

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE FÍSICA DE SÃO CARLOS

RUAN FELIPE DE OLIVEIRA NEVES

Ferramenta para diagnóstico de doenças em citros baseada na combinação de técnicas de espectroscopia de fluorescência somada a algoritmos de aprendizagem de máquina

São Carlos
2020

RUAN FELIPE DE OLIVEIRA NEVES

Ferramenta para diagnóstico de doenças em citros baseada na combinação de técnicas de espectroscopia de fluorescência somada a algoritmos de aprendizagem de máquina

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física do Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre(a)/Doutor(a) em Ciências.

Área de concentração: Física Aplicada
Opção: Física Computacional
Orientador: Prof. Dr. Luis Gustavo Marcassa
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Elaine Parros Machado de Sousa

Versão Corrigida
(versão original disponível na Unidade que aloja o Programa)

São Carlos
2020

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Neves, Ruan Felipe de Oliveira

Ferramenta para diagnóstico de doenças em citros baseada na combinação de técnicas de espectroscopia de fluorescência somada a algoritmos de aprendizagem de máquina / Ruan Felipe de Oliveira Neves; orientador Luis Gustavo Marcassa; co-orientadora Elaine Parros Machado de Sousa - versão corrigida -- São Carlos, 2020.

81 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Física Aplicada Computacional) -- Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2020.

1. Deep learning. 2. SVM. 3. Redes neurais artificiais. 4. Espectroscopia de fluorescência. 5. Agricultura de precisão. I. Marcassa, Luis Gustavo, orient. II. Sousa, Elaine Parros Machado de, co-orient. III. Título.

Dedico esse trabalho ao Professor Marcassa que além de orientador também foi pai, guia, conselheiro, exemplo e continua sendo até hoje; às minhas irmãs Frida e Pagu e aos meus meninos Macondo e Paçoca.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador professor Marcassa e a minha coorientadora professora Elaine que aceitaram juntos enfrentar esse desafio comigo, sei que não fui um aluno exemplar e dei bastante trabalho para eles;

Aos professores Tereza Mendes e Attilio Cucchieri, pessoas as quais nunca saberei como demonstrar a gratidão que tenho por eles;

Ao meu grande amigo de pesquisa e exemplo Professor Caio, que me ensinou muito e me fez crescer muito também sob sua orientação;

À todos da minha família, mas principalmente, à minha Mãe Monalisa e ao meu Pai Michel, por tudo, simplesmente tudo, que me ofereceram, e ainda oferecem, em todos os quesitos, áreas, realmente, obrigado;

Ao meu grande amigo Cabral, nada nunca teria nem começado sem sua ajuda, a citar pela graduação, quem diria um mestrado;

À minha namorada e grande amiga, Tamiris, que passou apuros comigo em dias sem dormir, atolado e dividido entre trabalho e pesquisa, onde meu humor era insuportável até pra mim;

Aos meus meninos, filhos de quatro patas, Macondo e Paçoca, maior motivação no dia a dia;

Aos meus amigos, “ahh meus amigos”, Jéssica, Hipo, Marcela, Thiago, Rosa, Sam, Rafa, May, Mariane, Bodelha, Brasil, (desculpe se algum nome ficou fora), que me aguentaram tantos dias, dando o suporte necessário, cada um no que podia sempre fazendo seu melhor e transformando os mais amargos momentos em situações de risos.

O presente trabalho foi realizado, em seus primeiros meses, com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) Código de financiamento 001.

" Nunca te orgulhes de haver vencido a um adversário,
ao que venceste hoje poderá derrotar-te amanhã.

A única vitória que perdura é a que se
conquista sobre a própria ignorância."

Kano, Jigoro.

RESUMO

NEVES, R. F. O. **Ferramenta para diagnóstico de doenças em citros baseada na combinação de técnicas de espectroscopia de fluorescência somada a algoritmos de aprendizagem de máquina.** 2020. 81 p. Dissertação (Mestrado em Física Aplicada) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2021.

Nas últimas décadas, tem havido um crescente interesse na detecção precoce das doenças que afetam as culturas agrícolas a fim de evitar grandes perdas econômicas devido à contaminação de novas plantas. Dentre essas doenças as que mais se destacam e são mais letais para a citricultura são o cancro cítrico e greening, ambas ameaçando produções do mundo todo, incluindo regiões do Brasil e dos Estados Unidos. Por se tratar de doenças que possuem um alto índice de contaminação, estas levam a uma redução no número de pomares cultivados causando grande dano econômico aos produtores e as indústrias relacionadas. Cada vez mais métodos para diagnóstico antecipado são necessários, tornando-se ferramentas importantes para a saudabilidade da lavoura e conseqüentemente do negócio. Algumas deficiências de solo como a falta de ferro e zinco apresentam sintomas visuais semelhantes nas folhas das plantas com o greening, enquanto que o cancro cítrico pode ser confundido com a verrugose, podendo levar a diagnósticos errôneos. Atualmente, somente testes bioquímicos são capazes de detectar especificamente o cancro cítrico e o greening, e conseqüentemente diferenciá-los das demais doenças e deficiências de nutricionais. Nesse trabalho, a técnica de espectroscopia por imagens de fluorescência em conjunto com os métodos de aprendizado supervisionado (algoritmos de classificação), foram utilizadas com o objetivo de identificar e discriminar as principais doenças que afetam a citricultura nos estados de São Paulo/Brasil e da Flórida/EUA. As amostras em estudo são cancro cítrico, verrugose, greening e deficiência de zinco. O objetivo principal é discriminar as doenças sem a necessidade de uma prévia avaliação ocular dos sintomas. Os resultados mostram que é possível utilizar a técnica de espectroscopia por imagens de fluorescência em conjunto a uma rede neural convolucional (*AlexNet*) para discriminação das doenças. O algoritmo apresentou uma elevada acurácia na classificação das amostras para as quatro doenças em questão quando comparado a outros algoritmos e um enorme ganho de tempo e redução de custo quando comparado ao método bioquímico.

Palavras-chave: Deep learning. SVM. Redes neurais artificiais. Espectroscopia de fluorescência. Agricultura de precisão.

ABSTRACT

NEVES, R. F. O. **Diagnosis tool for citrus diseases based on the combination of fluorescence spectroscopy techniques plus machine learning algorithms.** 2020. 81 p. Dissertação (Mestrado em Física Aplicada) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2021.

In recent decades, there has been a growing interest in the early detection of diseases that affect agricultural crops in order to avoid major economic losses due to the contamination of new plants. Among these diseases, the most prominent and most lethal for citrus crops are citrus and greening cancer, both of which threaten productions worldwide, including regions in Brazil and the United States. As these are diseases that have a high level of contamination, they lead to a reduction in the number of cultivated orchards causing great economic damage to producers and related industries. More and more methods for early diagnosis are needed, becoming important tools for the health of the crop and consequently the business. Some soil deficiencies, such as the lack of iron and zinc, show similar visual symptoms in the leaves of plants with greening, while citrus can be mistaken for warts, which can lead to misdiagnosis. Currently, only biochemical tests are able to specifically detect citrus canker and greening, and consequently differentiate them from other diseases and nutritional deficiencies. In this work, the technique of spectroscopy by fluorescence images in conjunction with supervised learning methods (classification algorithms), were used in order to identify and discriminate the main diseases that affect citrus in the states of São Paulo / Brazil and the Florida / USA. The samples being studied are citrus canker, warts, greening and zinc deficiency. The main objective is to discriminate diseases without the need for prior eye evaluation of symptoms. The results show that it is possible to use the technique of spectroscopy by fluorescence images in conjunction with a convolutional neural network (AlexNet) to discriminate diseases. The algorithm showed a high accuracy in the classification of the samples for the four diseases in question when compared to other algorithms and an enormous gain of time and cost reduction when compared to the biochemical method.

Keywords: Deep learning. SVM. Artificial neural networks. Fluorescence spectroscopy. Precision agriculture.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Produção mundial de laranja.	19
Figura 2- Foto tirada de plantas sintomáticas.....	21
Figura 3 - Espectros de absorção molar (linha fina) e emissão (linha grossa) da fluorescência induzida por radiação ultravioleta dos principais pigmentos presentes na folha. As clorofilas absorvem na região espectral do azul e do vermelho, e fluorescem na região do vermelho e infravermelho. As clorofilas são responsáveis pela coloração verde das folhas.	27
Figura 4 - Estrutura química das moléculas de clorofilas a e b destacando a posição e o grupo de radicais que compõe cada uma das moléculas.....	28
Figura 5 - Espectros de absorção dos fotossistemas FSI e FSII, destacando os picos de máxima absorção.	29
Figura 6 - Exemplo de como o KNN com $K = 3$ e $K = 5$ se comporta fazendo uso da distância euclidiana analisaria o problema.	32
Figura 7 - Exemplo de árvore de decisão.	33
Figura 8 - Exemplo de separação de um conjunto distribuído em um plano num espaço tridimensional.	35
Figura 9 - Ilustração de uma ANN mostrando os neurônios, suas camadas e as sinapses que os ligam.	37
Figura 10 - Arquitetura da AlexNet.....	41
Figura 11 - Representação completa do método de trabalho adotado para realização dos experimentos.....	44
Figura 12 - Espectro de transmissão do filtro de cristal líquido variável em função do comprimento de onda. Fonte: LIQUID (65).....	46
Figura 13 - Componentes do filtro óptico sintonizável. (1) Filtro óptico variável; (2) Cabo de 25 pinos; (3) Módulo de controle; (4) Cabo USB ou RS232; (5) Fonte de alimentação; (6) Computador com o software do fabricante.....	47
Figura 14 - (a) Esquema da montagem do SIF-1, destacando os principais componentes ópticos: (1) câmera CCD, (2) lentes objetivas, (3) filtro de cristal líquido variável, (4) sistema de iluminação à LEDs em diferentes comprimentos de onda: 365, 405, 470 e 530 nm; (b) Filtro óptico de cristal líquido.	48
Figura 15 - (a) Esquema da montagem do SIF-2 , destacando os principais componentes ópticos: (1) câmera CCD, (2) lentes objetivas, (3) roda de filtros, (4) sistema	

de iluminação a LEDs em 405 e 470 nm. (b) Imagem digital do sistema completo com a excitação em 470 nm.	50
Figura 16 - Interface do software de seleção dos comprimentos de onda do filtro variável.	52
Figura 17 - Interface do software de aquisição das imagens de fluorescência.	52
Figura 18 - Resposta da câmera CCD em função do tempo de exposição.	53
Figura 19 - (a) Gráfico da sensibilidade espectral da câmera CCD. (b) Gráfico da curva de transmissão do filtro variável.	54
Figura 20 - Gráfico do comportamento da função obtida a partir do produto da equação resposta da câmera CCD pela equação da curva de transmissão do filtro.	55
Figura 21 - Processo de treinamento por meio de transfer learning da AlexNet.	68
Figura 22 - Gráfico ilustrativo com o compilado dos melhores resultados obtidos a partir dos experimentos com todos os algoritmos.	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Matriz de confusão obtida a partir da melhor execução do algoritmo KNN e métricas de sensibilidade e especificidade.....	63
Tabela 2 - Matriz de confusão obtida a partir da melhor execução do algoritmo Random Forests e métricas de sensibilidade e especificidade.....	64
Tabela 3 - Matriz de confusão obtida a partir da melhor execução do algoritmo SVM e métricas de sensibilidade e especificidade.	65
Tabela 4 - Matriz de confusão obtida a partir da melhor execução do algoritmo MLP e métricas de sensibilidade e especificidade.	66

SUMÁRIO

1	CONTEXTUALIZAÇÃO E MOTIVAÇÃO	19
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
2.1	FLUORESCÊNCIA DAS PLANTAS	25
2.2	MÉTODOS DE CLASSIFICAÇÃO	31
2.2.1	<i>K-Nearest neighbor</i>	31
2.2.2	<i>Árvores de decisão e Random Forests</i>	33
2.2.3	<i>Máquina de vetor de suporte</i>	35
2.2.4	<i>Redes neurais artificiais</i>	36
2.2.5	<i>Redes neurais convolucionais</i>	39
3	INSTRUMENTAÇÃO E METODOLOGIA	43
3.1	SISTEMAS DE ESPECTROSCOPIA POR IMAGENS DE FLUORESCÊNCIA	44
3.1.1	Sistema de imagens de fluorescência utilizando filtro óptico de cristal líquido variável (SIF-1)	45
3.1.2	<i>Sistema de imagens de fluorescência utilizando filtros ópticos passa-banda associados a rodas de filtros (SIF-2)</i>	49
3.2	AMOSTRAS	50
3.3	AQUISIÇÃO E PRÉ-PROCESSAMENTO DAS IMAGENS	51
3.4	EXTRAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS	57
3.5	CLASSIFICAÇÃO	58
3.5.1	<i>KNN</i>	58
3.5.2	<i>Random Forests</i>	59
3.5.3	<i>SVM</i>	59
3.5.4	<i>ANN</i>	60
3.5.5	<i>CNNs e AlexNet</i>	60
4	RESULTADOS	63
4.1	<i>KNN</i>	63
4.2	<i>RANDOM FORESTS</i>	64
4.3	<i>SVM</i>	65
4.4	<i>MLP</i>	66
4.5	<i>AlexNet</i>	67
5	CONCLUSÃO	71
	REFERÊNCIAS	75

1 CONTEXTUALIZAÇÃO E MOTIVAÇÃO

O Brasil tem como um de seus principais setores econômicos o agronegócio, no qual também está uma de suas maiores apostas para 2020. (1) Essa frente de mercado vem crescendo cada vez mais devido ao grande investimento e a adoção da ciência e tecnologia no campo, tornando-se o maior setor da economia nos últimos anos. Dentro do agronegócio destaca-se a produção de citros, em especial a laranja cuja expectativa para o ano de 2020 é uma produção de mais de 15 milhões de toneladas, representando um terço da produção mundial. (2) Tal estimativa é surpreendente, pois é esperada uma queda na safra devido ao aumento do consumo de outras bebidas (incluindo de outras frutas), às baixas na chuva e ao aumento da temperatura. Na Figura 1 conseguimos ver claramente a importância da laranja para o Brasil frente aos outros mercados e países que também praticam o cultivo da fruta.

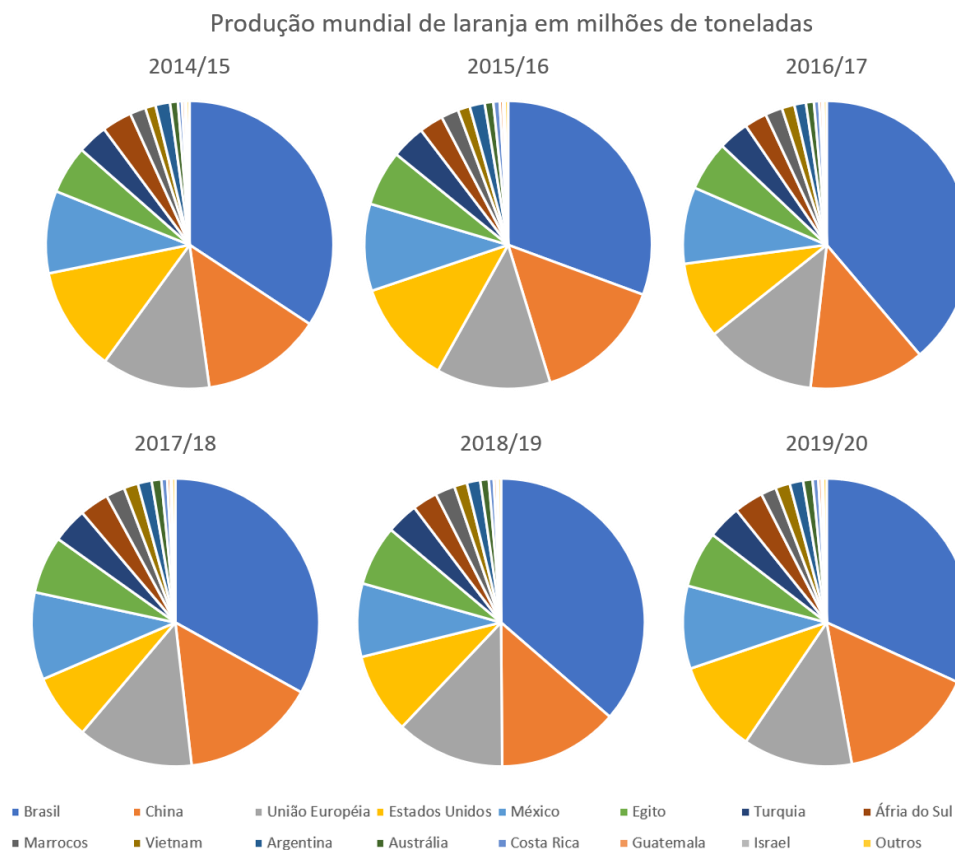


Figura 1 - Produção mundial de laranja.
 Fonte: Adaptada de UNITED STATES ... (2)

Ademais, exportações agrícolas do Brasil realizam um grande papel no mercado internacional, ocupando a posição de segundo maior exportador de alimentos no mundo e o terceiro maior de produtos agrícolas. (2) O país é considerado também uma das maiores potências na produção de frutas, com destaque para a citricultura, onde lidera a produção de laranja, sendo responsável por mais de 60% da produção mundial, seguido pela China e depois Estados Unidos. Nesse contexto, destacam-se os estados de São Paulo (Brasil) e da Flórida (Estados Unidos), onde encontra-se o maior número de produtores do fruto e onde há maior investimento e desenvolvimento focado para o aumento de sua qualidade e lucratividade.

Diante desse cenário, diversos pesquisadores do Brasil e Estados Unidos, vêm trabalhando com foco totalmente voltado para a otimização da lavoura, seja por meio do estudo na produção do fruto propriamente dito, bem como focados também no solo, na água e nos meios de diagnóstico e tratamento de doenças. Em particular, daremos destaque neste trabalho de mestrado para os estudos relacionados à área conhecida como agricultura de precisão, ou seja, responsável pelo desenvolvimento de equipamentos eletrônicos e ferramentas computacionais para auxiliar na automatização dos processos agrícolas. Tais técnicas vem possibilitando maior efetividade desde o plantio até a colheita e na detecção e tratamento das pragas que podem ser prejudiciais ao campo, podendo causar grande prejuízo caso haja um diagnóstico tardio ou demora no momento da erradicação.

Dentre as principais pragas, a mais letal atualmente é o *greening* (HLB), considerado a maior ameaça da citricultura em escala mundial, por se tratar de uma doença com imenso poder destrutivo e não possuir cura. (3-4) O *greening* é causado pela bactéria *Candidatus Liberibacter ssp* (3,5), a qual possui três tipos de variação: 1) *Candidatus Liberibacter africanus*; 2) *Candidatus Liberibacter asiaticus*; 3) *Candidatus Liberibacter americanus*. A bactéria aloja-se no floema da planta, danificando assim o sistema de transporte da seiva, que gera os sintomas de galhos ou ramos amarelados, diminuição na produção de frutos, estes também têm menores tamanho, são mais ácidos e produzem menos suco.

Além do HLB, outra doença igualmente letal ao plantio é o Cancro Cítrico. (5-6) Dentre os diversos tipos de Cancro Cítricos existentes, o mais severo é causado pela bactéria *Xanthomas axonopodis* pv. *Citri*. (6) Os vetores da bactéria são o próprio homem que trabalha na lavoura, incluindo as ferramentas e os veículos utilizados para colheita, tornando fácil a disseminação da mesma uma vez que o uso não é feito de maneira velada. Os sintomas do Cancro Cítrico são lesões locais, circulares com até doze milímetros de diâmetro e necróticas, apresentando ocasionalmente um halo amarelado em volta da necrose e esses sintomas podem ocorrer tanto em folhas como nos ramos ou em frutos.

Um dos desafios no diagnóstico dessas doenças é que elas podem ter seus sintomas facilmente confundidos visualmente com os da Deficiência de Zinco (7) (quando se trata do HLB) e o da Verrugose (8) (no caso do Cancro Cítrico). A Figura 2 exemplifica a semelhança entre os sintomas. O diagnóstico definitivo é feito atualmente por meio de análises bioquímicas, das quais a mais comum é do tipo reação em cadeia de polimerase (PCR, do inglês Polymerase Chain Reaction) (9), que é uma técnica onde se amplifica o DNA (do inglês, *Deoxyribonucleic Acid*) da bactéria causadora da doença e o compara com um banco de dados para detectar qual o agente responsável causador daquela doença. Essas análises costumam ser custosas e levam tempo para serem realizadas, o que dificulta o trabalho do agricultor que a olho nu apenas consegue diagnosticar os sintomas, porém não a doença de fato. Nessas condições, o tempo de espera pode acarretar grandes prejuízos ao agricultor.

