

# Plataforma para el análisis automático de raíces en plantas

## Platform for the automatic analysis of roots in plants

Salvador Antonio Arroyo Díaz , Obed Cortés Aburto , Rafael Rojas Rodríguez, Araceli Ortiz Carranco , Sara Úrsula Peláez Villareal.

Ingeniería mecatrónica, Universidad Politécnica de Puebla. Tercer Carril del Ejido "Serrano" s/n San Mateo Cuanalá. Juan C. Bonilla, Puebla, Pue. Teléfonos: 01 (222) 7 74 66 40 C.P. 72640

\* Correo-e: salvador.arroyo@uppuebla.edu.mx

### PALABRAS CLAVE: RESUMEN

Clasificación, raíz de planta, plataforma, procesamiento automático, características.

El objetivo de este artículo es mostrar el funcionamiento de una plataforma con elementos hardware y software que permite el análisis automático de las características de las raíces en plantas. El análisis se realiza empleando procesamiento de imágenes, esta técnica no es invasiva ni destructiva. Con el sistema hardware es posible adquirir imágenes de la raíz, del tallo y de las hojas de la planta. La plataforma permite adquirir imágenes de Webcam, de dispositivos Android o IOS y de dispositivos remotos denominados cámaras IP. Las imágenes pueden tener prácticamente cualquier resolución ya que el procesamiento antes de realizar el procesamiento estima las dimensiones de objetos conocidos para inferir el tamaño de los objetos. El sistema ayuda al momento de evaluar el resultado de emplear diferentes alimentos en las plantas y seguir su crecimiento. La adquisición es capaz de procesar la imagen de forma automática lo que permite estudiar diferentes fenotipos de la planta, este estudio abre la posibilidad de clasificar diferentes rasgos de un tipo de planta mediante una técnica no destructiva, de bajo costo, automática y programable para analizar a la planta por día, hora, minuto o múltiples imágenes; ya que el sistema es capaz de obtener hasta 19 fotogramas por segundo; que si bien no es catalogado como tiempo real, la velocidad de adquisición supera a otros sistemas. El sistema determina diferentes fenotipos de la raíz, entre los que se destaca el tamaño de la raíz primaria, de la raíz secundaria, el volumen de la raíz el área y los desplazamientos entre imágenes. El tiempo de procesamiento depende de la resolución de las imágenes y del número de fenotipos a determinar, por lo que el procesamiento de realiza fuera de línea, pero esto permite que los cálculos se realicen en máquinas virtuales.

### KEYWORDS:

### ABSTRACT

Classification, plant root, platform, automatic processing, feature extraction.

The objective of this article is to show the operation of a platform with hardware and software elements that allows the automatic analysis of the characteristics of the roots in plants. The analysis is carried out using image processing, this technique is not invasive or destructive. With the hardware system it is possible to acquire images of the plant's root, stem and leaves. The platform allows acquiring images from Webcam, Android or IOS devices and remote devices called IP cameras. Images can be of virtually any resolution since processing estimates the dimensions of known objects before rendering to infer the size of the objects. The system helps when evaluating the result of using different foods in the plants and following their growth. The acquisition is capable of processing the image automatically, which allows studying different phenotypes of the plant, this study opens the possibility of classifying different traits of a type of plant through a non-destructive, low-cost, automatic and programmable technique to analyze to the plant by day, hour, minute or multiple images; since the system is capable of obtaining up to 19 frames per second; that although it is not cataloged as real time, the acquisition speed exceeds other systems. The system determines different phenotypes of the root, among which the size of the primary root, the secondary root, the volume of the root, the area and the displacements between images stand out. The processing time depends on the resolution of the images and the number of phenotypes to be determined, so the processing is done offline, but this allows the calculations to be processing in virtual machines.

**Recibido:** 31 de agosto de 2020 • **Aceptado:** 03 de marzo de 2021 • **Publicado en línea:** 15 de febrero de 2022

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Para el caso de las plantas, la raíz se convierte en el órgano responsable de los mecanismos necesarios para la capacidad de absorción del agua [1]. Por lo que estaría completamente relacionado las características morfológicas, como el grado de desarrollo de la raíz con las capacidades de absorción, de ramificación, la capacidad de penetración en el subsuelo que permite obtener los cálculos para obtener de forma indirecta la tasa de absorción del agua, la afectación de la iluminación, de fotosíntesis y de respiración [2].

De acuerdo con [3] La densidad de las raíces en el perfil del suelo es indicador de resistencia y tolerancia a condiciones de sequía, permitiéndole a los cultivos expresar su potencial de producción de biomasa (MS) y granos [4].

Pese a ser un componente clave para el rendimiento y la calidad de las cosechas, muchas veces no se le presta la debida atención, manejo y cuidado. Estos órganos, así mismo son muy importantes para la sustentabilidad del huerto en el mediano y largo plazo en el caso de frutales leñosos, los que generalmente corresponden a cultivos de alto valor y requieren una importante inversión.

