing and Information Science Technical Report TR 2004-1963, 2004.
10. GONÇALVES, E.G.; LORENZI, H. **Morfologia vegetal: Organografia e dicionário ilustrado de Morfologia das Plantas Vasculares**. São Paulo: Instituto Plantarum, 2007. 415p.
11. GONÇALVES, A.B.; RODRIGUES, C.N.M.; CEREDA, M.P.; PISTORI, H. Identificação computadorizada de tipos polínicos através de Bag of Words. **Cadernos de Agroecologia**, v. 8: p.14634, 2013.
12. GONÇALVES, A.B. **Validação de Métodos Baseados em Visão Computacional para Automação da Identificação de Grãos de Pólen**.

2015. 75 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, MS.
13. GONZALES, R.C.; WOODS, R.C. **Processamento Digital de imagens**. 3 ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2010. 624p.
 14. HARALICK, R.M.; SHANMUGAM, K.; DINSTEN, H. Textural features for image classification. **IEEE Systems, Man, and Cybernetics**, v. 3, p. 610–621, 1973.
 15. LANGFORD, M.; TAYLOR, G.E.; FLENLEY, J.R. Computerized identification of pollen grains by texture analysis. **Review of Paleobotany and Palynology**, v. 64, p. 197-203, 1990.
 16. MÄENPÄÄ, T.; OJALA, T.; PIETIKÄINEN, M. SORIANO, M. Robust texture classification by subsets of local binary patterns. **In:** Proc. 15 International Conference on Pattern Recognition, Barcelona (Spain), v. 3, p. 947–950, 2000.
 17. MAIA, M., RUSSO-ALMEIDA, P.A., PEREIRA, J.O. Caracterização do espectro polínico dos méis do Alentejo (Portugal). **Silva Lusitana**, v. 13, p. 95 – 103, 2005.
 18. MANDER, L.; BAKER, S.J.; BELCHER, C.M.; HASELHORST, D.S.; RODRIGUEZ, J.; THORN, J.L.; TIWARI, S.; URREGO, D.H.; WESSELN, C.J.; PUNYASENA, S.W. Accuracy and consistency of grass pollen identification by human analysts using electron micrographs of surface ornamentation. **Applications in Plant Sciences**. v., 8, p. 1-11, 2014.
 19. NIXON, M.S.; AGUADO, A.S. **Feature Extraction and Image Processing**. Oxford: Newnes, 2002. 330 p.
 20. PARANHOS-FILHO, A.C.; LASTORIA, G.; TORRES, T.G. **Sensoriamento Remoto Aplicado ao Meio Ambiente: Introdução a Geotecnologia**. Campo Grande: UFMS, 2008. 198p.
 21. PASCALE, D. **A Review of RGB Color Spaces**. Babel Color: Canada, 2003.
 22. ROSA R. Análise Espacial em Geografia. **Revista da ANPEGE**, v. 7, n. 1, p. 275-289, 2011.
 23. ROERDINK, J.B.T.M.; MEIJSTER, A. The Watershed Transform: definitions, Algorithms and Parallelization Strategies. **Fundamenta Informaticae**, v. 41, p. 187–228, 2001.
 24. SANTOS, F.A.R.; PIN-FERREIRA, A.B. Variabilidade polínica de *Opuntia brasiliensis* (Willd.) Haw. (Cactaceae), **Sitientibus**, v. 1, p. 95-98, 2001.
 25. SHAPIRO, L.; STOCKMAN, G. **Computer vision**. New Jersey: Prentice Hall, 2001.
 26. SILVA, S.J.R., ABSY, M.L. Análise do pólen encontrado em amostras de mel de *Apis mellifera* L. (Hymenoptera, Apidae) em uma área de savana de Roraima, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 30, 579-588, 2000.
 27. SILVA C.R.B.; PUTAROV T.; ORSI, R.O. Pollen spectrum of propolis samples from São Paulo State, Brazil. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**. v. 35, p. 297-300, 2013.
 28. SMITH M, GOODCHILD MF, LONGLEY PA. **Geospatial Analysis: A comprehensive Guide to Principles, Techniques and Software Tools**. 4 ed. Winchelsea Press: Winchelsea. 2013.
 29. VERNON, D. Machine Vision: **Automated Visual Inspection and Robot Vision**. Cap 7. An overview of techniques for shape description. Cambridge: Prentice Hall. p. 140-155, 1991.
 30. ZHAO, G.; PIETIKÄINEN, M. Dynamic Texture Recognition Using Local Binary Patterns with an Application to Facial Expressions. **IEEE Transactions On Pattern Analysis And Machine Intelligence**, v. 29, p.915 -928, 2007.