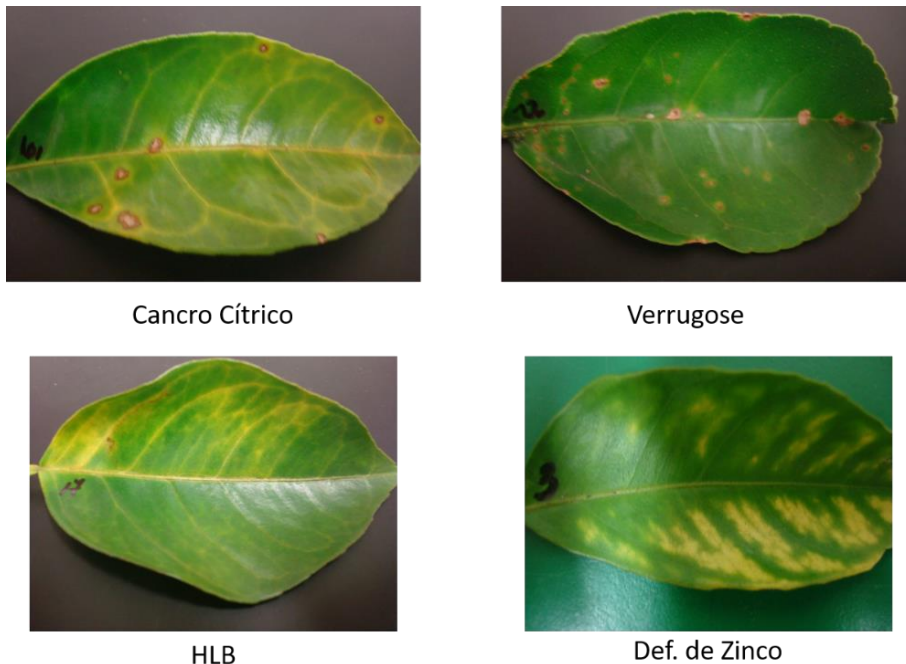


Figura 2 - Foto tirada de plantas sintomáticas.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Partindo dessa motivação e originário do esforço dos pesquisadores que debruçaram sobre o assunto, foram desenvolvidos outros métodos para realizar o diagnóstico das doenças. (10–15) Tais métodos dependem de um pré-diagnóstico feito por um especialista seguido de uma classificação entre os grupos semelhantes, que se aproxima muito dos métodos laboratoriais. Esses métodos são resultados de técnicas físicas para geração de imagens combinados a modelos computacionais de aprendizagem de máquina supervisionada que são capazes de reconhecer padrões nas imagens. Uma das técnicas físicas, que tem se mostrado muito eficiente, baseia-se no uso da espectroscopia de imagens de fluorescência (FIS, do inglês *Fluorescence Image Spectroscopy*) (9,16–20) para aquisição de imagens das folhas de plantas contaminadas e foi desenvolvida no Laboratório de Interações Atômicas (LIA) do Instituto de Física de São Carlos (IFSC), em parceria com pesquisadores de outras universidades. Essa técnica foi combinada a algoritmos de mineração de dados baseados em Redes Neurais Artificiais (ANN, do inglês *Artificial Neural Network*) (21–23) e *Support Vector Machines* (SVM) (24–28), os quais foram utilizados para criar modelos capazes de distinguir qual doença acometia a planta entre duas dadas doenças com sintomas semelhantes, com acerto de até 93%. (20,29)

Contudo, diferentemente de trabalhos anteriores, neste trabalho de mestrado foi combinado à técnica FIS o uso de algoritmos de Aprendizagem Profunda (do inglês, *DeepLearn*) baseados em Redes Neurais Convolucionais (CNN, do inglês *Convolutional Neural Networks*) (30–34) buscando desenvolver uma ferramenta que fosse capaz de dispensar a análise prévia do especialista e fornecer um resultado independente assertivo independente da doença ou de sintomas. Com tal abordagem, nosso método foi capaz de distinguir cada uma entre quatro doenças avaliadas com eficiência de 95% sem a necessidade de interferência do especialista, assim permitindo que o próprio agricultor, sem nenhum conhecimento prévio, seja capaz de coletar folhas sistematicamente e analisá-las de modo autônomo. Os resultados também foram comparados a resultados obtidos a partir do algoritmo de k-vizinhos mais próximos (KNN, do inglês *k-nearest neighbors*), árvores de decisão e SVM. (21,35-36) Nenhum destes conseguiu precisão acima de 80% mesmo variando seus parâmetros por método de força bruta, o que mostra que nosso método apresenta resultados mais precisos que os algoritmos utilizados em trabalhos correlatos.

Vale ressaltar que todos os métodos computacionais desenvolvidos não excluem o diagnóstico final por métodos bioquímicos, mas otimizam a tomada de decisão por parte do agricultor, evitando, portanto, possíveis prejuízos. Nos capítulos a seguir vamos mostrar e explicar mais detalhadamente cada técnica e algoritmo utilizado, bem como tecnologias envolvidas no trabalho direta e indiretamente e os resultados obtidos. Também será apresentada uma discussão mostrando trabalhos que já existem na área e justificando a escolha das técnicas utilizadas neste trabalho.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os principais conceitos e métodos utilizados no desenvolvido deste trabalho no que diz respeito às técnicas físicas e computacionais. Ele será dividido em duas sessões: na primeira será abordado o tema de Espectroscopia de Fluorescência, incluindo a geração de imagens por meio da espectroscopia de fluorescência e por fim suas aplicações e implicações em biologia; na segunda, discutiremos a respeito dos algoritmos utilizados, tanto os que dizem respeito à extração de características de texturas bem como os de aprendizagem de máquina e as técnicas empregadas aos mesmos durante o desenvolvimento do projeto.

2.1 FLURESCÊNCIA DAS PLANTAS

Cada vez mais as técnicas baseadas em espectroscopia de fluorescência vêm mostrando sua eficiência nas diversas áreas do conhecimento. (9,14,37–39) No que diz respeito aos citros, por meio delas é possível analisar a pigmentação e/ou estrutura das folhas e estudar de forma indireta o estado fotossintético da planta, buscando assim por anomalias e alterações que possam ter sido causadas por alguma doença ou deficiência mineral.

As plantas absorvem, geralmente, luz na região entre 400nm e 750nm, ou seja, na região visível do espectro eletromagnético. As moléculas de clorofilas *a* e *b* e os carotenóides são as principais responsáveis pela absorção da radiação, e além da absorção da radiação incidente também são responsáveis por refletir a luz não absorvida em diferentes cores. Por exemplo, as clorofilas apresentam máxima absorção na região do espectro azul e vermelho e refletem o verde.

O fenômeno da fluorescência ocorre quando os fótons são absorvidos pelas moléculas das amostras, fazendo com que os elétrons da molécula mudem seu estado quântico para um mais excitado, permanecendo neste novo estado por um curto espaço de tempo. A energia acumulada é dissipada por meio de processos de decaimento radioativo e/ou não radioativo para que os elétrons possam voltar ao estado fundamental. Os processos de decaimento não radioativos ocorrem por meio da rotação e vibração das moléculas e pela colisão entre elas, enquanto o processo de decaimento radioativo envolve várias reações, dentre elas a fluorescência, que é um dos focos de estudo deste trabalho.

Ademais, moléculas no estado excitado singleto podem também fazer uma conversão para o primeiro estado tripleto, ocorrendo assim uma variação total de spin da molécula ($\Delta S = 1$) e essa conversão é denominada “cruzamento intersistemas”. A volta para o estado fundamental não é permitida uma vez que essa transformação (do estado excitado singleto para o primeiro estado tripleto) segundo as regras de seleção, mas pode ocorrer devido a interações do tipo quadrupolo elétrico. Esses dois processos têm como ponto fundamental para sua distinção seu tempo de vida, em que a fluorescência dura nanossegundos enquanto a fosforescência pode durar até alguns segundos. (40) Além da fluorescência das moléculas de clorofilas *a* e *b*, vários outros tipos de moléculas como ácido ferúlico, NADPH (Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato, forma reduzida), FAD (Flavina Adenina Dinucleotídeo) e o rubisco tiveram suas características de absorção e emissão estudadas. (9,18,41–43)

Todas essas biomoléculas também são responsáveis pela absorção da luz do ambiente e exercem outras funções bioquímicas. A Figura 3 mostra um conjunto de gráficos, adaptados de (44), onde são apresentados os espectros de absorção molar (linha fina) e fluorescência (linha grossa) induzida por meio de radiação ultravioleta (UV-350nm) desses principais pigmentos.

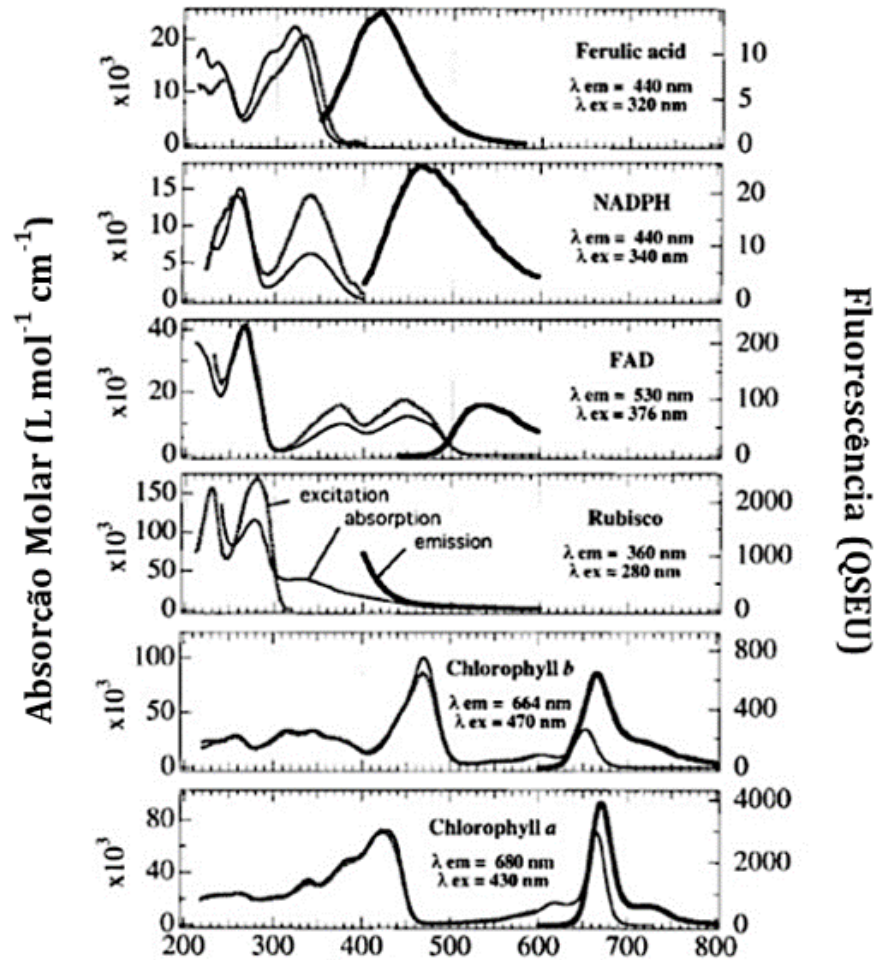


Figura 3 - Espectros de absorção molar (linha fina) e emissão (linha grossa) da fluorescência induzida por radiação ultravioleta dos principais pigmentos presentes na folha. As clorofilas absorvem na região espectral do azul e do vermelho, e fluorescem na região do vermelho e infravermelho. As clorofilas são responsáveis pela coloração verde das folhas.

Fonte: Adaptada de CEROVIC. *et al.* (44)

Nota-se na Figura 3, que a principal fonte de radiação para induzir a fluorescência do ácido ferúlico, NADPH, FAD e do rubisco é a radiação UV, com a qual esses pigmentos fluorescem na região entre 400nm e 550nm. Vê-se também que a absorção das moléculas de clorofilas na região do azul e do vermelho de forma significativa no UV, sendo elas os principais pigmentos estudados através da técnica de espectroscopia de fluorescência. Essas moléculas são formadas por complexos derivados da porfirina contendo em seu centro um íon de Mg e tendo além dos quatro anéis de pirrol provenientes da porfirina um quinto anel adicional formado por cadeias hidrofóbicas. A diferença entre elas é que a clorofila *a* ($\text{C}_{55}\text{H}_{72}\text{N}_4\text{O}_5\text{Mg}$) no anel de porfirina possui um grupo metil ($-\text{CH}_3$) no C-3, enquanto a clorofila *b* ($\text{C}_{55}\text{H}_{70}\text{N}_4\text{O}_6\text{Mg}$) contém um grupo aldeído ($-\text{CHO}$) nessa posição. (45-46) A estrutura química das moléculas de clorofila está representada na Figura 4.

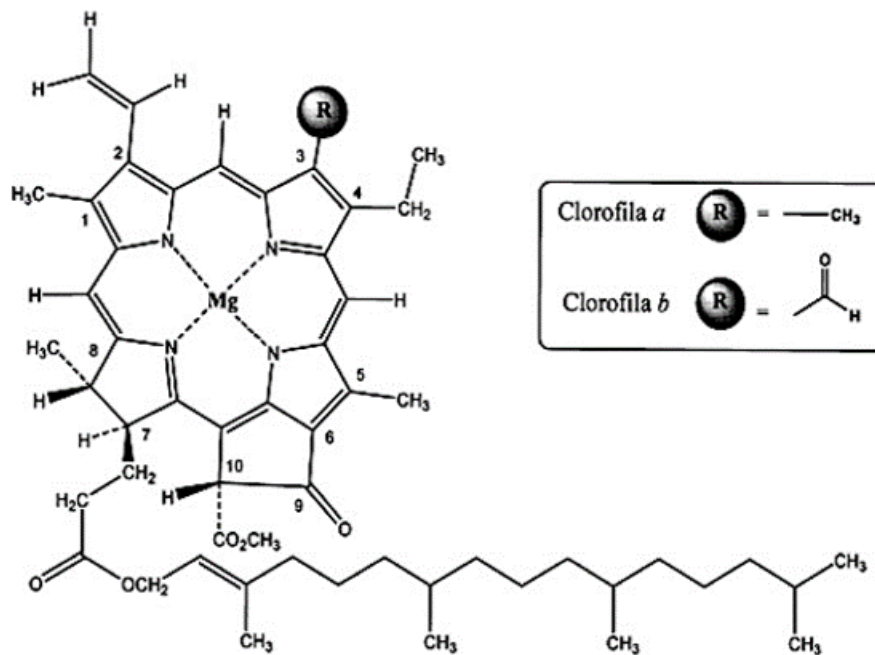


Figura 4 - Estrutura química das moléculas de clorofilas *a* e *b* destacando a posição e o grupo de radicais que compõe cada uma das moléculas.

Fonte: Adaptada de CEROVIC *et al.*(44)

Os pigmentos contidos nas folhas ficam nos tilacóides e lamelas, que por sua vez ficam dentro dos cloroplastos. (46) Eles são divididos em dois grupos de acordo com suas respectivas funções: i) acessórios: composto principalmente pela clorofila *b* e os carotenóides, auxiliam na absorção da radiação luminosa e na transferência de energia radiante para o pigmento principal; ii) principal: composto principalmente pela clorofila *a*, tem como sua principal função capturar energia dos pigmentos acessórios e entregá-la aos centros de reação para ocorrência da fotossíntese. (45-46)

As plantas são dotadas de centros de reação: i) o fotossistema I (FSI) e ii) o fotossistema II (FSII), que interagem por meio de transportadores de elétrons. (45) A radiação fotossinteticamente ativa (RFA) compreendida entre 390 e 760 nm (47) é captada pelos pigmentos que juntamente com proteínas estruturais constituem o complexo antena, direcionando a energia para os centros de reação em um processo conhecido como “esquema Z”. (47) O centro de reação do FSI apresenta pico máximo de absorção em 700 nm, enquanto que o FSII possui máxima absorção em 680 nm. (45,47) A

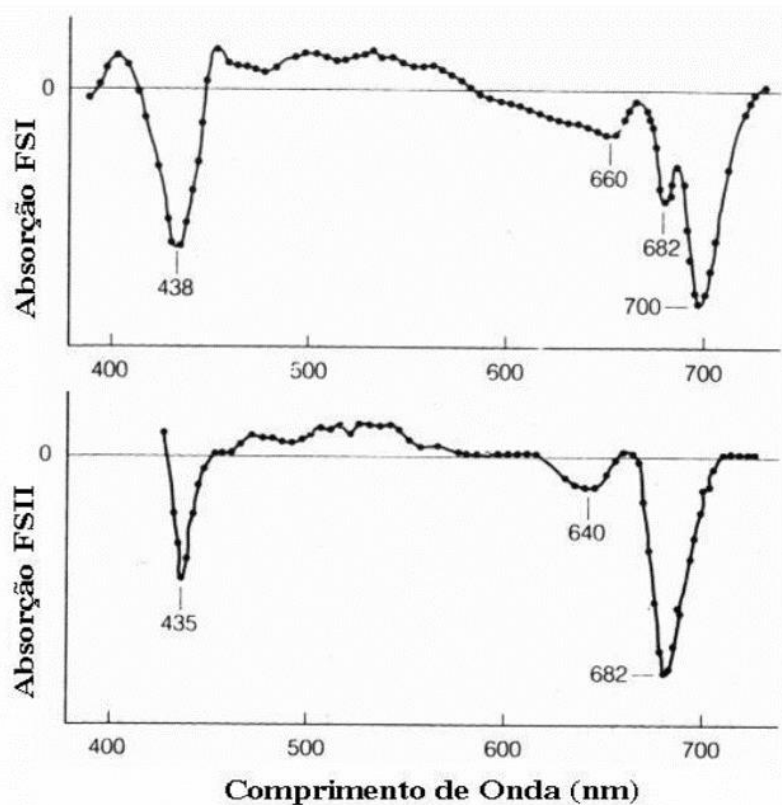


Figura 5 - Espectros de absorção dos fotossistemas FSI e FSII, destacando os picos de máxima absorção.
Fonte: DAVID (47)

Os fotossistemas oxidam a água a oxigênio molecular para formar ATP e reduzir o NADP^+ em NADPH, permitindo assim que a energia absorvida seja armazenada na forma de ATP e na forma de coenzimas orgânicas. Posteriormente, esses substratos serão utilizados no ciclo de Calvin e Benson para produção de açúcares e/ou cadeias de carbono para biossíntese. (47) Maiores detalhes sobre o processo de fotossíntese e seus caminhos podem ser encontrados nas referências. (45–48)

A partir do estudo da interação da radiação com as folhas e suas respostas emitidas, foram definidos os seguintes parâmetros: i) a excitação ultravioleta das folhas verdes induz duas respostas distintas de fluorescência: a BGF (do inglês, *Blue-Green Fluorescence*) na região entre 400-630 nm e a fluorescência da clorofila *a*, denominada na literatura de ChIF (do inglês, *Chlorophyll Fluorescence*), na região entre 630-800nm (44); ii) as intensidades relativas desses dois tipos de fluorescência são altamente sensíveis às propriedades intrínsecas das folhas e aos fatores ambientais; iii) os espectros de emissão de fluorescência podem ser considerados como uma assinatura revelando o estado fisiológico da planta. (44)

Segundo Cerovic e colaboradores (49), essas duas regiões podem ainda ser divididas em outras quatro bandas de fluorescência: fluorescência no azul (BF, do inglês *Blue Fluorescence*), fluorescência no verde (GF, do inglês *Green Fluorescence*), fluorescência no vermelho (RF, do inglês *Red Fluorescence*) e fluorescência no vermelho distante (FRF, do inglês *Far Red Fluorescence*). A fluorescência no vermelho e no vermelho distante juntas são chamadas de fluorescência da clorofila, ChlF, pois a clorofila *a* é o único fluoróforo nas folhas com emissão nesta parte do espectro uma vez que a clorofila *b* transfere toda sua energia para a clorofila *a in vivo*. (45) A análise da fluorescência da clorofila *a* é considerada uma medida precisa e não-destrutiva da eficiência fotossintética que direta ou indiretamente pode refletir os impactos dos fatores ambientais sob a planta.