Las raíces cumplen un evidente rol como ancla y soporte mecánico del desarrollo aéreo y además la función crítica de absorber agua y nutrientes. Pero así mismo las raíces son relevantes en muchas especies permanentes como órganos de acumulación de nutrientes de reserva, las que le permitirán a la planta brotar a la siguiente temporada, en el caso de las especies que pierden las hojas, y suplir carencias en situaciones de estrés, como es, por ejemplo, producir una gran cantidad de fruta. Pero eso no es todo, ya que sus ápices también producen fitohormonas, por ejemplo, la hormona vegetal citoquinina, que son un grupo de hormonas vegetales (fitohormonas) que promueven la división y la diferenciación celular.

Existe una clara correlación entre el crecimiento del follaje y de las raíces en los frutales. La copa provee a la raíz de hidratos de carbono y nutrientes minerales en estado orgánico, vitaminas (Tiamina y Biotina) y fitohormonas, potenciando su desarrollo. La provisión de carbohidratos tiene un gran efecto en el desarrollo de la raíz, que es el órgano más débil en la competencia, en la que el fruto es el sumidero más fuerte [5]. En una planta

normal la raíz es al menos igual o de mayor tamaño que la copa. Cuando se altera esta relación en desmedro de la raíz, la sustentabilidad productiva se afecta en el largo plazo.

El desarrollo radicular, en tanto, incide en la productividad y sustentabilidad de los huertos y muchos de los problemas de los frutales se originan en limitaciones o daños en las raíces.

Más allá de su expresión genética determinada, el desarrollo de los sistemas radiculares está condicionado fundamentalmente por cuatro factores: temperatura, humedad, aireación y resistencia mecánica del suelo. Sin embargo, a estos cuatro factores principales se debe añadir las variables biológicas, fitosanitarias en el caso de plagas y enfermedades, pero también la actividad de los llamados microorganismos benéficos del suelo. Estos últimos cobran cada vez mayor importancia agronómica y están concentrando gran cantidad de investigación por su enorme potencial como herramientas de alta tecnología para impulsar el desarrollo sustentable de las raíces de los cultivos.

## 2. OBJETIVO DEL TRABAJO.

Así como el tamaño, de la hoja, o flor y el color de la planta, cuantificar la información de las características de la arquitectura del sistema radicular (ASR ó RSA) es fundamental para evaluar el fenotipo vegetal integro.

El objetivo de este proyecto es el desarrollo de una plataforma hardware que permita el estudio de la ASR de múltiples contenedores transparentes que contienen la planta que expone el tallo, parte de las hojas y la raíz.

Se propone realizar el análisis mediante procesamiento de imágenes, por lo que es necesario contar con un sistema de adquisición de imágenes, una interfaz gráfica de usuario o G.U.I, por sus siglas en ingles. Así también es necesario almacenar y consultar las características adquiridas ya sea por base de datos o por registros.

### 3. ANTECEDENTES O ESTADO DEL ARTE

En el caso de las plantas, la raíz es el órgano responsable no solo del mecanismo de absorción del agua, sino de la capacidad de absorción del agua por la planta [6].

Por tanto, el grado de desarrollo de la raíz y en general sus características morfológicas están relacionadas directamente con la capacidad de absorción del agua, otros parámetros de la raíz son su capacidad de ramificación, la capacidad de penetración que permiten a los estudiosos del tema determinar la tasa de absorción del agua, la afectación de la fotosíntesis, y respiración [7].

De acuerdo con [8] La densidad de las raíces en el perfil del suelo es indicador de resistencia y tolerancia a condiciones de sequía, permitiéndole a los cultivos expresar su potencial de producción de biomasa (MS) y granos [9].

Pese a ser un componente clave para el rendimiento y la calidad de las cosechas, muchas veces no se le presta la debida atención, manejo y cuidado. Estos órganos, así mismo son muy importantes para la sustentabilidad del huerto en el mediano y largo plazo en el caso de frutales leñosos, los que generalmente corresponden a cultivos de alto valor y requieren una importante inversión.

Las raíces cumplen un evidente rol como ancla y soporte mecánico del desarrollo aéreo y además la función crítica de absorber agua y nutrientes. Pero así mismo las raíces son relevantes en muchas especies permanentes como órganos de acumulación de nutrientes de reserva, las que le permitirán a la planta brotar a la siguiente temporada, en el caso de las especies que pierden las hojas, y suplir carencias en situaciones de estrés, como es, por ejemplo, producir una gran cantidad de fruta. Pero eso no es todo, ya que sus ápices también producen fitohormonas, por ejemplo, citoquinina, señal hormonal que sube a estimular el crecimiento de los órganos de la parte aérea de la planta [10].

Existe una clara correlación entre el crecimiento del follaje y de las raíces en los frutales. La copa provee a la raíz de hidratos de carbono y nutrientes minerales en estado orgánico, vitaminas (Tiamina y Biotina) y fitohormonas, potenciando su desarrollo. La provisión de carbohidratos tiene un gran efecto en el desarrollo de la raíz, que es el órgano más débil en la competencia, en la que el fruto es el sumidero más fuerte. En una planta

normal la raíz es al menos igual o de mayor tamaño que la copa. Cuando se altera esta relación en desmedro de la raíz, la sustentabilidad productiva se afecta en el largo plazo.