A fluorescência na região do azul e do verde também pode ser agrupada e tratada como a fluorescência BGF. Diferentemente da fluorescência da clorofila que provém exclusivamente da molécula de clorofila *a* diversos compostos podem contribuir para a emissão do BGF. Destaca-se entre esses compostos o ácido ferúlico, uma vez que se acredita que ele seja responsável pela maior parte da emissão nessa região. (47) Ainda assim, outros produtos do metabolismo secundário das plantas podem contribuir para o BGF, tais como os ácidos cinâmicos, ácidos fenólicos, nicotinamidas (NADPH), dentre outros. Detalhes sobre os demais compostos que fluorescem na região do azul e do verde podem ser encontrados no trabalho de Cerovic. (44) Apesar dos estudos envolvendo a emissão desses compostos na região do BGF, a ChlF tem sido mais estudada uma vez que está relacionada diretamente com a eficiência fotossintética da planta. (45,47)

Na região do BGF têm-se picos de emissão da fluorescência em 440 e 520 nm, enquanto na região da ChlF os picos são em 690 e 740 nm. Uma vez que o BGF e a ChlF têm origens distintas, eles podem se alterar de forma independente em resposta aos diferentes fatores fisiológicos e ambientais. Na literatura, essas mudanças são mais convenientemente descritas em termos das variações de intensidade dos picos BF, GF, RF e FRF ou ainda através das razões dos picos de fluorescência. As razões de fluorescência geralmente utilizadas são: a) RF/FRF, b) BF/RF e BF/FRF e c) BF/GF. (44,50) Em geral, a RF/FRF é utilizada para estudos sobre a eficiência fotossintética da planta; já a BF/ChlF ou a GF/ChlF são sensíveis aos estresses que as plantas estão sofrendo, especialmente por déficit de minerais. (50) Doenças, estresses ou outras alterações podem ser detectadas através da espectroscopia de fluorescência, visto que estas podem levar a variações nas concentrações dos pigmentos que fluorescem.

2.2 MÉTODOS DE CLASSIFICAÇÃO

A área de aprendizado de máquina pode ser dividida em duas grandes subáreas: i) aprendizado supervisionado, e ii) aprendizado não supervisionado. O aprendizado supervisionado, utilizado para classificação e regressão (51), baseia-se em conhecimento prévio, ou seja, há um conjunto de amostras rotuladas que será utilizado para treinar um algoritmo, esse conjunto geralmente é dividido em duas partes, sendo uma delas para treino (conjunto de treinamento) e outro para validação do resultado do treino (chamado de conjunto de teste), sob a suposição que as amostras respeitem um padrão dado suas características. Espera-se que o algoritmo treinado seja capaz de encontrar o padrão e dado uma nova amostra ele saiba dizer a qual classe (ou qual a probabilidade de) pertence aquela amostra; ii) aprendizado não supervisionado: nesta forma o algoritmo aprende a partir da exploração que realiza nos dados, os quais, neste caso, não estão divididos anteriormente em classes conhecidas.

Neste trabalho foram utilizados apenas métodos supervisionados, ou seja, tínhamos amostras validadas por análises laboratoriais com suas classes (doenças ou plantas saudáveis) já previamente definidas. Em seguida, treinamos diferentes tipos de algoritmos. Nas próximas sessões, apresentamos estes algoritmos com maior riqueza de detalhes, tanto em sua teoria como suas diversas aplicações.

2.2.1 *K-Nearest neighbor*

O *K-nearest neighbor* (KNN) é um algoritmo de aprendizado supervisionado não paramétrico, o qual é utilizado tanto para classificação quanto para regressão. Possui como característica forte sua forma de aprendizado denominada “preguiçosa” (do inglês, *lazy*), que implica que não há um modelo formal (uma equação final) gerado após seu treinamento e sua configuração muda com a inserção de novas amostras. (51) Quando utilizado para classificação, o mesmo tem como retorno o rótulo que aquela nova amostra deveria receber e para regressão retorna um dado valor no espaço contínuo das amostras utilizadas para treinamento.

O KNN possui uma matemática bem simples, em que classifica as amostras em função dos K elementos mais próximos (daí o nome, do inglês “ K vizinhos mais próximos”) baseado numa dada função de distância. A função de distância pode variar de acordo com o domínio de aplicação, o tipo de espaço utilizado ou com a distribuição das amostras no espaço, sendo as mais comuns a distância euclidiana e a manhatan. Na Figura 6, podemos ver a ilustração do algoritmo onde, quando adicionado uma nova amostra no espaço de domínio (estrela vermelha) temos: i) para $k = 3$, o mesmo verá que dentro das 3 amostras mais próximas, a maior parte dela é de hexágonos azuis e classificará a nova amostra como um hexágono azul; ii) para $k = 5$ ela verá que temos 3 quadrados verdes e apenas 2 hexágonos azuis, conseqüentemente mudando o resultado da classificação da nova amostra para quadrado verde. No exemplo foi considerado o para classificação das amostras a distância euclidiana, que é a menor distância entre dois pontos no espaço euclidiano e pode ser definida como: dado uma amostra de dimensão N , $d = \sqrt{\sum_1^N x_i^2}$ onde x é o valor da dimensão i da amostra.

Vale observar que o algoritmo KNN é estritamente dependente da função distância tanto quanto do k , uma vez que ela define quão próximos os elementos estarão uns dos outros. A dimensão também tem influência direta no resultado e na eficiência computacional dele, onde altas dimensionalidades podem levar a um custo excessivamente grande para o cálculo das distâncias.

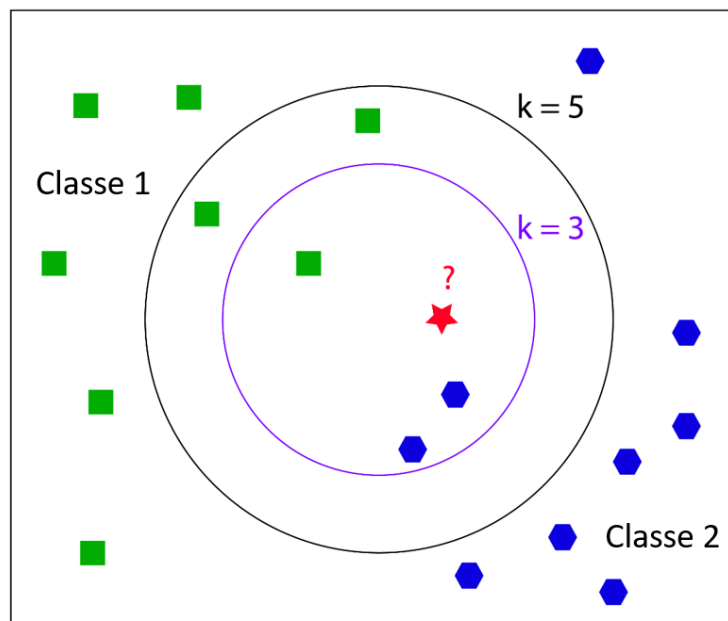


Figura 6 - Exemplo de como o KNN com $K = 3$ e $K = 5$ se comporta fazendo uso da distância euclidiana analisaria o problema.

Fonte: Elaborada pelo autor.

2.2.2 Árvores de decisão e Random Forests

As árvores de decisão são modelos matemáticos baseados em escolhas de “sim” ou “não” em função de cada característica de uma dada visualização da amostra, comumente usadas na solução de problemas matemáticos de otimização. (33,51) Seu uso é comum na análise de decisão, para ajudar a identificar uma estratégia com maior probabilidade de atingir uma meta, mas também são uma ferramenta popular no aprendizado de máquina. Na Figura 2 podemos ver um exemplo de como uma árvore funciona, retirada do livro de Witten and Frank (51), ela traz uma situação onde a decisão sobre se deve ou não ser jogada uma partida de tênis em função do clima. Caso haja interesse, em seu livro pode-se encontrar mais detalhes sobre como árvores funcionam e são utilizadas.

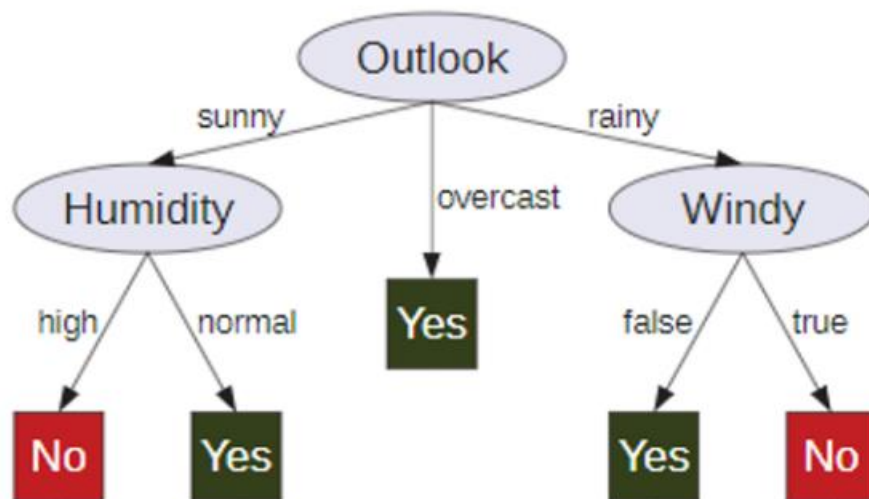


Figura 7 - Exemplo de árvore de decisão.
Fonte: WITTEN; FRANK.(51)

O aprendizado de uma árvore "aproxima-se mais perto de atender aos requisitos para servir como um procedimento pronto para mineração de dados", diz Hastie *et al.* (52), "porque é invariável em escala e várias outras transformações de valores de recurso. Além disso é robusto à inclusão de recursos irrelevantes e produz modelos inspecionáveis. No entanto, eles raramente são precisos." Em particular, árvores muito profundas tendem a aprender padrões altamente irregulares, superestimando seus conjuntos de treinamento, tendo assim um viés baixo e uma variação muito alta. Com isso, surge o conceito de random forests, ou florestas aleatórias, que são uma maneira de calcular a média de várias árvores de decisão profundas, treinadas em diferentes partes do mesmo conjunto de treinamento, com o objetivo de reduzir a variação. (51-52) Como contraponto, há um pequeno aumento no viés e uma perda de interpretabilidade, contudo gerando um aumento considerável na precisão do modelo final, bem acima de uma simples árvore.

O algoritmo de treinamento para florestas aleatórias aplica a técnica geral de agregação de empacotamento (51), gerando assim dezenas (podendo chegar a milhares) de árvores para criação do modelo. Após o treinamento, as previsões para amostras não vistas 'podem ser feitas calculando a média das previsões de todas as árvores de regressão individuais ou votando por maioria no caso de árvores de classificação. Esse procedimento leva a um melhor desempenho do modelo porque diminui sua variância, mantendo o viés. Isso significa que, embora as previsões de uma única árvore sejam altamente sensíveis ao ruído em seu conjunto de treinamento, vemos que quando olhamos para a média de muitas árvores, esta não é, desde que as árvores não estejam correlacionadas. Em suma, vemos que treinar muitas árvores em um único conjunto de treinamento resultaria em árvores fortemente correlacionadas ou até a mesma árvore diversas vezes, caso o algoritmo de treinamento seja determinístico.

2.2.3 Máquina de vetor de suporte

Uma máquina de vetor de suporte (do inglês, *support vector machine*, SVM) é um algoritmo que constrói um hiperplano ou conjunto de hiperplanos em um espaço alta dimensionalidade, sempre maior que a dimensão do conjunto de amostras, que pode ser usada para classificação, regressão ou outras tarefas como detecção de *outliers*. (28,53) Intuitivamente, é alcançada uma boa separação pelo hiperplano que tem a maior distância do ponto de dados de treinamento mais próximo de qualquer classe (essa distância é chamada margem funcional), uma vez que, normalmente, quanto maior a margem, menor o erro de generalização do classificador. (28,53)

Na Figura 8, encontra-se ilustrado um caso simples, com as amostras em duas dimensões e quando passa-se o conjunto para um espaço de três dimensões, claramente vê-se que a separação das amostras nas diferentes classes torna-se mais simples.

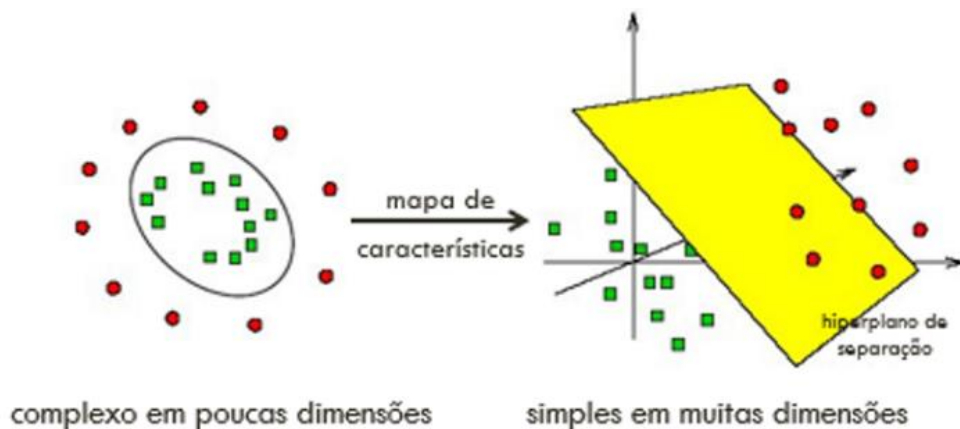


Figura 8 - Exemplo de separação de um conjunto distribuído em um plano num espaço tridimensional.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Dado que os conjuntos de amostra, geralmente, são apresentados em um espaço cujo a separação não é óbvia ou trivial por uma função de mesma dimensão do espaço, foi proposto que o espaço finito-dimensional original fosse mapeado para um espaço de maior dimensão, presumivelmente facilitando a separação nesse novo espaço. Para manter a carga computacional razoável, os mapeamentos usados pelos esquemas SVM são projetados para garantir que produtos pontuais de pares de vetores de dados de entrada possam ser computados facilmente em termos de variáveis no espaço original, definindo-os em termos de uma função kernel $k(x, y)$ selecionado para se adequar ao problema. (28,53)

Os hiperplanos no espaço de dimensão superior são definidos como o conjunto de pontos cujo produto escalar com um vetor nesse espaço é constante, onde esse conjunto de vetores é um conjunto ortogonal (e, portanto, mínimo) de vetores que definem um hiperplano. Como as amostras são representadas por vetores (ou tuplas) de características, os vetores que definem os hiperplanos podem ser escolhidos para serem combinações lineares (28,53) deles. Observa-se o fato de que o conjunto de pontos x mapeado em qualquer hiperplano pode ser bastante complicado, como resultado, permitindo uma discriminação muito mais complexa entre os conjuntos que não são convexos no espaço original.

Caso haja interesse, pode-se encontrar uma explicação mais detalhada e formal nas referências (13,26,28,35,53-54), bem como detalhes sobre a implementação do algoritmo.

2.2.4 *Redes neurais artificiais*

Redes neurais artificiais (do inglês, *artificial neural network*, ANN) ou sistemas conexionistas são algoritmos inspirados, mas não idênticos, aos sistemas neurais biológicos que constituem cérebros de animais. Esses sistemas "aprendem" a executar tarefas considerando exemplos, geralmente sem serem programados com regras específicas da tarefa. Por exemplo, no reconhecimento de imagens, eles podem aprender a identificar imagens que contêm cães analisando imagens de exemplo que foram rotuladas manualmente como "cães" ou "sem cães" e usando os resultados para identificar cães em outras imagens. Eles fazem isso sem nenhum conhecimento prévio dos cães, por exemplo, que têm pêlos, caudas, focinhos e rostos semelhantes a cães. Em vez disso, eles geram automaticamente características de identificação a partir dos exemplos que processam.

Uma ANN é baseada em uma coleção de unidades ou nós chamados neurônios artificiais conectados a partir de arestas as quais são chamadas de sinapses, que buscam construir um modelo próximo aos neurônios em um cérebro biológico. Cada conexão, como as sinapses no cérebro biológico, pode transmitir um sinal para outros neurônios e um neurônio artificial que recebe um sinal o processa e pode sinalizar os neurônios conectados a ele.

Nas implementações da ANN, o "sinal" em uma conexão é um número real e a saída de cada neurônio é calculada por alguma função não linear da soma de suas entradas. Neurônios e arestas normalmente têm um peso que se ajusta à medida que o aprendizado avança. Esse peso aumenta ou diminui a “força” do sinal em uma conexão e os neurônios podem ter um limite tal que um sinal seja enviado apenas se o sinal agregado ultrapassar esse limite. Normalmente, os neurônios são agregados em camadas onde camadas diferentes podem executar transformações diferentes em suas entradas. A camada que recebe dados externos é chamada *camada de entrada*, a camada que produz o resultado final é chamada a *camada de saída* e entre elas estão zero ou mais *camadas ocultas*. Os sinais passam pela camada de entrada e seguem pelas camadas ocultas, até a última delas e, por fim, passam a camada de saída, possivelmente após atravessar as camadas ocultas diversas e repetidas vezes. Na Figura 9, pode-se observar a divisão das camadas por onde os dados entram e saem e os caminhos (sinapses) os quais eles podem percorrer.

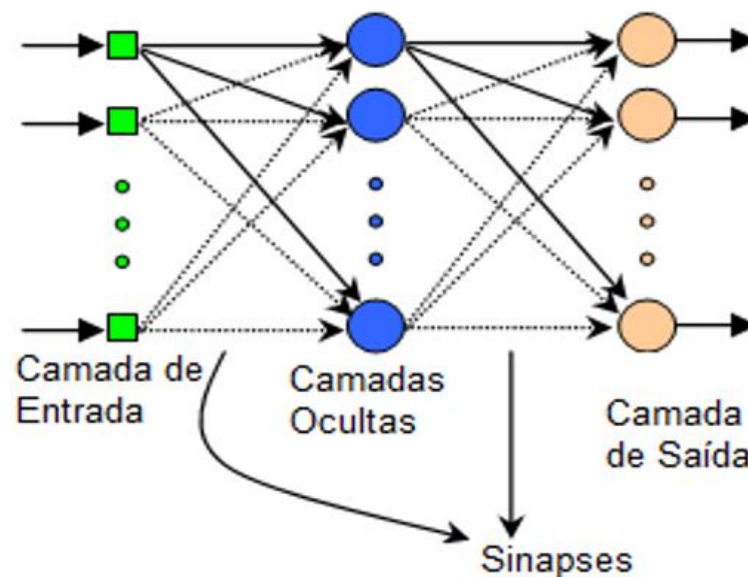


Figura 9 - Ilustração de uma ANN mostrando os neurônios, suas camadas e as sinapses que os ligam.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Além da função que gera o cálculo da saída os neurônios podem possuir outras diversas funções, uma delas é a *função de propagação* (23,33,55-56) que calcula a entrada de um neurônio a partir das saídas de seus neurônios predecessores e de suas conexões como uma soma ponderada, podendo um termo *viés* ser adicionado ao resultado da propagação. Como os neurônios são tipicamente organizados em várias camadas ocultas, muitas vezes com conexões completas (todos para todos) muitas vezes são geradas redes extremamente complexas. Apesar da complexidade da rede, vale ressaltar que os neurônios de uma camada se conectam apenas aos neurônios das camadas imediatamente anteriores e imediatamente seguintes.

Redes de camada única e sem camada também são usadas. Elas podem ser definidas como perceptrons, quando há apenas uma camada oculta e um único neurônio ou, perceptrons de muitas camadas (do inglês, *multi layers perceptrons*, MLP), tipo clássico de rede na arquitetura citada na Figura 9, onde há várias camadas ocultas, cada qual com seus vários neurônios. Entre duas camadas de uma MLP vários padrões de conexão são possíveis podendo elas estarem *totalmente conectadas*, ou seja, com todos os neurônios em uma camada se conectando a todos os neurônios na próxima camada ou sendo elas ligadas por apenas uma conexão. Os neurônios podem ser agrupados, onde um grupo de neurônios em uma camada se conecta a um único neurônio na próxima camada, reduzindo assim o número de neurônios nessa camada. Os neurônios com apenas essas conexões formam um grafo acíclico direcionado e formam uma rede conhecida como *feedforward* (sem realimentação). Existem também redes que permitem conexões entre neurônios na mesma camada ou em camadas anteriores, conhecidas como *recurrents* (redes com recorrência).

As ANNs possuem parâmetros chamados hiperparâmetros, cujos valores são definidos antes do início do processo de aprendizado. Os valores dos parâmetros são derivados via aprendizado. Exemplos de hiperparâmetros incluem taxa de aprendizado, taxa de perda, número de camadas ocultas, tamanho do lote. Os valores de alguns hiperparâmetros podem ser dependentes dos de outros hiperparâmetros, por exemplo, o tamanho de algumas camadas pode depender do número geral de camadas. O aprendizado é a adaptação da rede para lidar melhor com uma tarefa, considerando observações de amostra, ajustes dos pesos e limites opcionais da rede para melhorar a precisão do resultado, e tudo isso deve ser feito minimizando os erros observados. O aprendizado é finalizado quando a observação de amostras adicionais não reduz significativamente a taxa de erro ou a taxa de erro atinge um limiar satisfatório.

Mesmo após o aprendizado, a taxa de erro normalmente não chega a 0, contudo, se mesmo depois do aprendizado, as taxas de erro se mantiverem muito altas, a rede geralmente deve ser redesenhada. Na prática, isso é feito definindo uma função de custo que é avaliada periodicamente durante o aprendizado. Enquanto sua produção continuar diminuindo, o aprendizado continuará. O custo é frequentemente definido como uma estatística cujo valor só pode ser aproximado. As saídas são na verdade números reais, podendo ou não haver uma última camada de filtro para resultar uma resposta exata referente à classe apontada pela rede. Por exemplo, quando o erro é baixo, a diferença entre a saída “quase certamente um cão” e a resposta correta é pequena. O aprendizado tenta reduzir o total das diferenças entre as observações e a maioria dos modelos de aprendizado pode ser vista como uma aplicação direta da teoria da otimização e estimativa estatística. Nas referências (13,20,23,31-32,55,57-60) existem diversos trabalhos que citam exemplos de aplicação de redes e suas diferentes construções e exemplos de implementação dos algoritmos.

2.2.5 *Redes neurais convolucionais*

Na área de aprendizagem de máquina existe uma subárea chamada de aprendizagem profunda (do inglês, *deeplearn*), baseada em algoritmos que tentam realizar modelagens com alto nível de abstração por meio da combinação de vários grafos profundos, em diversas camadas contruídas sobre transformações lineares e não lineares. (30-34) Neste trabalho foram utilizadas aplicações de redes neurais convolucionais, uma classe de redes profundas muito utilizada para análise de imagens. Elas também são conhecidas como redes neurais artificiais invariantes por deslocamento e possuem aplicação em reconhecimento de padrões em vídeo, sistemas de recomendação, análise de imagens médicas e processamento de linguagem natural. (27,30-31,33-34,57,61-63)

Redes neurais convolucionais (do inglês, *convolution neural networks*, CNN) são versões regularizadas de MLPs. Neste caso estamos falando MLPs totalmente conectadas, ou seja, cada neurônio em uma camada é conectado a todos os neurônios na próxima camada. As redes convolucionais são inspiradas por processos biológicos, onde o padrão de conectividade entre os neurônios se assemelha à organização do córtex visual. No cortex visual os neurônios corticais individuais respondem a estímulos apenas em uma região restrita do campo visual, esta conhecida como campo receptivo. Os campos receptivos de diferentes neurônios se sobrepõem parcialmente (34,59,64), cobrindo todo o campo visual. As CNNs usam relativamente pouco pré-processamento em comparação com outros algoritmos de classificação de imagem, isso significa que a rede por si só, uma vez que dadas as imagens, quais filtros deve aplicar na imagem e quais características dessas imagens devem ser utilizadas, algo que nos algoritmos tradicionais devem ser feitos previamente. Essa independência do conhecimento prévio e do esforço humano no *design* de recursos é uma grande vantagem, no entanto, traz consigo grande receio no uso das mesmas, uma vez que fica impraticável o acompanhamento *step-by-step* da geração do resultado.

A construção de uma rede neural convolucional consiste em uma camada de entrada e de saída, além de várias camadas ocultas. As camadas ocultas de uma CNN geralmente consistem em uma série de camadas convolucionais que se envolvem com uma multiplicação ou outro produto pontual. A função de ativação é geralmente uma camada ReLU ($f(x) = \max(0, x)$) (34,59,64) e é subsequentemente seguida por convoluções adicionais, como camadas de *pool*, que são camadas responsáveis por receber as tuplas que representam as imagens ou dados que foram submetidos a rede (geralmente chamado de vetor de características), as quais foram geradas na camada anterior e a partir delas geram um mapa das características condensado para envio a próxima camada. camadas totalmente conectadas e camadas de normalização, conhecidas como camadas ocultas, porque suas entradas e saídas são mascaradas pela função de ativação e convolução final. A convolução final, por sua vez, geralmente envolve retro propagação para pesar com mais precisão o produto final, que é o resultado obtido após a saída da camada de saída.

Desde a criação do conceito das CNNs diversos pesquisadores vêm trabalhando na busca da melhor arquitetura para um dado problema. Em especial, foi utilizado neste trabalho uma arquitetura denominada *AlexNet*, um tipo particular de CNN desenvolvida por Alex Krizhevsky e colaboradores (2012). (34) A arquitetura da rede, ilustrada na Figura 10, é composta por 8 camadas com pesos; as primeiras cinco camadas são convolucionais e as três restantes são completamente conectadas. A primeira camada convolucional filtra a imagem de entrada $224 \times 224 \times 3$ com 96 kernels de tamanho $11 \times 11 \times 3$ com um passo de 4 pixels (essa é a distância entre os centros de campo receptivo dos neurônios vizinhos em um mapa do kernel). A segunda camada convolucional recebe como entrada a saída (normalizada de resposta e combinada) da primeira camada convolucional e a filtra com 256 kernels de tamanho $5 \times 5 \times 48$.

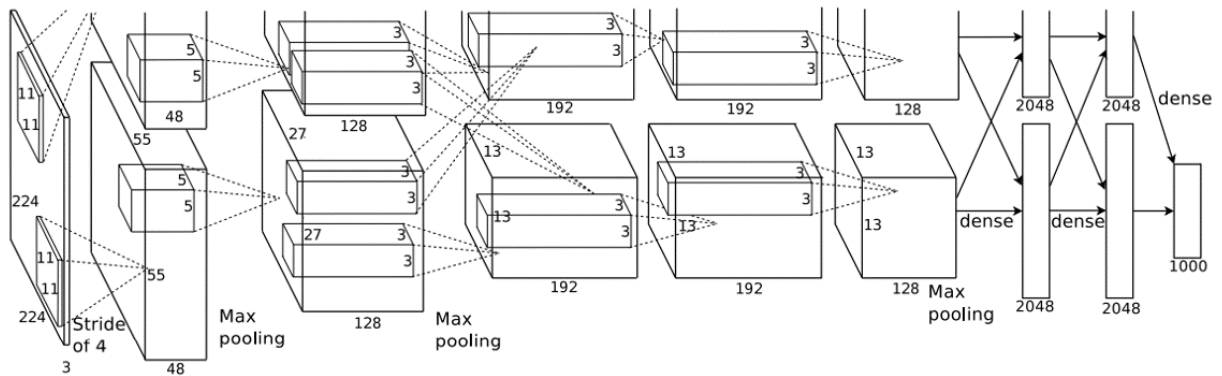


Figura 10 - Arquitetura da AlexNet.
Fonte: KRIZHEVSKY; SUTSKEVER; HINTON. (34)

As terceira, quarta e quinta camadas convolucionais são conectadas umas às outras sem nenhuma camada intermediária de *pool* ou normalização. A terceira camada convolucional possui 384 *kernels* de tamanho $3 \times 3 \times 256$ conectados às saídas (normalizadas, agrupadas) da segunda camada convolucional. A quarta camada convolucional possui 384 *kernels* de tamanho $3 \times 3 \times 192$ e a quinta camada convolucional possui 256 *kernels* de tamanho $3 \times 3 \times 192$. As camadas totalmente conectadas possuem 4096 neurônios cada. Para maior riqueza de detalhes, tanto da teoria, como do formalismo ou implementação podem ser encontrados na bibliografia. (34)

3 INSTRUMENTAÇÃO E METODOLOGIA

Neste capítulo, apresentaremos a instrumentação desenvolvida e utilizada, bem como a metodologia empregada. Na Figura 11 é apresentado de forma esquemática e resumida o método de trabalho realizado durante os experimentos que deram origem a esse trabalho. As amostras (folhas sadias e doentes) foram coletadas no campo e trazidas ao laboratório onde na chegada foi feita imagens das mesmas por meio de dois sistemas de espectroscopia distintos, com funções diferentes e descritas em detalhes a seguir. Essas imagens foram submetidas a um pré-processamento computacional para normalização das mesmas e eliminação de qualquer ruído que possa ter sido gerado por meio do aparato utilizado no processo de aquisição delas.

Após o tratamento as imagens foram submetidas a três processos distintos, onde: i) foram utilizados algoritmos de extração de características de texturas para geração dos vetores de características que seriam utilizados nos algoritmos clássicos que foram primeiramente testados; ii) as imagens foram submetidas diretamente a um algoritmo de *deeplearning* no intuito de construir e treinar uma rede que fosse capaz de classificá-las; iii) as imagens foram submetidas ao algoritmo *AlexNet* por meio do processo de *transferlearning* para que a rede fosse capaz de se adaptar ao novo domínio de aplicação.

Esse processo está descrito em detalhes, onde cada seção traz uma parte do processo de maneira a ilustrar todo trabalho envolvido em cada fase e os resultados gerados também por cada uma.

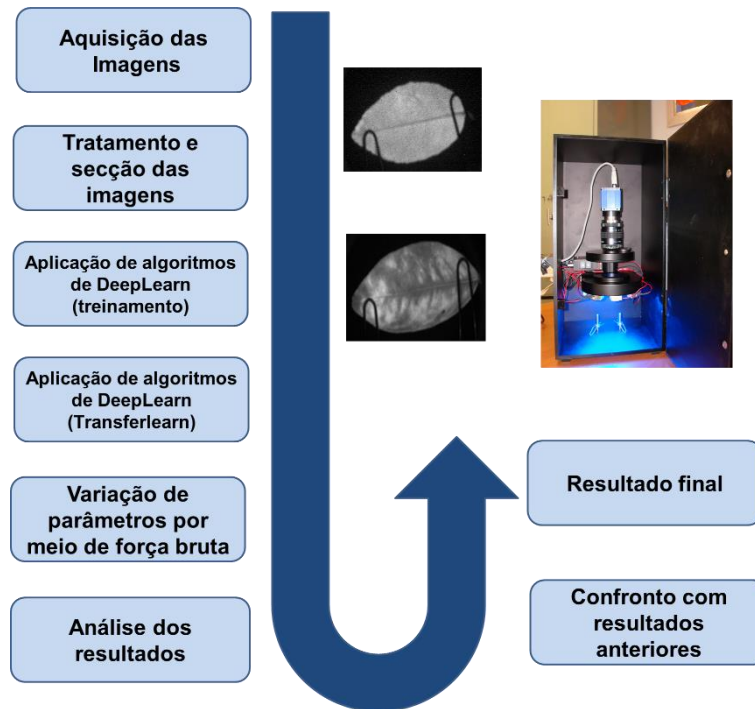


Figura 11 - Representação completa do método de trabalho adotado para realização dos experimentos.
Fonte: Elaborada pelo autor.

3.1 SISTEMAS DE ESPECTROSCOPIA POR IMAGENS DE FLUORESCÊNCIA

Como mencionado anteriormente no capítulo de Revisão Bibliográfica, os sistemas de espectroscopia por imagens de fluorescência são capazes de realizar a análise de uma região da folha, ou de sua totalidade. Isso difere de outras técnicas (9,14,25,37), uma vez que permite a análise dos sinais ópticos com resolução espacial e espectral. (17,65) Neste trabalho foram desenvolvidos dois diferentes sistemas de imagens de fluorescência. A seguir, estão descritos os dois sistemas desenvolvidos, destacando a instrumentação envolvida e suas principais características.

3.1.1 Sistema de imagens de fluorescência utilizando filtro óptico de cristal líquido variável (SIF-1)

O primeiro sistema desenvolvido foi baseado no uso de um filtro variável de cristal líquido, tendo como objetivo varrer a região visível do espectro eletromagnético para as doenças/estresse e, conseqüentemente, selecionar as principais bandas espectrais. Esse primeiro sistema de imagens de fluorescência (SIF-1) é composto por: i) uma câmera CCD; ii) um sistema de lentes; iii) um filtro óptico de cristal líquido variável; iv) um conjunto de iluminação composto por LEDs de alta potência; v) um *laptop* e vi) uma estrutura metálica para fixar os componentes e as amostras. O filtro óptico que compõe o sistema é um filtro de cristal líquido variável (*Liquid Crystal Tunable Filter*, Meadowlark Optics, EUA) que responde à tensão aplicada, variando assim sua transmissão.

Esse filtro é composto por múltiplos retardadores de cristal líquido variável, retardadores invariantes e polarizadores, todos protegidos e com temperatura controlada, o qual permite selecionar o comprimento de onda de interesse na faixa entre 420nm e 750nm. O filtro permite também a escolha de três diferentes larguras de banda para cada comprimento de onda: estreito, médio e largo. No intervalo entre 420nm e 750nm a largura de banda varia de 5nm a 19nm, 13nm a 35nm e de 22nm a 65nm, para as configurações estreita, média e larga, respectivamente. As diferentes larguras permitem alterar a transmissão da luz através do filtro óptico e as características de transmissão espectral. A Figura 3.1 apresenta o espectro de transmissão em função do comprimento de onda.

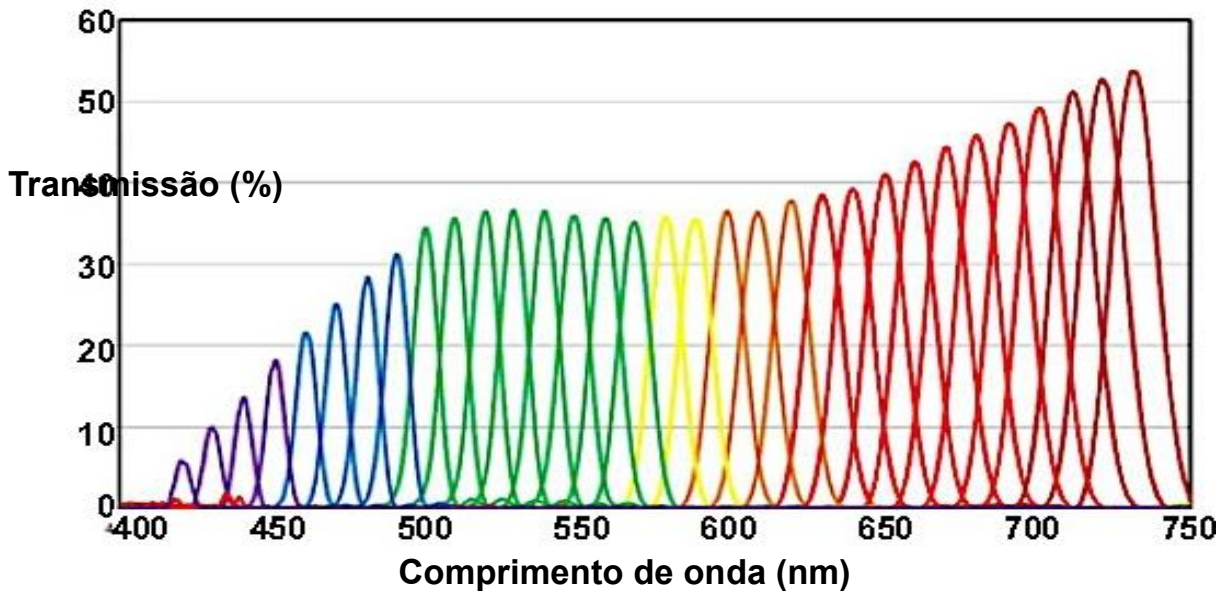


Figura 12 - Espectro de transmissão do filtro de cristal líquido variável em função do comprimento de onda.
Fonte: LIQUID (66)

O filtro utiliza uma conexão padrão por cabo flexível de 32 vias e comunicação de 25 pinos a um módulo que é responsável pelo controle da temperatura do filtro. Esse controle é importante uma vez que a birrefringência dos retardadores de cristal líquido variável é uma função da temperatura e da tensão. Por essa razão, há a necessidade de se esperar a temperatura estabilizar após ligar o equipamento para que todos os componentes do filtro atinjam e sejam mantidos a 40°C, de modo que as condições do ambiente não afetem a calibração ou a velocidade de troca dos comprimentos de onda, tendo como tempo para a estabilização aproximadamente 90 minutos. O módulo de controle se conecta a um computador através de um cabo USB ou cabo RS232 (porta serial). O software fornecido pelo fabricante permite a seleção do comprimento de onda, a largura de banda, bem como informa sobre o status da temperatura do filtro. A Figura 3.2 apresenta os componentes que constituem esse conjunto do sistema do filtro óptico sintonizável.

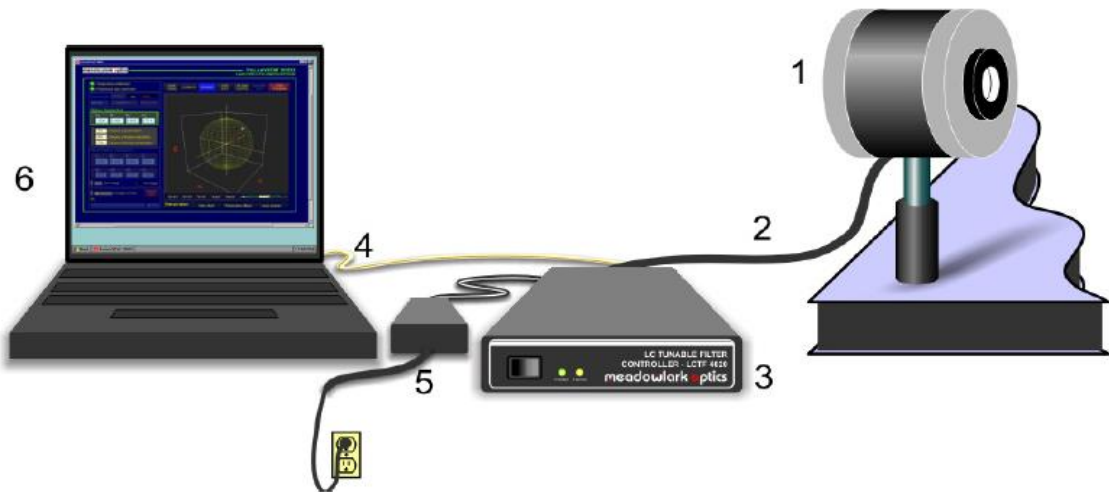


Figura 13 - Componentes do filtro óptico sintonizável. (1) Filtro óptico variável; (2) Cabo de 25 pinos; (3) Módulo de controle; (4) Cabo USB ou RS232; (5) Fonte de alimentação; (6) Computador com o software do fabricante.

Fonte: LIQUID (66)

O conjunto de iluminação é composto por LEDs de alta potência de aproximadamente 300 mW por LED. Seus picos de emissão estão em 405 (ProLight Opto Technology Corporation, USA) e 470 nm (Cree[®], USA) e largura de banda de 10 nm. Os diodos estão fixados a um suporte metálico com inclinação adequada para a distribuição homogênea da luz sobre as superfícies das folhas e são alimentados por uma fonte de tensão regulável. Acoplados ao filtro variável temos um sistema de lentes e uma câmera CCD para a obtenção das imagens. A câmera CCD utilizada é a mvBlueFox 120G (Matrix Vision, Alemanha) com resolução de 480 x 640 pixels na área ativa do sensor, controle eletrônico de exposição entre 1 a $10^7 \mu\text{s}$ e ganho do sensor de 0 a 30 dB. As imagens formadas são monocromáticas com 8, 10 ou 12 bits por pixels. A câmera possui comunicação com computadores via USB 2.0 e *drivers* de captura de imagens para o software LabVIEW[®] (National Instruments, USA). A lente objetiva utilizada é uma PENTAX TV LENS 6 mm que possui controle manual de foco da imagem e da íris para atender as condições de visualização e iluminação.

Além disto, uma estrutura metálica no formato de uma caixa, anodizada na cor preta, foi confeccionada para alinhar e fixar os componentes e posicionar as amostras de citros para a coleta das imagens espectrais. Todos os componentes acima descritos estão posicionados na parte interna da caixa com a intenção de evitar a influência de luz externa. O esquema do SIF-1 é apresentado na Figura 3.3.