El desarrollo radicular, en tanto, incide en la productividad y sustentabilidad de los huertos y muchos de los problemas de los frutales se originan en limitaciones o daños en las raíces.

Más allá de su expresión genética determinada, el desarrollo de los sistemas radiculares está condicionado fundamentalmente por cuatro factores: temperatura, humedad, aireación y resistencia mecánica del suelo. Sin embargo, a estos cuatro factores principales se debe añadir las variables biológicas, fitosanitarias en el caso de plagas y enfermedades, pero también la actividad de los llamados microorganismos benéficos del suelo. Estos últimos cobran cada vez mayor importancia agronómica y están concentrando gran cantidad de investigación por su enorme potencial como herramientas de alta tecnología para impulsar el desarrollo sustentable de las raíces de los cultivos [11].

Los métodos tradicionales de observación de RSA, como la excavación o los núcleos de suelo lavado, destruyen la topología del sistema de raíces, pero en los últimos años se han utilizado varias técnicas más nuevas para obtener imágenes de los sistemas de raíces de forma no destructiva. A continuación, se presenta una comparación y análisis de los diferentes métodos de análisis de la raíz de las plantas.

#### 3.1 PRINCIPALES MÉTODOS DE MEDICIÓN

A continuación, se describen los principales métodos para la medición de raíces, lo que permitirá hacer una comparación y presentar los puntos fuertes y débiles de cada técnica, la que se aprovecha para que el sistema diseñado se pueda comparar y mostrar las prestaciones a favor que tiene respecto a los otros métodos.

DE ROO [11]. usó agujas para fijar las raíces en un corte realizado en el suelo, luego practicó un lavado e hizo un conteo de las mismas. HIDALGO y CANDELA [12] mediante excavaciones, usaron el método de las coordenadas, determinando la trayectoria de las raíces de plantas de vid así como su peso en tres dimensiones. La inyección a la Planta de sustancias radioactivas que se distribuyen con cierta uniformidad en el sistema radicular, y que pueden reflejar el volumen de raíces vivas en

la planta ha sido probado por varios investigadores [13, 14, 15]. con resultados promisorios.

AVILAN et al. [16], estudiando el sistema radical de diversos cultivos, citan las metodologías de "el monolito" y "la trinchera" descritas por KOLESNIKOV en 1971, y de "la trinchera en espiral" descrita por HUGUET en 1973. ROGERS [17], TAYLOR et al. [18], HILTON y KHATAMIAN [19], y FREEMAN y SMART [20] usaron el laboratorio de raíces o "rizotron", consistente en una cámara de observación con paredes de vidrio para determinar el crecimiento y proliferación de las raíces.

Por otra parte, VEIHMEYER y HENDRICKSON [21] LETEY y PETERS [22] y LONG y FRENCH [23] mostraron que la proliferación radicular puede inferirse por la forma en que el agua es absorbida del suelo. Un método muy usado consiste en obtener muestras de suelo a diferentes profundidades mediante el uso de barrenas o tubos con muestras para determinar el peso de raíces en un volumen conocido de suelo [19, 20, 22].

WILDE y VOIGHT [23] sumergían las raíces en una solución ácida que formaba sobre ellas una película de espesor conocido; posteriormente el ácido se recogía por lavado y su cantidad se determinada por titulación. De igual forma, CARLEY y WATSON [23] desarrollaron un método gravimétrico donde el peso de una solución de nitrato de calcio adherida al sistema radicular era usado para estimar el área superficial. MELHUIH y LANG pusieron en práctica un laborioso procedimiento para estimar el área superficial de la raíz en pequeños volúmenes de suelo mediante mediciones, en ampliaciones fotográficas, de los espacios vacíos dejados por las raíces después de secadas en estufa.

NEWMAN desarrolló un método para estimar la longitud de raíces en una muestra, basado en el principio que, a mayor longitud de raíces, mayor será el número de intercepciones que ocurrirán con líneas rectas trazadas sobre el mismo plano de la muestra. Esta metodología fue usada en forma efectiva por AMBLER y YOUNG para determinar la longitud total de raíces invadida por micorrizas en plantas del género *Festuca* sp. Por otra parte, WARD trabajando con trigo, mostraron que las raíces pueden ser teñidas con el colorante Rojo Congo, y las diferencias en coloración permiten distinguir entre raíces vivas y muertas [16].

Los trabajos de investigación que implican determinación de longitud de raíces, en lugar de peso de raíces, generalmente requieren mayor tiempo y esfuerzo por parte del investigador, debido a que el número de plantas que puede ser estudiado es relativamente bajo. Es aceptado, sin embargo, que la habilidad de las plantas para absorber agua y sales minerales del suelo está más estrechamente relacionada la longitud de las raíces que con el peso de las mismas (11, 6, 4). En este sentido, se ha utilizado el método que se basa en la determinación con la longitud total de raicillas en un volumen dada de suelo, lo cual se conoce como "densidad longitudinal de raíces" [15, 23, 22, 23].