Inicialmente, o módulo de controle do filtro variável é ligado a fim de estabilizar sua temperatura. Estando o filtro estabilizado, as amostras das folhas de citros são fixadas na base da caixa e os LEDs são ligados através de uma fonte de tensão que permite o controle da intensidade luminosa por meio da regulação de corrente e tensão. Em seguida seleciona-se o comprimento de onda de interesse através do software do filtro óptico e faz-se captura da respectiva imagem de fluorescência através do software CCD, a qual é salva no formato *BMP*. Vale destacar que esse sistema apresenta como principal característica seu fácil manuseio e portabilidade, entretanto é inviável de se aplicar no campo uma vez que o tempo para a estabilização da temperatura do filtro é significativo e seu custo é bastante alto.

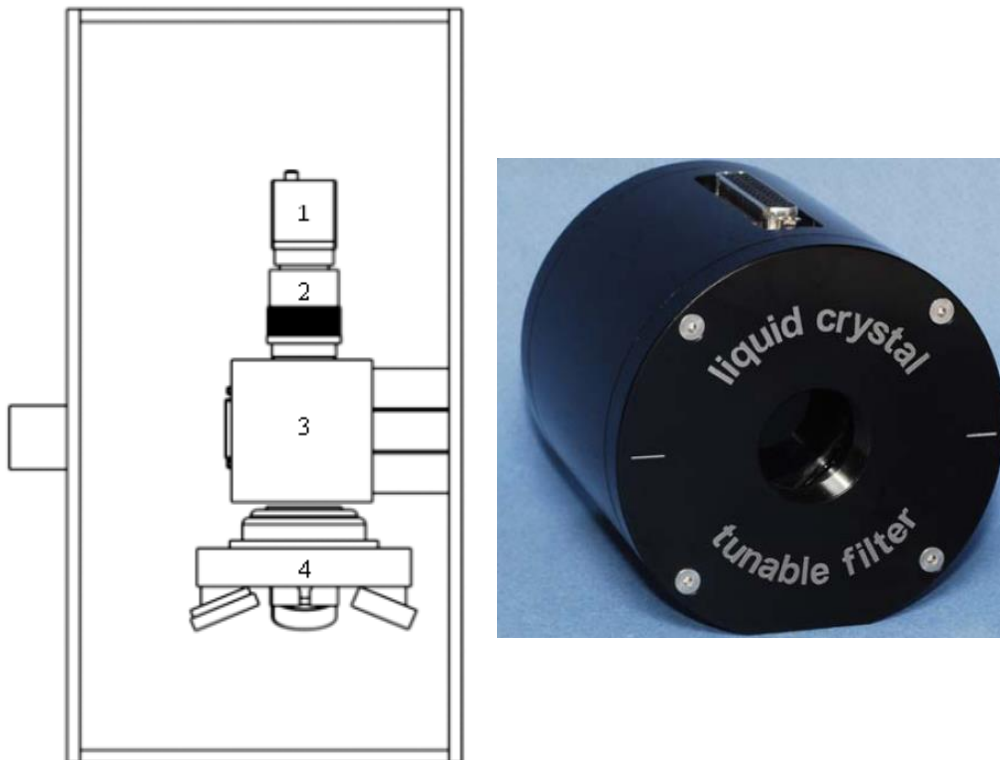


Figura 14 - (a) Esquema da montagem do SIF-1, destacando os principais componentes ópticos: (1) câmera CCD, (2) lentes objetivas, (3) filtro de cristal líquido variável, (4) sistema de iluminação à LEDs em diferentes comprimentos de onda: 365, 405, 470 e 530 nm; (b) Filtro óptico de cristal líquido.

Fonte: Elaborada pelo autor

3.1.2 *Sistema de imagens de fluorescência utilizando filtros ópticos passa-banda associados a rodas de filtros (SIF-2)*

A partir do SIF-1 foi possível selecionar as principais bandas de emissão para as diferentes doenças analisadas neste trabalho. Após a seleção dessas bandas, passamos a utilizar um segundo sistema (SIF-2), similar ao anterior, porém neste utilizamos uma roda de filtros no qual a seleção é feita manualmente (por sistema mecânico) a partir de filtros passa-banda. Esse sistema está descrito em maiores detalhes na dissertação de mestrado de WETTERICH, C. B. (67)

O sistema é constituído pelos seguintes filtros passa-banda: 530nm, 550 nm, 560 nm, 570 nm, 580 nm, e 690nm (modelos FB530-10, FB550-10, FB560-10, FB570-10, FB580-10, e FB690-10, Thorlabs, EUA). Esses filtros apresentam uma largura de banda de 10nm, uma transmissão típica de 50% dentro da banda, e menor que 0,01% fora da banda. (39) Esses comprimentos de ondas foram selecionados depois de uma análise realizada com o SIF-1 e visto quais comprimentos de onda eram relevantes e traziam maior informação sobre as doenças / estresse.

A roda de filtros utilizada foi o modelo FW102B (Thorlabs, USA) que comporta até seis filtros ópticos, possui comunicação com computadores via USB 2.0 o qual permite o controle dos filtros através de software próprio ou também via LabVIEW[®] (National Instruments, USA). Em relação ao sistema de iluminação, este é composto por 8 LEDs de alta potência, divididos em dois conjuntos: i) conjunto formado por LEDs em 405nm; ii) conjunto formado por LEDs em 470 nm. Eles foram fixados a um suporte metálico com inclinação de 45° para a distribuição homogênea da luz sobre as superfícies das folhas, e são alimentados por uma fonte de tensão regulável.

Os demais componentes desse sistema para a aquisição das imagens de fluorescência são idênticos ao utilizado no FIS-1 e estão posicionados na parte interna da caixa com a intenção de evitar a influência da luz externa na aquisição das imagens. O esquema do SIF-2 é apresentado na Figura 3.5.a, e na Figura 3.5.b uma foto do sistema completo inclusive com o *laptop* e a excitação em 470nm ligada.

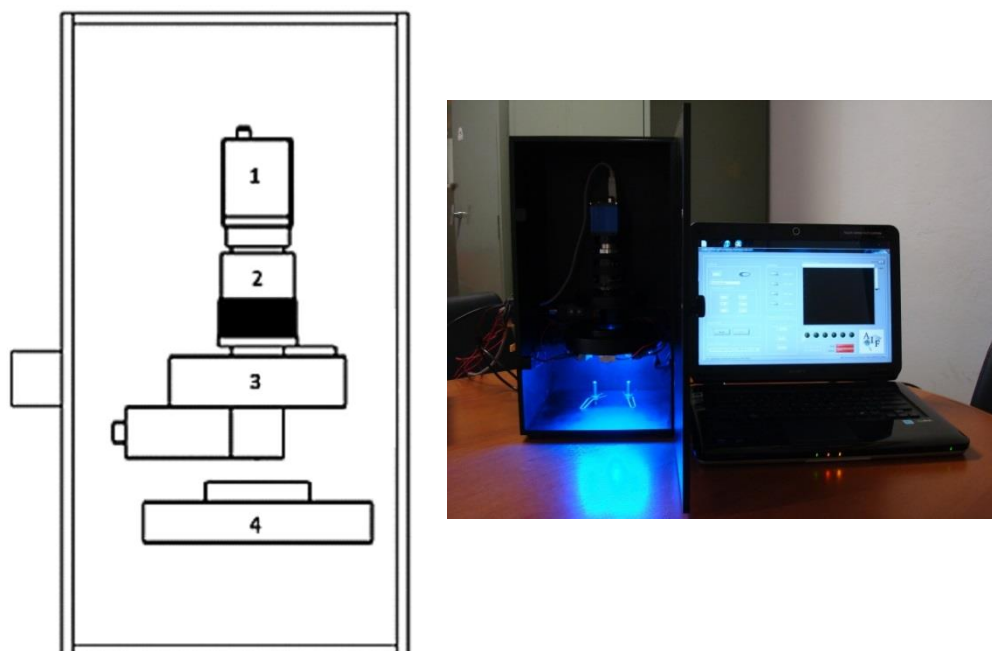


Figura 15 - (a) Esquema da montagem do SIF-2 , destacando os principais componentes ópticos: (1) câmera CCD, (2) lentes objetivas, (3) roda de filtros, (4) sistema de iluminação a LEDs em 405 e 470 nm. (b) Imagem digital do sistema completo com a excitação em 470 nm.

Fonte: Elaborada pelo autor.

3.2 AMOSTRAS

Foram coletadas amostras de das espécies de plantas cítricas *Citrus reticulata* (“Ponkan”), *Citrus sinensis* (“Hamlin”) e *Citrus latifolia* (“Limão-Tahiti”) sabido que o uso de diferentes espécies de citros não influencia nos resultados. Esse ponto foi demonstrado pelo grupo do Laboratório de Interações Atômicas (LIA) em estudos anteriores envolvendo a técnica de espectroscopia induzida por laser. (14,67)

Essas folhas foram coletas amostras do Brasil, mais especificamente do estado de São Paulo, para condução de um experimento exploratório utilizando o SIF-1 para a seleção das principais bandas espectrais de fluorescência que distinguem cada par de doenças. As imagens foram coletadas para 5 amostras de cada uma das seguintes condições: i) cancro cítrico, ii) verrugose, iii) greening e iv) deficiência de zinco. Após isso, foram coletadas imagens de fluorescência para 100 amostras de cada doença utilizando o SIF-2. Essas imagens foram obtidas com as excitações em 405nm e 470nm utilizando os filtros previamente selecionados no primeiro experimento. Os experimentos foram conduzidos no LIA uma vez que a agência Fundecitrus se disponibilizou a coletar e encaminhar as amostras para o estudo.

Ademais, as amostras possuíam diferentes níveis de severidade e idade, variando desde sintomas iniciais até situações em que estão gravemente infectadas. Já que estamos interessados em desenvolver uma técnica que possa ser aplicada diretamente em amostras do campo independente de suas condições, consideramos que nosso método deveria ser capaz de lidar com quaisquer amostras selecionadas, independentemente do nível sintomático dela. A única condição exigida foi que as amostras fossem coletadas para cada doença com base em seus sintomas no campo e somente se não apresentassem outros sintomas macroscópicos.

As amostras foram coletadas por técnicos qualificados da agência Fundecitrus entre os meses de Maio e Agosto de 2013 no município de Araraquara/SP e transportadas ao laboratório para a aquisição das imagens em caixa de isopor fechadas. Vale ressaltar que no intuito de evitar qualquer efeito do tempo de destacamento das folhas, as medidas e coletas das imagens foram realizadas imediatamente após sua extração. Após a coleta das imagens, as folhas foram transportadas para a agência Fundecitrus para o diagnóstico das doenças através do uso de técnicas tradicionais. (10,68–71) Amostras com cancro cítrico e verrugose foram diferenciadas através do isolamento da bactéria *Xanthomonas* em meio de cultura apropriada. (71) O greening e a deficiência de zinco foram diferenciadas através da técnica qPCR (do inglês, *quantitative Polymerase Chain Reaction*). (72) Esses testes são considerados testes padrão-ouro e seus resultados foram utilizados para checar a validade da técnica proposta.

3.3 AQUISIÇÃO E PRÉ-PROCESSAMENTO DAS IMAGENS

Nesta seção vamos explicar como se deu a aquisição das imagens e medidas. Como citado na seção 3.1 foi utilizado um filtro de cristal líquido variável onde para controle do mesmo foi utilizado o próprio software do fabricante. Nele podemos controlar o comprimento de onda que passará através do filtro, sua largura e também ter *status* sobre a operação do filtro. A interface do software é ilustrada na Figura 15, a mesma é bem intuitiva e permite acompanhar claramente todo o processo de captura. Para aquisição das imagens propriamente ditas foi também utilizado o software do próprio fabricante da CDD, na Figura 16 é apresentado a interface do software, nela pode-se ver todos os recursos utilizados nesse trabalho e como são de fácil uso.

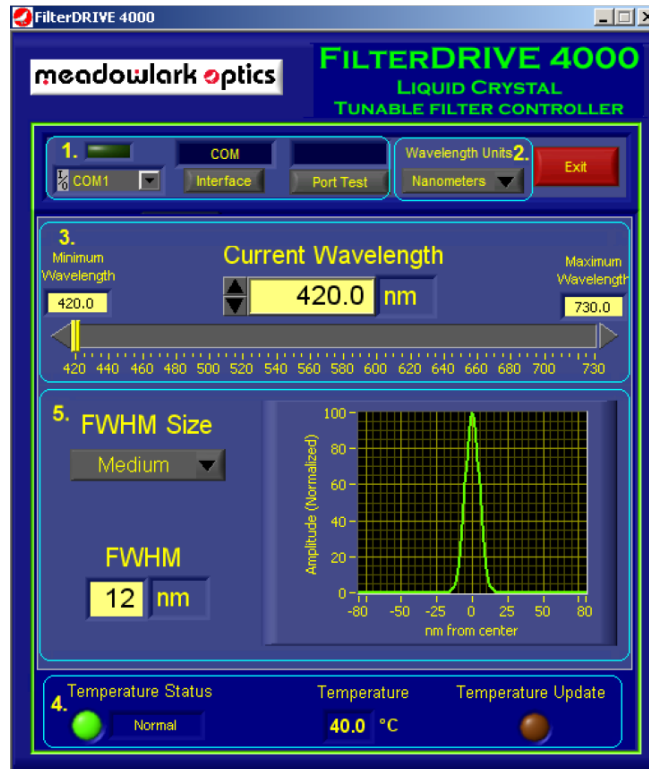


Figura 15 - Interface do software de seleção dos comprimentos de onda do filtro variável.
Fonte: Elaborada pelo autor.

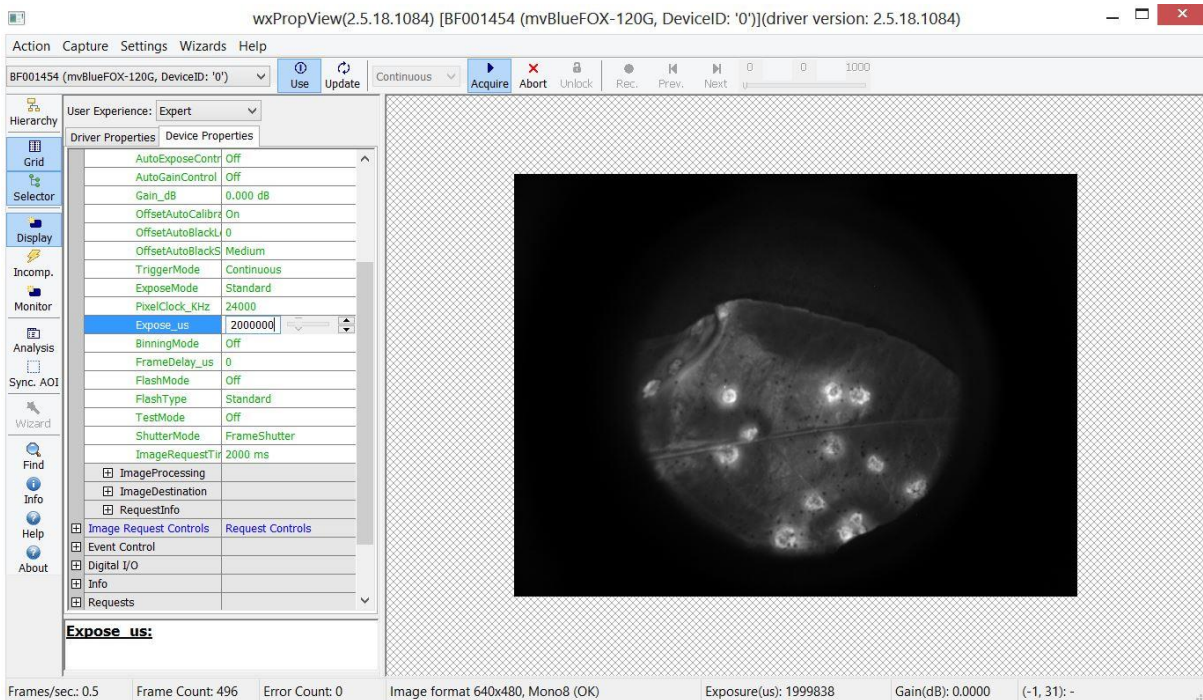


Figura 16 - Interface do software de aquisição das imagens de fluorescência.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Como a intensidade de resposta das imagens de fluorescência variam em função de cada doença e comprimento de onda selecionado, houve a necessidade do ajuste de ganho e tempo de exposição das imagens a cada nova seleção no filtro variável. Como recurso para facilitar a correção das imagens ao final da aquisição (na fase de pré-processamento) foi mantido então o ganho fixo e variou-se apenas o tempo de exposição, uma vez que o sinal de resposta da CDD aumenta linearmente com o tempo, como podemos observar na Figura 17.

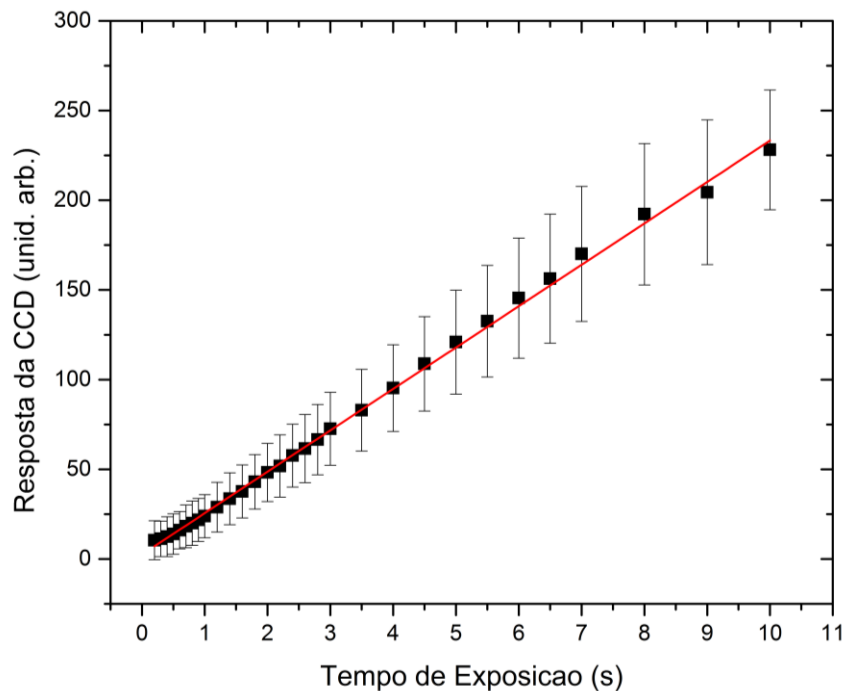


Figura 17 - Resposta da câmera CCD em função do tempo de exposição.
Fonte: Elaborada pelo autor.

Esse processo tornava a análise das imagens de fluorescência das diferentes doenças algo muito complexo uma vez que não se tem um único referencial. Foi então levado em consideração tanto a curva de respostas da CCD quanto a curva de transmissão do filtro variável em função de cada comprimento de onda selecionado, as quais podemos observar na Figura 18. Vale ressaltar que a sensibilidade da CDD é maior na região do verde e a transmissão do filtro aumenta conforme aumenta o comprimento de onda selecionado.