Más tarde, Aboelela, Barron y Liptay utilizaron una cámara y una fuente de luz de infrarrojo cercano (nir), capturando imágenes cada dos minutos y obteniendo entre 50 a 150 para medir la relación de crecimiento tallo/ hojas en plántulas de maíz, para diferentes condiciones de temperatura e iluminación aplicando cálculos de flujo óptico. Sun et ál. (2007), en la Universidad Agrícola de China, investigaron la forma de medir el crecimiento de una plántula de tomate de manera no destructiva utilizando esta técnica; se analizó el área de las hojas tomando tres foto- graffias (de la misma planta) desde diferentes ángulos (cada 120°); las imágenes se convertían a escala de grises y se llevaban a forma binaria con el algoritmo Otsu. Algunos inconvenientes encontrados por los autores fueron la influencia de la sombra en las imágenes y la inclinación de las plántulas debido al fototropismo.

En el 2006 Kancheva y Borisova utilizaron esta técnica para estudiar diferentes especies agrícolas como el trigo, la cebada y la arveja en diversas condiciones de nutrientes, aplicando longitudes de onda en el rango de 400 a 820 nm, y analizando características del espectro de la planta como reflexión, absorción, transmisión y fluorescencia. Con estos datos determinaron índices de crecimiento como el área de las hojas, la biomasa y el contenido de clorofila.

En Alemania, Mühlich et ál. (2008) utilizaron esta técnica para medir el crecimiento de la raíz de una planta. El experimento consistió en colocar plántulas en un plato de Petri transparente de manera que se pudiera observar las raíces de cada una de ellas. En diferentes intervalos de tiempo, se tomaban imágenes de éstas para procesarlas y determinar el crecimiento utilizando un algoritmo desarrollado por los autores, el cual permite analizar tanto imágenes individuales como una

secuencia. Se obtiene un modelo de la raíz que fue contrastado con el método manual, observando que con esta técnica se disminuye la cantidad de datos necesaria para encontrar dicho modelo.

Es posible medir el crecimiento de la raíz dentro de la tierra utilizando radiografía de neutrones, lo que permite observar la distribución espacial y determinar la masa de la raíz por medio de análisis de imágenes de dicha radiografía, como lo describen Robinson et ál. (2008).

También Zeng et ál. (2008), en China, investigaron una forma para optimizar la medición del diámetro de las uvas aplicando esta técnica. Se utilizó una cámara CMOS (semiconductor complementario de óxido de metal) de alta resolución, lentes telecéntricos y un computador para capturar imágenes de una uva. Las imágenes se enviaban al computador por medio de la comunicación usb 2.0 y se procesaban utilizando el algoritmo “OSTU”. Los autores encontraron que el uso de lentes telecéntricos disminuye la influencia de la variación de la distancia del objeto y afirman que se puede aplicar en la medición de otros frutos de diferentes tamaños y variedades. Con este estudio, además, se pudieron detectar con precisión trastornos fisiológicos de la uva.

### 3.2 TÉCNICAS ACTUALMENTE UTILIZADAS

Esta técnica para medir el crecimiento de un sistema vegetal es indirecto y no destructivo, requiere de un software y un algoritmo especializado para disminuir los errores por la superposición de las hojas y las condiciones de iluminación.

Guo, Guo, Wang y Li (2009) aplicaron esta técnica para obtener un modelo de discriminación de hojas que fue evaluado con datos experimentales, y en 2010 Guo, et ál. usaron wavelets y redes neuronales para clasificar hojas de alcanfor y Aceraceae por medio de sus curvas espectrales.

Con esta breve revisión bibliográfica se logra conocer las características, ventajas y desventajas de las técnicas existentes, de manera que se pueda proponer un nuevo método para la medición de la velocidad de crecimiento de un sistema vegetal de fácil implementación, no destructivo, no invasivo. La destrucción de la muestra implica cortar una sección de la planta o eliminarla por completo, de tal manera que para la siguiente prueba se debe eliminar otra sección o toda la planta. Se presentan algunos criterios importantes para evaluar la técnica de medición. En la tabla 1 se muestran las

ventajas y desventajas de las técnicas existentes, de manera que se pueda proponer un nuevo método para la medición de la velocidad de crecimiento de un sistema vegetal de fácil implementación, no destructivo, no invasivo. La destrucción de la muestra implica cortar una sección de la planta o eliminarla por completo, de tal manera que para la siguiente prueba se debe eliminar otra sección o toda la planta. El término invasivo se refiere a que la técnica modifica el sistema vegetal debido a que se encuentra en contacto con éste. Se considera automático el método que toma la medida de crecimiento sin intervención del experimentador.

La implementación se ha considerado en tres niveles, fácil, medio y difícil, según los componentes tecnológicos y su distribución, el control necesario en el ambiente en el que se realiza la medición y el requerimiento de algoritmos de cómputo para el análisis de datos, y automatizado (Quintero, 2010) que pueda competir con los mencionados en este artículo.