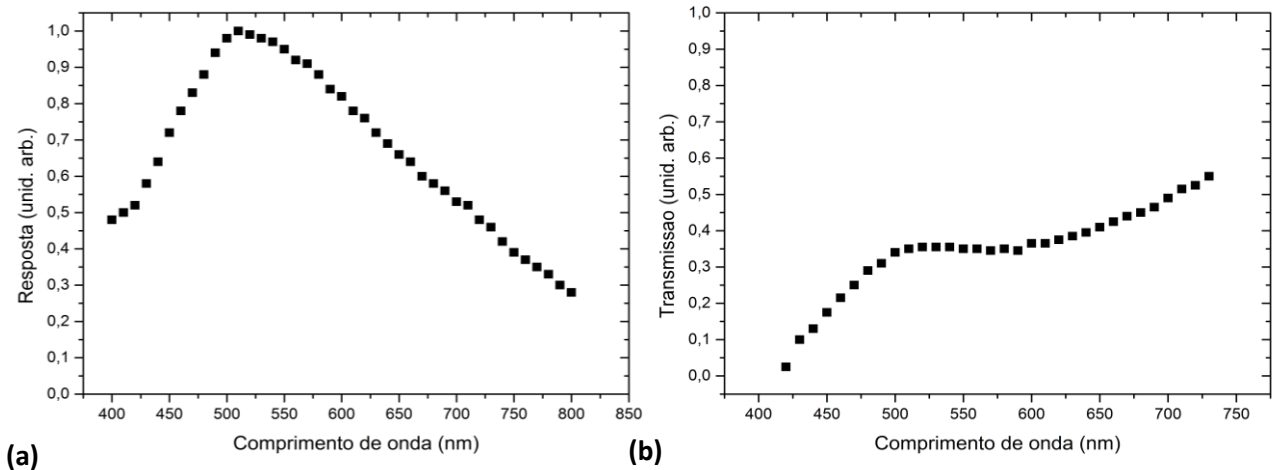


Figura 18 - (a) Gráfico da sensibilidade espectral da câmera CCD. (b) Gráfico da curva de transmissão do filtro variável.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Tendo em vista as variações de transmissão, as imagens foram submetidas a duas máscaras polinomiais de ordem seis, sendo uma para cada cenário, no intuito de remover ruídos e variações do sistema de aquisição, e depois normalizadas pelo maior valor. O resultado dessas máscaras foi chamado de espectro normalizado e será representado pelo símbolo $En(\lambda)$. A Figura 19 apresenta o comportamento desse espectro.

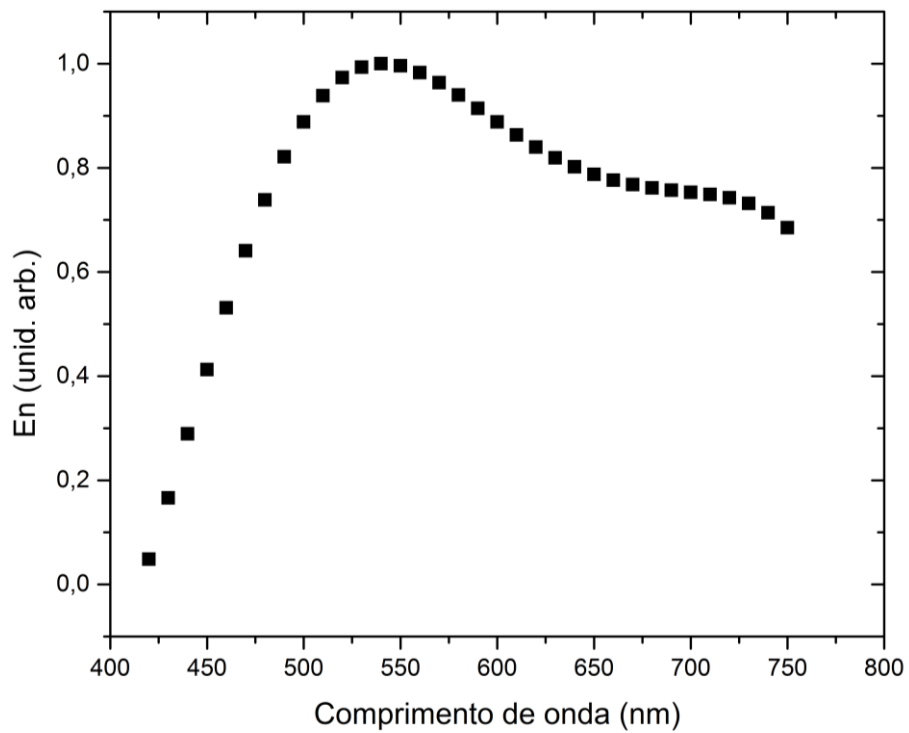


Figura 19 - Gráfico do comportamento da função obtida a partir do produto da equação resposta da câmera CCD pela equação da curva de transmissão do filtro.

Fonte: Elaborada pelo autor

No passo seguinte, foi realizada a eliminação da informação espectral para os diferentes comprimentos de acordo com a seguinte expressão:

$$I_s(l) = \frac{I(l)}{En(l)} \quad (1)$$

onde $I(l)$ representa a imagem selecionada para um comprimento de onda específico.

Logo após houve a aquisição de novas imagens, $I_s(\lambda)$, para os diferentes comprimentos de onda, onde ainda precisávamos eliminar a informação dos diferentes tempos de exposição da câmera (t_{exp}). O procedimento para a eliminação do tempo de exposição foi: i) selecionar uma imagem para um determinado comprimento de onda $I_s(\lambda)$; ii) multiplicar pela razão entre o menor tempo de exposição (t_{min}) e o tempo de exposição da imagem nesse comprimento de onda ($t(\lambda)$). Neste caso, sabemos que t_{min} representa o menor tempo de exposição dentre todas as amostras dos grupos de comparação, por exemplo, o menor tempo de exposição utilizado na comparação do cancro cítrico e verrugose para uma excitação específica. O mesmo procedimento foi realizado para as amostras contaminadas com greening e deficiência de zinco. Esse procedimento só é possível e faz sentido uma vez que temos o conhecimento de que a influência no tempo na aquisição da imagem é linear. A seguir, temos uma equação que exemplifica o processo de remoção do efeito do tempo das amostras:

$$I_{final} = I_s(\lambda) * \frac{t_{min}}{t(\lambda)} \quad (2)$$

onde t_{min} representa o menor tempo de exposição das amostras para uma dada excitação comparando as doenças do grupo, e $t(\lambda)$ representa o tempo de exposição da imagem no comprimento de onda analisado. No caso das imagens obtidas a partir do SIF-2 foi aplicado o mesmo processo de normalização remoção de ruídos descrito acima a menos da substituição da transmissão do filtro variável pela porcentagem de transmissão dos filtros ópticos passa-banda. O pré-processamento das imagens foi realizado para as diferentes excitações e doenças através de uma rotina computacional desenvolvida no software Matlab[®] (The MathWorks, EUA). As imagens obtidas após este pré-processamento foram salvas no formato *Bitmap*.

3.4 EXTRAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS

Quatro dos cinco algoritmos utilizados nesse trabalho (KNN, *Random Forests*, SVM, ANN) recebem como entradas dados estruturados no formato de conjunto de tuplas, sendo cada tupla referente a uma visualização. Para a construção dessa tupla optou-se por, tomando como base trabalhos passados (17,20,29), utilizar características que pudessem ser extraídas com base na matriz de co-ocorrência de níveis de cinza (GLCM, do inglês *Gray level co-occurrence matrix*). Essa matriz caracteriza as texturas das imagens através de um conjunto estatístico de ocorrências de cada nível de cinza em diferentes pixels ao longo de direções distintas. A matriz GLCM representa a distribuição de intensidade dos pixels e também fornece informações sobre os pixels relativos a seus “vizinhos”. Ela trata sempre a relação entre dois pixels de cada vez, sendo um pixel considerado como referência e o outro o pixel relativo de estudo ou “pixel vizinho”. Para uma imagem I de dimensões $N \times N$, podemos definir a matriz GLCM como:

$$P(i, j) = \sum_{x=1}^N \sum_{y=1}^N \begin{cases} 1, & \text{se } I(x, y) = i \text{ e } I(x + Dx, y + Dy) = j \\ 0, & \text{caso contrário} \end{cases} \quad (3)$$

onde os deltas (Dx, Dy) especificam a distância entre o pixel de interesse e o de referência, o que torna a matriz sensível a rotação. Esse deslocamento (Dx, Dy) pode assumir valor igual ou maior a 1 e é representado pelo símbolo Δ quando $Dx = Dy$. (73) Cada elemento da matriz P dita o número de vezes que o pixel com valor i ocorreu de acordo com um determinado ângulo de rotação em relação a um pixel com valor j .

Haralick e colaboradores (74) mostraram, em 1973, que 14 características podem ser calculadas a partir da matriz GLCM, onde 6 destas são consideradas de maior relevância, que são: energia, contraste, variância, correlação, entropia e homogeneidade. Neste trabalho, após a realização de experimentos empíricos, concluímos que contraste, homogeneidade e uniformidade são as características mais adequadas e, portanto, suficientes para aplicação dos algoritmos. Mais detalhes sobre as características de textura, descritores estatísticos e suas aplicações podem ser encontrados nas referências. (73–75)

3.5 CLASSIFICAÇÃO

Foram extraídas as características das 400 imagens geradas a partir das amostras de folhas originais (100 de cada doença), o que resultou, para cada imagem, num vetor de 24 posições, sendo 8 posições referentes a cada característica. Além disso, uma dimensão a mais foi adicionada a cada amostra para indicar o *label* de cada doença. O *dataset* final de características então foi composto de 400 vetores ou linhas e 25 características ou colunas, sendo a vigésima quinta a coluna de identificação da doença. Esses vetores foram utilizados como entrada nos classificadores KNN, *Random Forests*, SVM e ANN. As imagens foram utilizadas diretamente como entrada da AlexNet. Nas próximas seções, apresentamos a metodologia de trabalho adotada para cada classificador. Todas as implementações foram feitas utilizando MATLAB® e uma placa de vídeo NVIDIA 1070 TI para paralelização e otimização dos códigos.

3.5.1 KNN

O KNN foi a primeira técnica adotada para treinamento e detecção das doenças. Este foi o primeiro algoritmo utilizado em razão de sua simplicidade e por se tratar de uma técnica clássica da literatura. Seu uso foi feito variando-se o parâmetro K (de 1 a 30) e a função de distância (euclidiana e manhattan) por meio de método de força bruta (método de tentativa e erro) (76,77), ou seja, para cada valor de K foram testadas todas as funções de distância e, a partir dos valores de acurácia obtidos nesse teste, considerou-se o par (K e função de distância) com melhor resultado. Por se tratar de um algoritmo simples, cada execução levou cerca de 10 segundos, e os testes foram feitos utilizando *10-Fold Cross Validation* (51,78) para validação.

3.5.2 *Random Forests*

Visto que o método de *Random Forests* é de um dos métodos mais utilizados na literatura e capaz de se adequar bem a diversos tipos de problemas, fizemos uso do mesmo para verificar se ele era capaz de se adequar ao nosso domínio de aplicação. Durante os testes variamos tanto o tamanho da amostra de treinamento bem como o número de árvores das *random forests*. O tamanho da amostra de treinamento variou de 20% a 90% em *steps* de 10% e o número de árvores entre 100 e 100.000 em *steps* de 10, fazendo uso de força bruta novamente, ou seja, para cada conjunto de treinamento foram testadas todas as variações do número de árvores.

Vale ressaltar que, dada a variação do tamanho do conjunto de treinamento, a validação não pôde ser feita por meio de *k-fold Cross Validation*, como no algoritmo anterior. O que foi feito foi: i) considerando que o tamanho do conjunto era sempre um múltiplo de 10, o conjunto foi dividido em 10 partes; ii) N partes eram usadas para treinamento e M partes para teste, sendo $M + N = 10$; iii) fazia-se a rotação dessas partes para que todas fossem usadas tanto para treinamento quanto para testes; e esse procedimento foi adotado para todas as variações de números de árvores, o que fez com que o paralelismo fosse extremamente necessário e realizado de maneira correta para que o tempo não se tornasse um fator limitante.

3.5.3 *SVM*

Baseado em trabalhos anteriores do grupo do LIA, fez-se uso novamente do algoritmo SVM uma vez que o mesmo já demonstrou sua eficiência na diferenciação entre pares de doenças previamente diagnosticadas. Para os testes com SVM foi utilizado um tamanho fixo de conjunto de treinamento e seus testes e validações foram feitos utilizando o *10-fold Cross Validation*. O kernel utilizado foi o *rbf* (26) e variou-se os parâmetros C e *gamma* entre 0 e 2 em *steps* de 0,0001 e -1 e 1 em *steps* de 0,0001 respectivamente. Os demais parâmetros foram mantidos com os valores padrão da biblioteca SVM do MATLAB® e não houve estudo sobre o impacto da alteração de função de distância ou de melhor ajuste dos hiperplanos, dado que o foco deste trabalho foi todo na aplicação e não no desenvolvimento dos algoritmos. Maiores detalhes sobre trabalhos do grupo com uso do SVM aplicado a imagens de espectroscopia podem ser encontrados nas referências. (21,26–28,35–36,79-80)

3.5.4 ANN

Como o SVM, o grupo do LIA também já possuía trabalhos realizados e publicados fazendo uso das ANNs (55), e isso motivou o uso das mesmas para o problema tratado neste trabalho, uma vez que já havia mostrado sua eficiência em classificar imagens de espectroscopia de fluorescência. No uso das ANNs a variedade de teste foi mais abrangente, tomando muito mais tempo em relação aos outros algoritmos. Foram variados o número de camadas ocultas na rede entre 5 e 10.000 em *steps* de 1, o número de neurônios em cada camada entre 5 e 30 em *steps* de 1, a função de ativação da rede entre *relu* e *logistic* (56) e o parâmetro *alpha* de 0.0001 a 0.1 em *steps* de 0.00001.

Novamente os testes foram realizados fazendo uso de força bruta, ou seja, cada valor de um dado parâmetro foi testado para todos os valores dos outros parâmetros resultando num número de execuções bem grande, o que levou um pouco mais de 3 semanas de execução. Para as redes neurais os tamanhos dos conjuntos de treinamento e teste foi mantido fixo em relação ao tamanho do conjunto de dados (treinamento com 90% e teste com 10%), porém fazendo uso do *10-fold Cross Validation* para validar os resultados obtidos.

3.5.5 CNNs e AlexNet

Devido aos resultados insatisfatórios apresentados pelos algoritmos anteriores e motivados pelos resultados que as CNNs apresentam no reconhecimento e distinção de padrões em imagens (30-31,34), decidimos pelo uso das mesmas. Primeiramente foram usados os 400 vetores como entrada da rede para treinamento da mesma, utilizando a Toolbox de DeepLearn do próprio MATLAB. Variou-se o número de camadas ocultas, o número de camadas de *max pooling* (34,64), o número de camadas de filtros e seus tamanhos, o número dos blocos de aprendizado para entrada na rede e número máximo de iterações tentando buscar uma combinação que obtivéssemos um bom resultado. Contudo, nesse caso, não foram utilizados métodos de força bruta devido alto custo de processamento (tempo de treinamento) das CNNs.

Após diversas tentativas, observamos que os resultados das CNNs estavam piores que os dos métodos anteriores. Logo, a primeira mudança feita na metodologia foi, ao invés dos 400 vetores de características, fornece como entrada as próprias imagens e deixar que as camadas de filtros fizessem seu papel por completo. Foram realizados outros testes, variando os mesmos parâmetros citados anteriormente e houve uma melhora considerável no resultado. Contudo ainda não eram resultados satisfatórios e ainda continuavam inferiores aos resultados dos métodos anteriores, apesar de seu maior tempo de treinamento e custo computacional.

Após diversos testes chegamos à conclusão que nosso número de amostras era muito pequeno para realizar o treinamento da rede. A partir desse ponto, passamos a abordar o problema com uma nova estratégia, conhecida como *transfer learning*. (64) Em resumo, essa técnica baseia-se em partir de uma rede já treinada e realizar uma “adaptação” ao novo cenário, fazendo alterações apenas em poucas camadas da rede. Usamos como base os estudos prévios realizados por Alex Krizhevsky e colaboradores (34) onde desenvolveram a rede conhecida como AlexNet, a qual possui uma eficiência muito alta na distinção de objetos em imagens.

Nestes experimentos com a AlexNet, primeiramente foi necessário modificar a dimensão de nossas imagens, para que as mesmas se encaixassem nas camadas de filtros da AlexNet, e também criar outros 2 canais de cores, já que nossas imagens eram de canal único (escala de cinza). Esses canais criados foram apenas replicação do canal existente, de modo que a adição deles não mudasse em absolutamente nada as imagens, mas as colocasse num formato RGB (de 3 canais), com o qual a rede foi treinada em estudos anteriores. Uma vez que as imagens foram ajustadas as redes, passamos as modificações necessárias para o processo de *transfer learning* e retreino da rede.

Além dos ajustes nas imagens, foram realizadas alterações na primeira camada da rede e nas 3 últimas. Na primeira camada colocamos como entrada nosso conjunto de imagens, separados em pastas referentes a suas respectivas doenças, seguido de todas as camadas da AlexNet e no fim 3 camadas completamente conectadas. Nessas camadas, duas são responsáveis pelo “reaprendizado” e ajuste em função das novas imagens com padrões a serem detectados e a última responsável pela classificação final das imagens após receberem um valor final pela rede.

Após essas alterações, houve também a necessidade de diversos testes e ajustes dos parâmetros de execução da rede, dentre os quais podemos citar a taxa de aprendizado e taxa de erro, tamanho do bloco de treinamento, número máximo de épocas, número máximo de iterações, frequência de validação, frequência de evolução do ganho de conhecimento e o tipo de otimização que a rede usaria. Esse processo não foi realizado por meio de força bruta uma vez que o método, novamente por se tratar de uma CNN, é custoso no quesito tempo, então foi feito de forma manual, observando a evolução dos resultados a cada alteração.

4 RESULTADOS

A seguir serão apresentados os resultados obtidos na série de experimentos de realizados. Todos os algoritmos foram testados com o mesmo conjunto de imagens e sempre utilizando-se do recurso de testes de força bruta para buscar a melhor configuração de cada algoritmo para o problema em questão. Os resultados estão separados em subseções, sendo cada uma para um algoritmo distinto, trazendo a acurácia e a matriz de confusão com informações sobre sensibilidade (capacidade de detectar verdadeiros positivos) e especificidade (capacidade de detectar verdadeiros negativos).

4.1 KNN

O primeiro resultado a ser apresentado será para KNN, o qual classifica a amostra em função dos “k vizinhos” mais próximos. Trata-se de um método bastante simples, mas utilizado em diversas aplicações com bons resultados. (25,81-82) A acurácia obtida pelo algoritmo ficou entre 35 e 67,5% ($\pm 5\%$) e foram testadas todas as possíveis combinações de valores para k entre 1 e 30, e distâncias euclidiana e *manhatann*. Na **Erro! Fonte de referência não encontrada.** é apresentada a matriz de confusão gerada por esse modelo a partir do melhor resultado obtido (nas linhas estão representadas as classes preditas pelo modelo e nas colunas as classes originais) junto com as métricas de sensibilidade e a especificidade na tabela podemos observar que os falsos negativos tanto para *Greening* quanto para o Cancro estão acima de valores aceitáveis (especificade baixa). Vale ressaltar que nosso maior intuito, além de uma acurácia bem elevada, é também reduzir ao máximo a ocorrência de falsos negativos (aumento da especificidade), que é o pior cenário no que diz respeito a erradicação eficaz de pragas.

Tabela 1 - Matriz de confusão obtida a partir da melhor execução do algoritmo KNN e métricas de sensibilidade e especificidade..

	Cancro	Greening	Verrugose	Zinco
Cancro	14	1	2	4
Greening	2	15	0	5
Verrugose	4	3	16	2
Zinco	0	1	2	9
	Cancro	Greening	Verrugose	Zinco
Sensibilidade	70%	75%	80%	45%
Especificidade	67%	65%	63%	75%

Fonte: Elaborada pelo autor

Para a validação do resultado foi utilizado o método *10-fold cross validation*, com cortes aleatórios de subconjuntos de 80 – 20% para treino e teste respectivamente. O melhor resultado foi obtido para $k = 8$ e com a distância euclidiana, variando dentro do erro em função dos cortes utilizados para o *10-fold cross validation*. Vale ressaltar que esses resultados foram obtidos por meio de método de força bruta, ou seja, foram testadas todas as combinações dentro dos ranges enunciados, fazendo uso do método de validação.

4.2 RANDOM FORESTS

O segundo método utilizado foi o *random forests*, ele não se trata de um método tão simples, contudo é um método clássico da literatura e já se mostrou capaz de solucionar problemas das mais diversas áreas do conhecimento. (83–85) Logo, esta é sempre uma abordagem a ser analisada em problemas em que os dados são organizados em vetores de características muito bem definidos, como é o caso do problema tratado neste trabalho. Os testes varreram tamanhos de amostras variando o conjunto de treinamento entre 20 e 90% em *steps* de 10% e o número de árvores variando entre 100 e 100.000 em *steps* de 10, fazendo uso da força bruta para realização de testes com todas as possíveis combinações.

Nos resultados a acurácia obtida ficou entre 28 e 69.8% ($\pm 5\%$) contudo, como podemos observar na **Erro! Fonte de referência não encontrada.**, a matriz de confusão gerada por esse modelo a partir do melhor resultado obtido (nas linhas estão representadas as classes preditas pelo modelo e nas colunas as classes originais) mostra que a especificidade continua baixa (quantidade de falsos negativos bastante alta) e a sensibilidade caiu (aumentou o número de falsos positivos), o que torna esse resultado pior que os obtidos com KNN, apesar da maior precisão.

Tabela 2 - Matriz de confusão obtida a partir da melhor execução do algoritmo Random Forests e métricas de sensibilidade e especificidade.

	Cancro	Greening	Verrugose	Zinco
Cancro	14	1	2	4
Greening	2	15	0	5
Verrugose	4	3	16	2
Zinco	0	1	2	9
	Cancro	Greening	Verrugose	Zinco
Sensibilidade	70%	75%	80%	45%
Especificidade	67%	65%	63%	75%

4.3 SVM

Na sequência foram realizados experimentos com o algoritmo SVM, dando continuidade e reaplicando experimentos já realizados pelo grupo. O SVM não é, em sua essência, um método para classificação com mais de duas classes, mas dado a experiência no uso do algoritmo em trabalhos anteriores e por se tratar de um algoritmo deveras citado e utilizado na literatura, o mesmo foi estudado para o problema.

O kernel selecionado foi o rbf, variando os parâmetros C e γ do algoritmo entre 0 e 2 em *steps* de 0,0001 e -1, e 1 em *steps* de 0,0001, respectivamente. A acurácia não passou da casa dos 50%, tendo atingido o ponto mais alto em 53% ($\pm 5\%$). Os resultados foram validados para cada modelo gerado fazendo uso também do *10-fold Cross Validation* para evitar a influência de um possível *overfitting* por parte do conjunto de treinamento selecionado. Na **Erro! Fonte de referência não encontrada.** podemos ver pela matriz de confusão gerada por esse modelo a partir do melhor resultado obtido (nas linhas estão representadas as classes preditas pelo modelo e nas colunas as classes originais) que o resultado, além da baixa acurácia, também apresenta desempenho muito ruim no que diz respeito aos verdadeiros positivos das principais doenças. Isso implica diretamente na premissa de que não deve haver o menor número possível de falsos negativos, e nesse caso ele se mostra, além de pior em precisão, muito pior que os demais algoritmos nesse aspecto também.

Tabela 3 - Matriz de confusão obtida a partir da melhor execução do algoritmo SVM e métricas de sensibilidade e especificidade.

	Cancro	Greening	Verrugose	Zinco	
Cancro	8	1	2	1	
Greening	0	5	0	2	
Verrugose	10	10	13	1	
Zinco	2	4	5	16	
	Cancro	Greening	Verrugose	Zinco	
Sensibilidade	40%	25%	65%	80%	
Especificidade	57%	62%	48%	43%	

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.4 MLP

O próximo algoritmo a ser testado foi o de redes neurais, baseando-se na estrutura de um *multilayer perceptron* (23,56), ou seja, uma rede neural artificial com muitas camadas ocultas (camadas que ficam entre a camada de entrada e a de saída e são responsáveis por fazer o ponderamento de uma dada amostra). A rede foi utilizada de forma que fosse variado o número de camadas ocultas, o número de neurônios que compõem cada camada e o parâmetro alpha.

A acurácia do método variou entre 29 e 71% ($\pm 10\%$), atingindo o melhor resultado para diversas combinações das variações e tendo uma variação maior na aplicação do método de validação *10-fold cross validation*. Conforme apresentado na Tabela 4 a matriz de confusão gerada por esse modelo a partir do melhor resultado obtido (nas linhas estão representadas as classes preditas pelo modelo e nas colunas as classes originais), obtivemos um resultado muito satisfatório nesse método em relação aos demais algoritmos, dados que a sensibilidade aumentou para alguns casos. Contudo, esse resultado ainda não é suficiente para uma aplicação no campo dado, como citado anteriormente, o grande risco dos casos de falsos negativos (a baixa especificidade) que podem ser deveras prejudiciais às culturas.

Tabela 4 - Matriz de confusão obtida a partir da melhor execução do algoritmo MLP e métricas de sensibilidade e especificidade.

	Cancro	Greening	Verrugose	Zinco	
Cancro	16	1	4	1	
Greening	0	13	0	2	
Verrugose	3	2	11	0	
Zinco	1	4	5	17	
	Cancro	Greening	Verrugose	Zinco	
Sensibilidade	80%	65%	55%	85%	
Especificidade	68%	73%	77%	67%	

Fonte: Elaborada pelo autor.

Um comportamento interessante pôde ser notado para a maioria das configurações utilizadas, onde a curva da precisão da rede crescia, com pequenas oscilações até 2000 camadas, depois caía drasticamente e voltava a crescer após 8000 camadas. Esse comportamento nos leva a concluir que a rede em certos momentos se torna grande demais e acaba sofrendo *overfitting*, ou seja, ela deixa de aprender (perdendo assim sua capacidade de generalização) e passa a memorizar o conjunto.

4.5 *AlexNet*

Ocupou Por fim, temos os resultados apresentados pelo algoritmo *AlexNet* (34), uma rede neural convolucional profunda apresentada pela primeira vez na competição *ImageNet* LSVRC-2010. Como descrito anteriormente, essa rede foi criada especificamente para realizar tarefas de distinção de imagens e sua primeira aplicação foi em um *dataset* com mil classes mostrando um excelente desempenho. Neste trabalho a *AlexNet* mostrou-se bastante eficiente, quando utilizada a partir do método de *transfer learning*, atingindo uma acurácia de 95%. Na Figura 20 podemos acompanhar o gráfico do treinamento e validação da rede e sua curva de erro e na Tabela 5 temos os resultados obtidos a partir dos testes de validação realizados manualmente com o modelo expostos numa matriz de confusão.

Como podemos também observar na Figura 20, a curva de teste e treinamento (em azul) chega atingir 100% diversas vezes, onde o *dropout* (estratégia utilizada onde se corta parte da rede para evitar que a mesma sofra *overfit*) (30,59) da rede age e na validação vemos que fica em 95%. Esse resultado foi verificado utilizando o método *one leave out cross validation* (onde usa-se o conjunto todo para treinamento, deixando de fora apenas uma única amostra, a qual é utilizada para teste) e o tempo gasto para o processo de retreino da rede (adequar a rede *AlexNet* ao domínio de aplicação de imagens de espectroscopia) foi de apenas 36min, fazendo uso de processamento em GPU (NVIDIA GeForce GTX 1070 Ti).

Tabela 5 - Matriz de confusão obtida a partir da melhor execução do algoritmo AlexNet e métricas de sensibilidade e especificidade.

	Cancro	Greening	Verrugose	Zinco
Cancro	20	1	1	0
Greening	0	18	0	1
Verrugose	0	0	19	0
Zinco	0	1	0	19

	Cancro	Greening	Verrugose	Zinco
Sensibilidade	100%	90%	95%	95%
Especificidade	93%	97%	95%	95%

Fonte: Elaborada pelo autor.

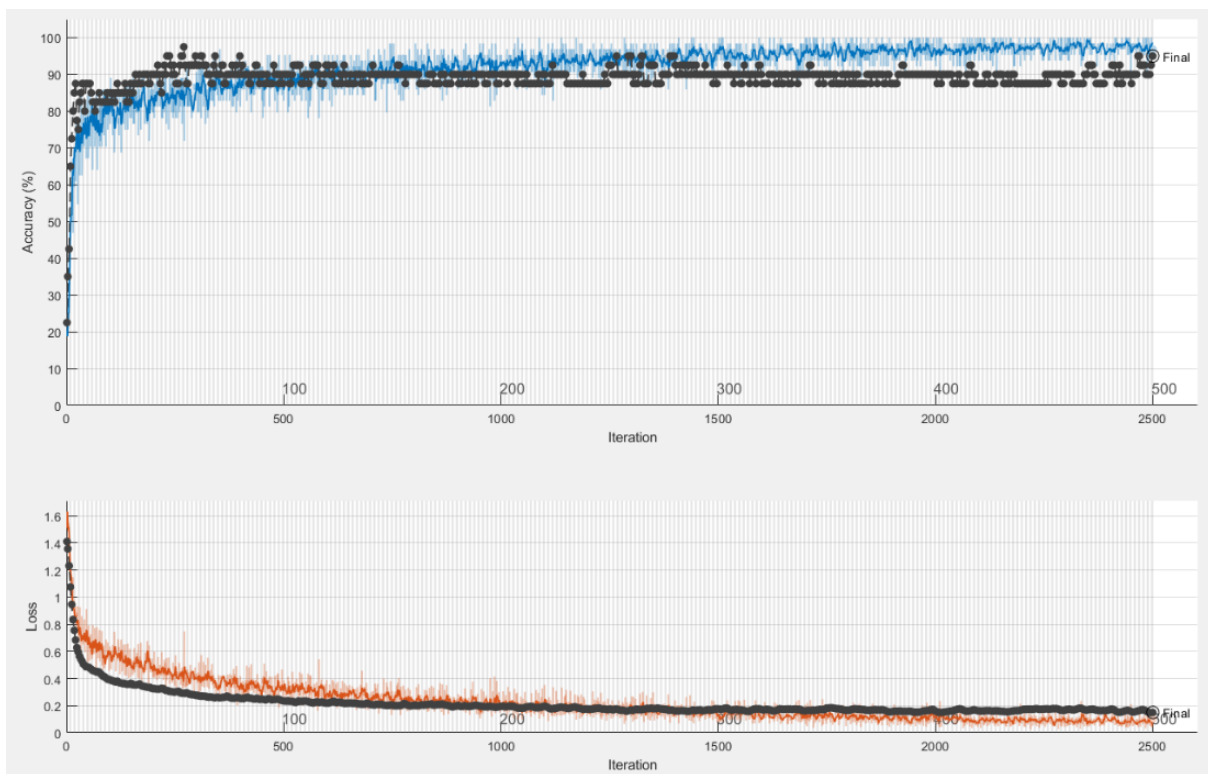


Figura 20 - Processo de treinamento por meio de transfer learning da AlexNet.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Na Figura 21 podemos ver um histograma do compilado dos melhores resultados obtidos pelos algoritmos, facilitando a comparação entre os mesmos. Claramente vê-se que o desempenho da rede convolucional foi muito acima dos outros, tendo também um tempo de treinamento aceitável. Ressaltando que foi feito o uso da transferência do aprendizado obtido na rede original do trabalho de Alex Krizhevsky e colaboradores. (34)

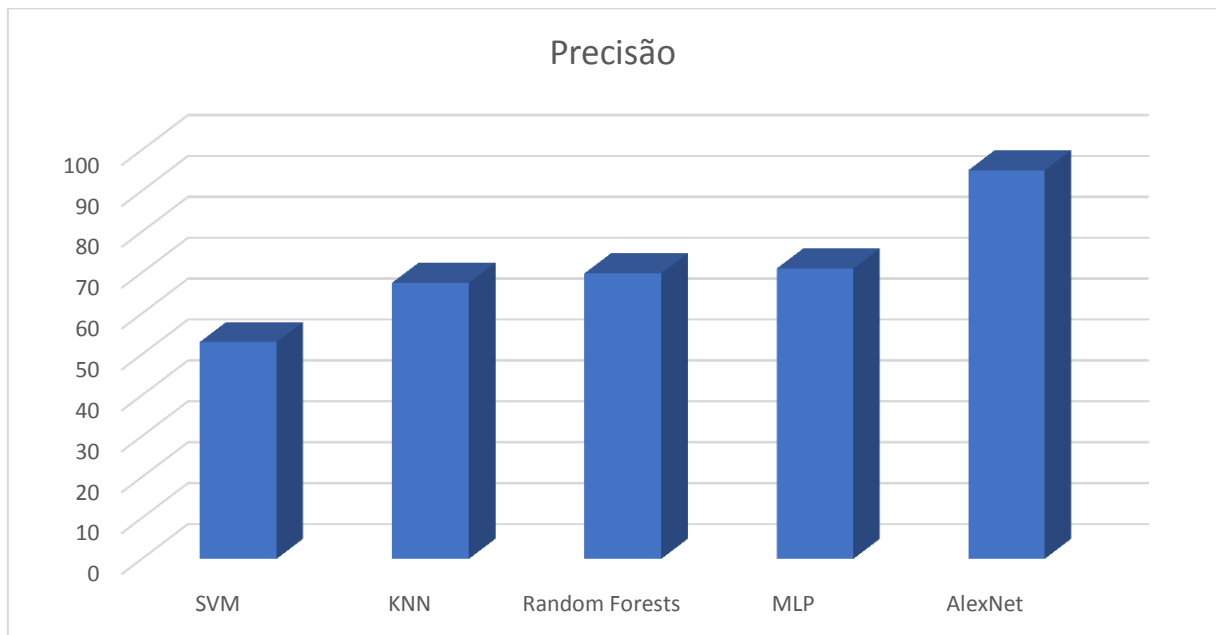


Figura 21 - Gráfico ilustrativo com o compilado dos melhores resultados obtidos a partir dos experimentos com todos os algoritmos.

Fonte: Elaborada pelo autor.

5 CONCLUSÃO

Os resultados alcançados com o trabalho se mostraram promissores para aplicações no campo e mostram que a contribuição esperada, de fornecer uma ferramenta de diagnóstico para o campo que dispensava a opinião prévia de um especialista, foi atingida. O acerto obtido pela *AlexNet* é suficientemente bom para ser adotado no campo para uso de pré diagnóstico, sempre enfatizando que o método desenvolvido neste trabalho não substitui o método laboratorial para a devida confirmação. Ademais, também há uma contribuição paralela realizada pelo trabalho, onde comparamos diversos tipos de algoritmos de aprendizagem de máquina e seus respectivos desempenhos aplicados a imagens de espectroscopia.

No que diz respeito ao KNN o resultado obtido estava dentro do esperado. Vale enfatizar que o KNN é um algoritmo simplista, porém é frequentemente utilizado como um algoritmo inicial, caso o mesmo surpreenda com seu desempenho na tarefa de classificação. Em relação às *Random Forests*, esperava-se resultados melhores, uma vez que ela é utilizada com sucesso em diversas áreas e se mostra na literatura como uma abordagem promissora para solução de problemas multiclases. (83–86)

Quanto ao SVM e às Redes Neurais (MLP), ambos foram utilizados por se tratar de técnicas nas quais o grupo já possui experiência e domínio sobre. Elas já haviam se mostrado eficientes para solução de problemas envolvendo imagens de espectroscopia. (9,16,19,39,87–89) Contudo, é sabido que o SVM é uma técnica que comumente não demonstra bom desempenho em classificações multiclases, uma vez que toda sua teoria e desenvolvimento é baseado em hiperplanos que dividem um espaço N-dimensional, em M partes, sendo M o número de classes. Conclui-se que quanto maior o M, mais complexo se torna o problema de encontrar hiperplanos que se adequem ao domínio em questão. (26,28)

Já as redes MLP possuem eficiência comprovada para problemas multiclases (22-23,55), então acreditava-se no bom resultado desse método. Contudo, nos testes realizados de forma exaustiva, não se obteve precisão aceitável para aplicação do diagnóstico no campo. Mesmo depois de diversos ajustes, a rede entrava num ciclo de “desaprendizagem” pelo excesso de neurônios e camadas e, a partir de um certo número voltava a aprender, contudo, claramente por meio de *overfitting* (estava decorando o conjunto e perdendo sua capacidade de generalização). Algumas abordagens de *dropout* poderiam ter sido adotadas ou de normalizações para evitar o *overfitting*, porém isso não foi realizado neste trabalho.

Em relação a rede *AlexNet*, a mesma demonstrou-se altamente capaz de solucionar o problema e nos auxiliar no diagnóstico de doenças de plantas. Seguindo seu histórico, a mesma mostrou-se capaz de realizar a distinção entre as doenças de uma dada imagem coletada por meio do uso do sistema de espectroscopia empregado neste trabalho. Essa rede, apesar de possuir alto custo computacional de construção e treinamento, mesmo quando utilizado o recurso de *transfer learning*, possui um desempenho muito satisfatório na classificação de uma imagem após o modelo ter sido gerado.

Logo, temos contribuições e dados adquiridos tanto para diversos algoritmos de classificação que abordam técnicas matemáticas e estruturais distintas, bem como na área de espectroscopia. Em particular, na área de espectroscopia, ajustes na excitação das amostras e nos filtros passa-banda selecionados nos permitem gerar imagens e assim estudar amostras de outras origens. Já em relação aos métodos computacionais, os mesmos podem ser utilizados para estudo e classificação de novas imagens, considerando que os métodos de força bruta para busca de parâmetros ótimos podem ser replicados e os algoritmos de aprendizagem de máquina são adaptáveis diferentes tipos de conjuntos de dados.

Apesar do intuito deste trabalho não ser substituir os métodos bioquímicos, os quais são considerados o estado da arte na análise e diagnóstico de doenças, o mesmo se provou bastante eficiente e nos fornece uma excelente ferramenta para pré análise. Por sua agilidade e baixo custo, torna-se uma excelente opção para o profissional do campo averiguar quais ações devem ser tomadas logo na aparição dos primeiros sintomas das doenças, ganhando tempo enquanto não se tem em mãos os resultados definitivos emitidos por um laboratório. A acurácia de 95% (± 5) é um resultado bastante significativo e de grande impacto no que diz respeito a se evitar medidas extremas ou mesmo tardias (no caso de medidas extremas serem de fato necessárias).

Também podemos concluir que este trabalho traz à luz novas possibilidades de estudo e aplicação no que diz respeito aos algoritmos de aprendizagem de máquina. Uma vez que imagens de espectroscopia são uma área do conhecimento bastante exploradas dentro de pesquisas na área de física, essas imagens também possuem padrões semelhantes a imagens obtidas por meios de outros métodos físicos como imagens de raio X (imagens geradas de forma simples ou por meio de tomógrafos) ou imagens de ressonância magnética nuclear. Nesse sentido, os métodos de aprendizado de máquina que utilizamos neste trabalho e a forma que eles foram aplicados poderiam ser estendidos para imagens geradas a partir de outras técnicas físicas.

Essas semelhanças abrem uma gama de aplicação das técnicas estudadas aqui para outros tipos de análises nas mais diversas áreas além da citricultura, como análises clínicas, análises mecânicas, análises laboratoriais, dentre outras. Principalmente no que diz respeito às redes neurais convolucionais, que hoje são o estado da arte dos algoritmos de aprendizagem de máquina, junto ao que é chamado de algoritmo baseado em *reinforced learning* (90), vêm-se desenvolvendo e investindo recursos dos mais diversos ramos de interesse.

Por fim, também vimos que os algoritmos podem ser aplicados a dados estruturados (no que diz respeito aos *datasets* compostos pelas características de textura extraídas das imagens) e não estruturados (as imagens propriamente ditas). Isso nos mostra que este estudo traz insumos e motivação para diversas outras aplicações que não apenas imagens de espectroscopia, independentemente do tipo, mas também para análise de dados laboratoriais e sensoriais das mais diversas frentes. O Grupo de Banco de Dados e Imagens do Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação, entre outros, é um exemplo de pesquisadores que desenvolvem os trabalhos fazendo uso de algoritmos de aprendizados de máquina, mostrando diversas aplicações de métodos como os deste trabalho.

Para trabalhos futuros, temos a aplicação destes algoritmos para diagnóstico da presença de agrotóxicos em plantas, detecção de níveis de açúcar em uvas, existência de coliformes fecais em morangos e níveis de nutrição de plantas. Iniciando novamente pela realização de estudos similares aos realizados no início deste trabalho, para primeiro selecionar os comprimentos de onda que possuem maior relevância e trazem maior volume de informação para a geração das imagens de fluorescência e após isso seguindo novamente para o estudo das técnicas computacionais.