**Tabla 1.** Comparación de diferentes técnicas de medición de raíces en plantas.

Técnica empleada	Tipo de medición	Tipo de Proceso	Tipo de Implementación	Número de características	Tiempo necesario para la medición
Manual de tipo: Elongación	No destructiva	Invasivo	Manual	5	1 día
Peso fresco	No destructiva	Invasivo	Manual	5	1 día
Peso Seco	Destructiva	Invasivo	Manual	5	1 día
Fluorescencia inducida por laser	No destructiva	No invasivo	Manual automático	1	minutos
Análisis digital de Imágenes	No destructiva	No invasivo	Automático	2	Segundos
Interferométrico	No destructiva	No invasivo	Automático	2	minutos
Emisión Acústica	No destructiva	No invasivo	Automático	2	minutos
Inductancia Eléctrica	No destructiva	Invasivo	Automático	1	minutos
Capacitancia eléctrica	No destructiva	Invasivo	Manual	5	1 día

Como se muestra en la tabla el uso de imágenes para la medición de características de la raíz es la que da mejores características; la problemática radica en adquirir imágenes con ciertos parámetros que permitan incrementar el número de características que se puede obtener de la raíz con esta técnica. A continuación, se describe el sistema diseñado para la obtención de la imagen, el procesamiento y las características adquiridas.

### 4. DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA DESARROLLADO

Para analizar una gran cantidad de imágenes raíz de una manera automatizada de alto rendimiento, se encuentran disponibles varias herramientas de software. Sin embargo, la mayoría de estas herramientas se diseñaron para extraer rasgos RSA

de sistemas de imágenes específicos, por ejemplo, imágenes de minirhizotron<sup>25</sup> e imágenes de raíces cultivadas en agar<sup>27</sup>. Además, se encuentran disponibles algunas herramientas generales para un análisis en profundidad de los sistemas radiculares de monocotiledóneas independientemente de la estructura de la raíz. Estas herramientas dependen de una entrada significativa del usuario para el procesamiento, aunque se pueden usar en un modo por lotes<sup>28,29,30,31</sup>. Además, algunas herramientas se pueden utilizar como complemento para plataformas de procesamiento de imágenes generales como Imagen para realizar tareas específicas para la segmentación manual de raíces en la imagen.

La mayoría del software para el análisis de imágenes de raíces está más bien adaptado a configuraciones artificiales como sustratos de cultivo transparentes que no se pueden aplicar al análisis de imágenes de raíces de suelo heterogéneas y ruidosas. Con la excepción del software para el análisis de imágenes de micro tomografía computarizada de rayos X ( $\mu$ CT)<sup>33</sup> y Root134, que aún requiere una amplia interacción humano-computadora (HMI) y es adecuado para imágenes de tomografía de rayos X en 3D. En trabajos publicados recientemente<sup>35,36,37</sup>, se presentaron enfoques novedosos de aprendizaje profundo y de máquina para la segmentación automatizada de imágenes de raíces cultivadas en el suelo. Sin embargo, los enfoques presentados se basan en la información del color y requieren una cantidad sustancial de datos de entrenamiento de verdad en el terreno, así como recursos computacionales sustanciales.

En este trabajo, presentamos una interfaz gráfica de usuario para el control de la plataforma y del procesamiento de imágenes de raíces que permite una rápida segmentación de diversas imágenes de raíces en 2D, incluida la tierra para macetas y las configuraciones de medios artificiales de una manera muy completa. Basado en una combinación de mejora de imagen adaptativa, umbral y filtrado ajustables, así como corrección manual opcional, se pretende emplear esta herramienta para el análisis cuantitativo de diversas modalidades de imagen de raíz, así como para la generación de imágenes de referencia de verdad del suelo de calidad para el entrenamiento de máquinas avanzadas. algoritmos de aprendizaje / aprendizaje profundo. El trabajo de software se encuentra totalmente desarrollado en lenguaje Python con el uso de librerías para procesamiento de imágenes y para aprendizaje automático.

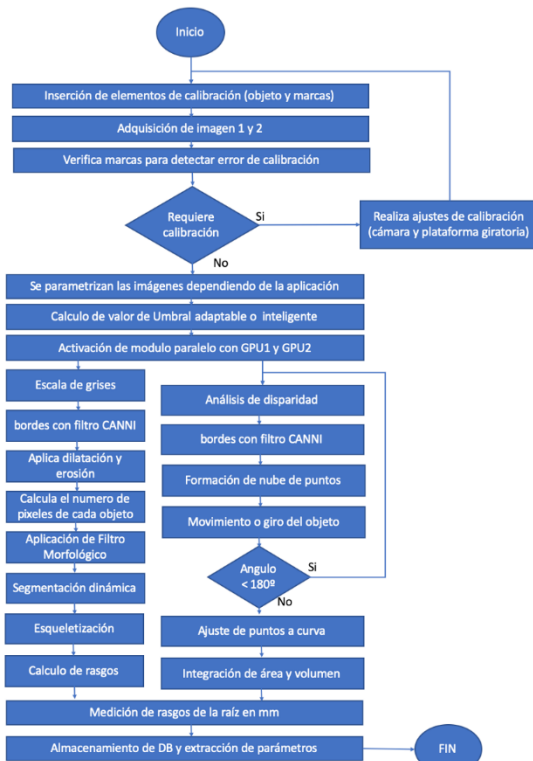
El objetivo principal del análisis de imágenes consiste en la segmentación de la arquitectura de la raíz y el cálculo de las características fenotípicas de la arquitectura de la raíz y la intensidad de la imagen (es decir, el color). En el caso de las imágenes en color, la imagen de entrada se convierte en una imagen en escala de grises utilizando la rutina `rgb2gray` de Python empleando la librería `OpenCV`. En general, como se muestra en la figura 1, el proceso de análisis de imágenes incluye los siguientes pasos:

#### **4.1 IMAGEN DE ENTRADA E IMAGEN DE SALIDA.**

La mayoría de los formatos de imagen estándar (como `*.jpg`, `*.png`, `*.bmp`, `*.tif`) se pueden importar para su posterior procesamiento y análisis. Se implementa una sola imagen paso a paso, así como el procesamiento automatizado de grandes conjuntos de datos de imágenes.

#### **4.2 PRE-PROCESAMIENTO DE IMÁGENES.**

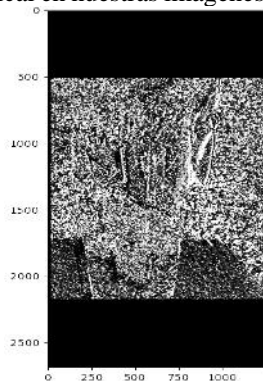
Dependiendo de la modalidad de obtención de imágenes (p. Ej., Imágenes de raíz de suelo o de raíz de agar) y la presencia de artefactos ruidosos o estructurales, los pasos de pre-procesamiento pueden incluir el recorte de la región de interés (ROI), la inversión de la intensidad de la imagen, el desplumado y el suavizado. En el caso de imágenes de agar y raíces lavadas, la inversión de la intensidad de la imagen debe realizarse antes del análisis de la imagen. De lo contrario, el procedimiento de análisis de imágenes de agar y raíces lavadas es similar a las imágenes de suelo y raíces.



**Figura 1.** Diagrama a bloques de las etapas de pre-procesamiento y procesamiento de la imagen para obtener las características de la raíz de la planta.

### 4.3 UMBRAL DE IMAGEN ADAPTABLE.

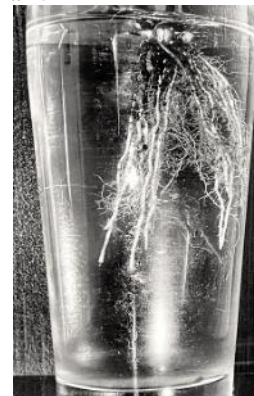
Este es uno de los pasos más delicados del pre-procesamiento de la imagen que la imagen es segmentada en un primer plano (raíces) y un fondo utilizando un umbral adaptativo basado en la media ponderada de Gauss como sugiere [39]. Esta técnica tolera la falta de homogeneidad global de la intensidad de la imagen, como el gradiente de imagen vertical en nuestras imágenes de suelo-raíz.



**Figura 3b.** Se muestra un ejemplo de un umbral adaptativo.

### 4.4 FILTRADO MORFOLÓGICO.

Para eliminar el ruido blanco y las pequeñas estructuras que no se asemejan a manchas radicales (como arena, grava o artefacto de condensación de agua en la Fig. 1) se aplica un filtrado morfológico. Por lo tanto, se considera que las raíces son estructuras alargadas en forma de línea / curva que difieren de este tipo de manchas que no son raíces con respecto a su área, longitud y forma (es decir, excentricidad). En el caso de que la región de la raíz represente una única estructura conectada, el filtrado se puede realizar simplemente aplicando umbrales de intensidad y área. Si las raíces están representadas por estructuras desconectadas, la diferenciación de la raíz de las estructuras que no son raíces se realiza utilizando descriptores de forma adicionales como la longitud y la excentricidad, es decir, un descriptor de la elongación “Eigenellipse” del objeto, que es cero para un absolutamente redondo y 1 para una línea. objeto. Mediante la configuración adecuada de los umbrales para estos tres parámetros, se eliminan las estructuras de manchas no raíz.



**Figura 2c.** Muestra un ejemplo de filtrado morfológico de una imagen de raíz segmentada preliminar.

### 4.5 ESQUELETIZACIÓN.

El esqueleto de la raíz se calcula sobre la base de la imagen segmentada y filtrada. Además de los pasos de filtrado descritos anteriormente, se aplica un adelgazamiento o erosión adicional de la imagen binaria para suprimir el ruido de alta frecuencia. La imagen ejemplar para la extracción del esqueleto se muestra en la Fig. 2d.

#### 4.6 CÁLCULO DE LA CARACTERÍSTICA RAÍZ.

La transformación de distancia de la imagen binaria limpia se calcula para la evaluación del ancho (o diámetro) de la raíz local medido en píxeles del esqueleto de la raíz. Otras características de la raíz incluyen la longitud de la raíz, los ángulos de la raíz con respecto a un eje vertical, la ramificación y los puntos finales del esqueleto de la raíz, la intensidad de los píxeles de la raíz y sus descriptores estadísticos estándar (es decir, valores medios, stdev). Es importante mencionar que se debe tener en cuenta que todos los rasgos se extraen mediante el cálculo de píxeles, independientemente de una serie de sistemas de raíces en la imagen. Además, los rasgos RSA también se pueden escribir en mm. Para ello, el usuario debe establecer el factor de conversión de píxel a mm en la GUI La solución la implementamos mediante el ardid de derivar el factor de píxel a mm midiendo una línea de referencia (barra de color blanco) en las imágenes como se muestra en la Figura 2. El factor de conversión de píxel a mm (CF) se define como:

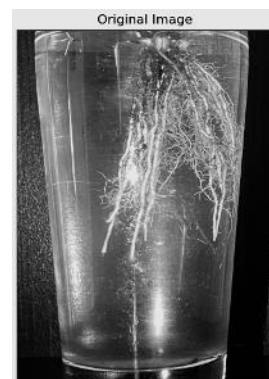
$$CF = \frac{\text{Longitud de la línea de referencia expresada en mm}}{\text{longitud de la línea de referencia expresada en píxeles}} \quad (1)$$

Para examinar el rendimiento de la segmentación de imágenes, se utiliza una métrica estadística estándar, el coeficiente de similitud de Dice (DSC) 40. El DSC evalúa la superposición espacial entre dos imágenes binarias y su valor varía entre 0 (sin superposición) y 1 (superposición perfecta). El DSC se define de la siguiente manera:

$$DSC = \frac{2 * VP}{(2 * VP) + FP + FN} \quad (2)$$

Donde TP, FP y FN son píxeles que interpretan como Verdaderos positivos, falsos positivos o falsos negativos respectivamente.

(a)	(b)	(c)	(d)



**Figura 2.** Pasos básicos del procesamiento y análisis de imágenes de raíces: (a) imagen de suelo-raíz (b) umbral adaptativo, (c) filtrado morfológico, (d) esqueleto de raíz.

Para una mejor adquisición de la imagen se utilizó un fondo negro para poder tener una mejor imagen de las raíces, se instaló la estructura en el fondo negro y el celular, la cámara del celular fue colocada exactamente a 17cm de distancia y a 16.4cm de altura, totalmente vertical y paralelo a el recipiente que contiene la raíz. Al utilizar el programa se adquirieron las imágenes y se mostraron los resultados. Como se puede observar en la figura 3.

Con la imagen anterior se explica de manera más concreta el funcionamiento de este Proyecto, inicialmente se adquiere una imagen con la imagen de la base y el recipiente sin la planta, esta sirve para realizar la comparación, no aparece dentro de la GUI porque esa información no la necesita observar el usuario, lo que sigue es adquirir la imagen de la parte frontal, y se hace una resta de imágenes, como contienen los mismos elementos a excepción de la planta, al hacer la resta solo queda la diferencia que en este caso es la planta, para poder tener una mejor visión y un mejor procesamiento la imagen se pasa a una escala binaria, se adquiere el área del objeto, pero esta área está dada en píxeles, se hicieron las pruebas necesarias para determinar que la unión de 26 píxeles son un centímetro, por lo tanto un centímetro cuadrado equivale a 676 píxeles, haciendo los cálculos necesarios, lanza como resultado el área en milímetros de la raíz de la planta, este proceso se repite con la imagen lateral, al tener las dos imágenes procesadas donde únicamente se tiene la raíz, se procede a realizar el procesamiento para dar el volumen.



## 5. RESULTADOS.

Las pruebas se hicieron con *Coriandrum Sativum* que pertenece a la familia de las Umbelíferas, poseen tallo largo con hojas filiformes y dentadas altura de 40 a 70 centímetros. Esta planta es de habito anual, necesita de suelos con tierras flojas y permeables, el clima debe ser templado, aunque resiste bastante el frío, pero no se logra cuando el suelo tiene mucha agua o humedad.

Se eligió por las características de la raíz que hacían más fácil la observación de los resultados y también por la disposición de adquirirlas. La estructura se encuentra a 17cm de distancia frontal con la lente y la lente se encuentra a una distancia vertical paralela a la estructura de 16.4cm. El recipiente que se utilizó tiene 8.5cm de ancho en cada una de sus caras con una altura de 15.8cm, todas las curvaturas tienen un redondeo lo que hace que se perciba de mejor manera la raíz y con menos deformación en los extremos.