REFERÊNCIAS

- 1 SILVA, E. *Agronegócio brasileiro terá ano excepcional em 2020, diz economista* - Disponível em: <https://revistagloborural.globo.com/Noticias/Economia/noticia/2019/12/agronegocio-brasileiro-tera-ano-excepcional-em-2020-diz-economista.html>. Acesso em: 22 fev. 2020.
- 2 UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. *Citrus: world markets and trade*. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/citrus.pdf>. Acesso em 24 fev. 2020.
- 3 GRACA, J. V. Citrus greening disease. *Annual Review Phytopathology*, v. 29, n. 1, p. 109–136, 1991. DOI: 10.1146/annurev.py.29.090191.000545.
- 4 BATOOL, A. *et al.* Citrus greening disease – a major cause of citrus decline in the world: a review. *Horticultural Science*, v. 34, n. 4, p. 159–166, 2007.
- 5 POLEK, M. *Citrus bacterial canker disease and Huanglongbing (Citrus Greening)*. 2007. Disponível em: <https://anrcatalog.ucanr.edu/pdf/8218.pdf>. Acesso em: 23 jan. 2020.
- 6 DAS, A. K. Citrus canker - a review. *Journal of Applied Horticulture*, v. 5, n. 1, p. 52–60, 2003.
- 7 THORNE, W. Zinc deficiency and its control. *Advances in Agronomy*, v. 9, p. :31–65, 1957. DOI: 10.1016/S0065-2113(08)60108-X.
- 8 AGOSTINI, J. P. *et al.* Influence of environmental factors on severity of citrus scab and melanose. *Plant Disease*, v. 87, n. 9, p. 1102–1106, 2003. DOI: 10.1094/PDIS.2003.87.9.1102.
- 9 SANKARAN, S. *et al.* A review of advanced techniques for detecting plant diseases. *Computers and Electronics in Agriculture*, v. 72, n. 1, p. 1–13, 2010.
- 10 GOLMOHAMMADI, M. *et al.* Diagnosis of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*, causal agent of citrus canker, in commercial fruits by isolation and PCR-based methods. *Journal of Applied Microbiology*, v. 103, n. 6, p. 2309–2315, 2007.
- 11 VERBI PEREIRA, F.M. *et al.* Fluorescence images combined to statistic test for fingerprinting of citrus plants after bacterial infection. *Analytical Methods*, v. 3, n. 3, p. 552–556, 1996. DOI: 10.1039/C0AY00538J.
12. CLOUTIS, E.A. Review article hyperspectral geological remote sensing: evaluation of analytical techniques. *International Journal Remote Sensing*, v.17,n.12,p.2215–42,1996. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/01431169608948770>. Acesso em:
- 13 HUANG, Y.L. Computer-aided diagnosis using neural networks and support vector machines for breast ultrasonography. *Journal of Medical Ultrasound*, v.17, n.1,p.17–24,2009. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0929-6441\(09\)60011-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0929-6441(09)60011-4)

14 LINS, E.C.; BELASQUE, J.; MARCASSA, L.G. Optical fiber laser induced fluorescence spectroscopy as a citrus canker diagnostic. *Applied Optics*, v.49, n.4, p. 663–7, 2010.

15 CARDINALI, M. C. B. *Diagnóstico de Huanglongbing (HLB) em citros utilizando técnicas fotônicas*. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

16 POURREZA, A.; LEE, W.S.; EHSANI, R.; SCHUELLER, J.K.; RAVEH, E. An optimum method for real-time in-field detection of Huanglongbing disease using a vision sensor. *Computers Electronics in Agriculture*, v.110, p.221–32, 2015.

17 WETTERICH, C. B. *Imagem de fluorescência aplicada em doenças de citros*. 2016. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2016.

18 BOLHAR-NORDENKAMPF, S. P.; BAKER, N. R.; OQUIST, G.; SCHREIBER, U.; LECHNER, E. G.. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. *Functional Ecology*, v.3, n.4, p.491–514, 1989.

19 LINS, E.; BELASQUE JUNIOR, J.; MARCASSA, L.G. Detection of citrus canker in citrus plants using laser induced fluorescence spectroscopy. *Precision Agriculture*, v.10, n.4, p.319–30, 2009. DOI: 10.1007/s11119-009-9124-2.

20 WETTERICH, B. C.; NEVES, R.F.; BELASQUE, J.; MARCASSA, L.G. Detection of citrus canker and huanglongbing using fluorescence imaging spectroscopy (fis) technique and support vector machine technique and neural network. In: WETTERICH, B. C. *et al. Frontiers in optics*. Washington, D.C.: OSA Technical Digest; 2015. Disponível em: <https://www.osapublishing.org/abstract.cfm?URI=FiO-2015-FW5E.4>. Acesso em: 23 jan. 2019.

21 CAMPS-VALLS, G.; BRUZZONE, L. Kernel-based methods for hyperspectral image classification. *IEEE Transactions on Geoscience Remote Sensing*, v.43, n.6, p.1351–62, 2005.

22 ZHANG, G.; PATUWO, B.E.; HU, M.Y. Forecasting with artificial neural networks: the state of the art. *International Journal Forecast*, v.14, n.1, p.35–62, 1998.

23 CHRISTOPHER, M. B. *Neural networks for pattern recognition*. Oxford: Oxford University Press, 1995. 482 p.

24 MIZUSHIMA, A.; LU, R. An image segmentation method for apple sorting and grading using support vector machine and Otsu's method. *Computers Electronics in Agriculture*, v.94, p.29–37, 2013. Disponível em: <file://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168169913000483>

25 MISHRA, A.R.; KARIMI, D.; EHSANI, R.; LEE, W.S. Identification of citrus greening (hlb) using a vis-nir spectroscopy technique. *Transactions ASABE*, v.55, n.2, p.711–20, 2012.

26 BURGESS, C.J.C. A tutorial on support vector machines for pattern recognition. *Data Mining Knowledge Discovery*, v.2, n.2, p.121–67, 1998.

27 SAHOO S, RUSSO TA, ELLIOTT J, FOSTER I. Machine learning algorithms for modeling groundwater level changes in agricultural regions of the U.S. *Water Resources Research*, v.53, n.5, p.3878–95, 2017.

28 MELLO, R. F.; PONTI, M. A. Statistical learning theory. In: MELLO, R. F.; PONTI, M. A (ed.). *Machine learning*. Cham: Springer International Publishing, 2018. p. 75–128.

29 WETTERICH, C.B.; NEVES, R. F. de O.; BELASQUE, J.; MARCASSA, L.G. Detection of citrus canker and Huanglongbing using fluorescence imaging spectroscopy and support vector machine technique. *Applied Optics*, v.55, n.2, p.400–407, 2016.

30 SLADOJEVIC, S. *et al.* Deep neural networks based recognition of plant diseases by leaf image classification. *Computational Intelligence and Neuroscience*, v.2016, n.3287801, p.1–11, 2016. DOI: 10.1155/2016/3289801.

31 CIREGAN, D.; MEIER, U.; SCHMIDHUBER, J. Multi-column deep neural networks for image classification. In: IEEE COMPUTER SOCIETY CONFERENCE ON COMPUTER VISION AND PATTERN RECOGNITION, 2012, Providence. *Proceedings* [...]. Providence: IEEE, 2012. p. 3642–3649.

32 MATSUGU, M.; MORI, K.; MITARI, Y.; KANEDA, Y. Subject independent facial expression recognition with robust face detection using a convolutional neural network. *Neural Networks*, v.16, n.5–6, p.555–559, 2003.

33 GONZALEZ, T.F. *Handbook of approximation algorithms and metaheuristics*. Boca Raton: Chapman & Hall/CRC, 2007. p.1–1432.

34 KRIZHEVSKY, A.; SUTSKEVER, I.; HINTON, G.E. Imagenet classification with deep convolutional neural networks. Disponível em: <http://code.google.com/p/cuda-convnet/>. Acesso em: 08 dez.2020.

35 LI, X.H.; LEE, W.S.; LI, M.Z'; EHSANI, R.; MISHRA, A.R.; YANG, C.H. Spectral difference analysis and airborne imaging classification for citrus greening infected trees. *Computers and Electronics Agriculture*, v. 83, p. 32–46, 2012.

36 MELGANI, F.; BRUZZONE L. Classification of hyperspectral remote sensing images with support vector machines. *IEEE Transactions Geoscience Remote Sensing*, v.42, n.8, p.1778–90, 2004.

37 LEE, W.S.; EHSANI, R. Sensing systems for precision agriculture in Florida. *Computers Electronics in Agriculture*, v.5, n.112, p.2–9, 2015.

38 POURREZA, A.; LEE, W.S.; ETXEBERRIA, E.; BANERJEE, A. An evaluation of a vision-based sensor performance in Huanglongbing disease identification. *Biosystems Engineering*, v.130, p.13–22, 2015. DOI: 10.1016/j.biosystemseng.2014.11.013

39 LEE, W.S.; ALCHANATIS, V.; YANG, C.; HIRAFUJI, M.; MOSHOU, D.; LI, C. Sensing technologies for precision specialty crop production. *Computer Electronics in Agriculture*, v.74, n.1, p.2–33, 2010.

- 40 HERRE, W. Ralph S. Becker: theory and interpretation of fluorescence and phosphorescence. *Berichte der Bunsengesellschaft für Physikalische Chemie*, v. 74, n. 3, p. 310, 1970.
- 41 LENK S. *et al.* Multispectral fluorescence and reflectance imaging at the leaf level and its possible applications. *Journal of Experimental Botany*, v. 58, n. 4, p. 807–814, 2007.
- 42 CHAERLE, L.; LENK, S.; HAGENBEEK, D.; BUSCHMANN, C.; VAN DER STRAETEN, D. Multicolor fluorescence imaging for early detection of the hypersensitive reaction to tobacco mosaic virus. *Journal of Plant Physiology*, v. 164, n. 3, p. 253–262, 2007.
- 43 BUSCHMANN, C. Variability and application of the chlorophyll fluorescence emission ratio red/far-red of leaves. *Photosynthesis Research*, v. 92, n. 2, p. 261–271, 2007. DOI: 10.1007/s11120-007-9187-8
- 44 CEROVIC, Z. G.; SAMSON, G.; MORALES, F.; TREMBLAY, N.; MOYA, I. Ultraviolet-induced fluorescence for plant monitoring: present state and prospects. *Agronomie*, v. 19, n. 7, p. 36, 1999.
- 45 STREIT, N. M.; CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L.H.H. As clorofilas. *Ciência Rural*, v. 35, n. 3, p. 748–755, 2005.
- 46 VIEIRA, E. L. *et al.* *Manual de fisiologia vegetal*. São Luis: EDUFMA; 2010.
- 47 DAVID, W. L. *Photosynthesis*. 3rd ed. New York: BIOS Scientific Publishers; 2001.
- 48 CASAROLI, D. *et al.* Radiação solar e aspectos fisiológicos na cultura de soja - uma revisão. *Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia*, v. 14, n. 2, p. 102–120, 2007.
- 49 CEROVIC, Z. G.; SAMSON, G.; MORALES, F.; TREMBLAY, N.; MOYA, I. Ultraviolet-induced fluorescence for plant monitoring: present state and prospects. *Agronomie*, v. 19, n. 7, p. 543–578, 1999.
- 50 LINS, E. C. C. *Espectroscopia da fluorescência na citricultura*. 2009. 116 p. Tese. (Doutorado em Ciências) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.
- 51 WITTEN, I. H.; FRANK, E. Data mining: practical machine learning tools and techniques with java implementations. *ACM SIGMOD Record*, v. 31, n. 1, p. 76–77, 2002. DOI: 10.1145/507338.507355.
- 52 HASTIE, T.; TIBSHIRANI, R.; FRIEDMAN, J. *Linear methods for classification*. 2009. Disponível em: <http://www.biostat.jhsph.edu/~hcorrada/PracticalML/pdf/lectures/classification.pdf>. Acesso em: 23 jan. 2020.
- 53 HSU, C. W.; CHANG, C. C.; LIN, C. J. A practical guide to support vector classification. 2003. Disponível em: <http://www.csie.ntu.edu.tw/~cjlin/papers/guide/guide.pdf>. Acesso em:
- 54 GOMES AL V. *et al.* Classification of Dengue fever patients based on gene expression

data using support vector machines. *PLoS ONE*, v. 5, n. 6, p. 7, 2010.

55 GARDNER, M. W.; DORLING, S. R. Artificial neural networks (the multilayer perceptron)—a review of applications in the atmospheric sciences. *Atmospheric Environment*, v. 32, n. 14–15, p. 2627–2636, 1998.

56 JAIN, A. K.; JIANCHANG, M.; MOHIUDDIN, K. M. Artificial neural networks: a tutorial. *Computer*, v. 29, n. 3, p. 31–44, 1996.

57 KRIZHEVSKY, A.; SUTSKEVER, I.; HINTON, G. E. ImageNet classification with deep convolutional neural networks. *Communications of the ACM*, v. 60, n. 6, p. 84–90, 2017. DOI: 10.1145/3065386

58 SCHUMAN, C. D.; BIRDWELL, J. D. Dynamic artificial neural networks with affective systems. *PLoS ONE*, v. 8, n. 11, p. e80455, 2013. DOI: 10.1371/journal.pone.0080455.

59 SCHMIDHUBER, J. Deep learning in neural networks: an overview. *Neural Networks*, v. 61, p. 85–117, 2015. DOI: 10.1016/j.neunet.2014.09.003.

60 PYDIPATI, R.; BURKS, T. F.; LEE, W. S. Statistical and neural network classifiers for citrus disease detection using machine vision. *Transactions of the ASABE*, v. 48, n. 5, p. 2007–2014, 2005.

61 HE, K.; ZHANG, X.; REN, S.; SUN, J. Deep residual learning for image recognition. In: CONFERENCE ON COMPUTER VISION AND PATTERN RECOGNITION, 2016, Las Vegas. *Proceedings [...]*. Las Vegas: IEEE, 2016. p. 770–778.

62 CHENG, J-Z. *et al.* Computer-aided diagnosis with deep learning architecture: applications to breast lesions in US images and pulmonary nodules in CT Scans. *Scientific Reports*, v. 6, p. 24454, 2016. DOI: 10.1038/srep24454.

63 TRI, N. C. *et al.* A novel approach based on deep learning techniques and UAVs to yield assessment of paddy fields. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON KNOWLEDGE AND SYSTEMS ENGINEERING (KSE), 9, 2017, Hue, Vietnam. *Proceedings [...]*. Hue, Vietnam: IEEE; 2017. p. 257–262.

64 SHIN, H. C. *et al.* Deep convolutional neural networks for computer-aided detection: CNN architectures, dataset characteristics and transfer learning. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, v. 35, n. 5, p. 1285–1298, 2016.

65 YANG, C.; LEE, W. S.; GADER, P. Hyperspectral band selection for detecting different blueberry fruit maturity stages. *Computers and Electronics in Agriculture*, v. 109, p. 23–31, 2014. DOI: 10.1016/j.compag.2014.08.009.

66 LIQUID crystal tunable filter: user manual Disponível em:

http://www.meadowlark.com/store/D4020_Users_manual_1.03.pdf. Acesso em: 23 jan. 2020.

67 WETTERICH, C. B. *Uso de imagens de fluorescência para monitoramento da evolução do cancro cítrico*. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2012.

- 68 LI, W.; HARTUNG, J. S.; LEVY, L. Quantitative real-time PCR for detection and identification of *Candidatus Liberibacter* species associated with citrus huanglongbing. *Journal of Microbiological Methods*, v. 66, n. 1, p. 104–115, 2006.
- 69 HYUN, J. W. *et al.* Development of PCR Assays for the identification of species and pathotypes of *Elsinoë* causing scab on citrus. *Plant Disease*, v. 91, n. 7, p. 865–870, 2007. DOI: 10.1094/PDIS-91-7-0865
- 70 HUNG, T. H.; HUNG, S. C.; CHEN, C. N.; HSU, M.H.; SU, H. J. Detection by PCR of *Candidatus Liberibacter asiaticus*, the bacterium causing citrus huanglongbing in vector psyllids: application to the study of vector–pathogen relationships. *Plant Pathology*, v. 53, n. 1, p. 96–102, 2004. DOI: 10.1111/j.1365-3059.2004.00948.x.
- 71 CUBERO, J.; GRAHAM, J.H.; GOTTWALD, T. R. Quantitative PCR method for diagnosis of citrus bacterial canker. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 67, n. 6, p. 2849–2852, 2001.
- 72 MAVRODIEVA, V.; LEVY, L.; GABRIEL, D. W. Improved sampling methods for real-time polymerase chain reaction diagnosis of citrus canker from field samples. *Phytopathology*, v. 94, n. 1, p. 61–68, 2004.
- 73 ELEYAN, A.; DEMIREL, H. Co-occurrence matrix and its statistical features as a new approach for face recognition. *Turkish Journal of Electrical Engineering & Computer Sciences*, v. 19, n. 1, p. 97–107, 2011.
- 74 HARALICK, R. M.; SHANMUGAM, K.; DINSTEN, I. Textural features for image classification. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*, v. 3, n. 6, p. 12, 1973.
- 75 HARALICK, R. M. Statistical and structural approaches to texture. *Proceedings of the IEEE*, v. 67, n. 5, p. 786–804, 1979.
- 76 LOKSHTANOV, D.; PATURI, R.; TAMAKI, S.; WILLIAMS, R.; YU, H. *Beating brute force for systems of polynomial equations over finite fields*. 2017 Disponível em: <https://people.csail.mit.edu/rrw/polyEqSoda2017Submit.pdf>. Acesso em: 30 abr. 2019.
- 77 MORTON, A.B.; MAREELS, I.M.Y. An efficient brute-force solution to the network reconfiguration problem. *IEEE Transactions on Power Delivery*, v. 15, n. 3, p. 996–1000, 2000.
- 78 MAIMON, O.; ROKACH, L. *Data mining and knowledge discovery handbook*. Cham: Springer; 2010.
- 79 SONG, S.; ZHAN, Z.; LONG, Z.; ZHANG, J.; YAO, L. Comparative study of SVM methods combined with voxel selection for object classification on fMRI data. *PLoS ONE*, v. 6, n. 2, p. 11, 2011.
- 80 WETTERICH, C. B.; NEVES, R. F. O.; BELASQUE, J.; EHSANI, R.; MARCASSA, L. G. Detection of Huanglongbing in Florida using fluorescence imaging spectroscopy and machine-learning methods. *Applied Optics*, v. 56, n. 1, p. 15, 2017.

- 81 ZHANG, H.; BERG, A. C.; MAIRE, M.; MALIK, J. SVM-KNN: discriminative nearest neighbor classification for visual category recognition. *In: COMPUTER SOCIETY CONFERENCE ON COMPUTER VISION AND PATTERN RECOGNITION*, 2006, New York. *Proceedings* [...] New York: IEEE, 2006. p. 2129–2136.
- 82 ZHANG, M. L.; ZHOU, Z. H. ML-KNN: a lazy learning approach to multi-label learning. *Pattern Recognition*, v. 40, n. 7, p. 2038–2048, 2007.
- 83 AMIT, Y.; GEMAN, D. Shape quantization and recognition with randomized trees. *Neural Computation*, v. 9, n. 7, p. 1545–1588, 1997.
- 84 BIAU, G. Analysis of a Random Forests model. *Journal of Machine Learning Research*, v. 13, p. 1063, 2012. Disponível em: <https://www.jmlr.org/papers/volume13/biau12a/biau12a.pdf>. Acesso em: 30 abr. 2019.
- 85 GENUER, R.; POGGI, J-M.; TULEAU, C. *Random Forests: some methodological insights*. 2008. Disponível em: <https://arxiv.org/pdf/0811.3619.pdf>. Acesso em: 23 jan. 2020.
- 86 GISLASON, P. O.; BENEDIKTSSON, J.A.; SVEINSSON, J. R. Random Forests for land cover classification. *Pattern Recognition Letters*, v. 27, n. 4, p. 294–300, 2006.
- 87 MARCASSA, L. G.; GASPAROTO, M. C.G.; BELASQUE JUNIOR, J.; LINS, E.C.; DIAS NUNES, F.; BAGNATO, V. S. Fluorescence spectroscopy applied to orange trees. *Laser Physics*, v. 16, n. 5, p. 884–888, 2016. DOI: 10.1134/S1054660X06050215
- 88 YANG, C.; LEE, W.S.; WILLIAMSON, J.G. Classification of blueberry fruit and leaves based on spectral signatures. *Biosystems Engineering*, v. 113, n. 4, p. 351–62, 2012.
- 89 WETTERICH, C. B.; NEVES, R. F. O.; BELASQUE, J.; MARCASSA, L. G. Detection of citrus canker and Huanglongbing using fluorescence imaging spectroscopy and support vector machine technique. *Applied Optics*, v. 55 n. 2, p. 400–407, 2016.
- 90 BAKER, B.; GUPTA, O.; NAIK, N.; RASKAR, R. Designing neural network architectures using reinforcement learning. *In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON LEARNING REPRESENTATIONS*, 5., 2017, Toulon. *Proceedings* [...] Toulon: ICLR, 2017.