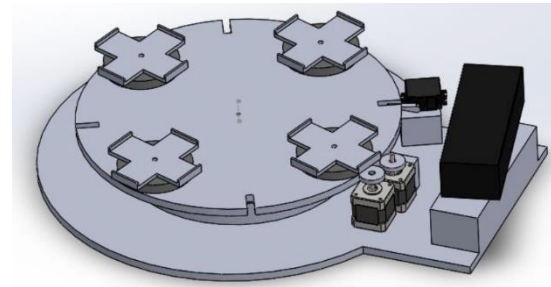


**Figura 3.** Interfaz GUI de la aplicación

Para la adquisición de la nube de puntos, y el giro del recipiente de la planta fue necesario desarrollar una plataforma de imágenes no destructiva que nos permite ver todo el sistema radicular desde cualquier ángulo durante todo el tiempo en que se trabaja con las plantas y se cargan diferentes alimentos.

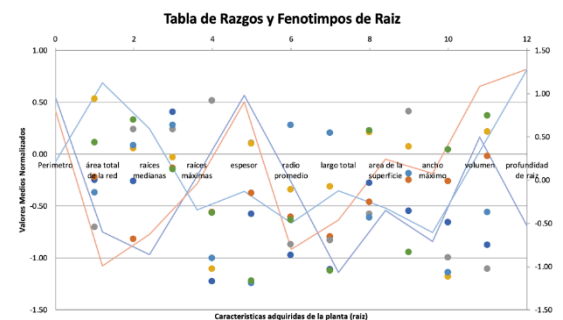
Para obtener imágenes, los cilindros se colocaron en una base giratoria automática controlada por software conectándose a una computadora empleando el puerto USB y una cámara digital o el mismo celular. El plato giratorio gira en un ángulo predeterminado, se detiene y la cámara adquiere una imagen. Utilizando los mismos parámetros (iluminación, enfoque de la cámara, distancia al cilindro) para todas las imágenes, se obtuvieron imágenes de 20 ángulos alrededor del cilindro. Usando nuestra plataforma basada en gel, generamos aproximadamente 2,300 imágenes de múltiples individuos de 12 genotipos de plantas diferentes. Para la mayoría de los genotipos, solo se utilizaron para el análisis las plantas que habían germinado con una diferencia de 1 día entre sí. Una limitación de los métodos no destructivos anteriores es el tiempo que se tarda en obtener

imágenes de las plantas de cultivo. Con esta plataforma podemos obtener imágenes de una planta, independientemente de su tamaño, en aproximadamente 10 minutos, lo que hace que este método sea adecuado para obtener imágenes de poblaciones de mapas en el primer paso del análisis. Los componentes de la plataforma giratoria se muestran en la figura 4.



**Figura 4.** Plataforma giratoria para obtención de imágenes.

Se examinaron los rasgos RSA promedio de los 12 genotipos 14 como se muestra en la figura 5. Para cada análisis se emplearon entre 24 y 30 imágenes, tomadas cada 15 grados, si no se requiere el análisis de profundidad o análisis de disparidad se emplean solo las 24 imágenes por cada 15 grados de cada planta individual. Para cada imagen, calculamos las 12 características. Dentro de las características, como se muestra en la figura 5 están los fenotipos de perímetro, área de la raíz, espesor, radio promedio, largo total de las raíces principales y de la 2ª raíz secundaria, ancho máximo, volumen y profundidad de raíz.



**Figura 5.** Características que se obtienen y se pueden emplear para la clasificación de la planta a partir de los fenotipos de la raíz.

Como se muestra en la figura 5 se tienen características como volumen, espesor, área total y largo que es muy fácil diferenciar y con lo que se cargara una MTDNN para la clasificación automática de las plantas.

## 6. CONCLUSIONES.

Hemos descrito una imagen no invasiva y una plataforma de análisis que la acompaña para fenotipar y clasificar rasgos automáticamente en sistemas de raíces complejos. Nuestra plataforma de imágenes supera varias limitaciones de plataformas no invasivas anteriores. Permite la observación del crecimiento de la raíz sin restricciones en tres dimensiones durante al menos 2 semanas, mientras mantiene tiempos de obtención de imágenes cortos.

Este sistema también es muy flexible. Si se requiere un tiempo de crecimiento más prolongado, se puede aumentar el tamaño del recipiente utilizado para el crecimiento. Además, la fuerza o la composición de nutrientes pueden alterarse sin comprometer la calidad de la imagen.

Las mediciones tradicionales de la arquitectura de las raíces, aunque son útiles para describir aspectos del sistema de raíces, no tienen en cuenta la distribución espacial y la complejidad del RSA.

Nuestro fenotipado demostró que el RSA varía menos dentro de las variedades que entre las variedades, lo que sugiere un fuerte componente genético del RSA. En el arroz, los contribuyentes clave a esta variación son la profundidad y el radio de raíz promedio, ya que estos rasgos fueron los rasgos mejor clasificados en 20 de 66 comparaciones por pares. La clasificación de rasgos mostró que las características que mejor diferencian dos genotipos dependen de los genotipos comparados. Por ejemplo, entre Nipponbare y Jefferson, el perímetro y la relación de ancho a profundidad son las características mejor clasificadas.

Algunas características, como la profundidad y el radio de raíz promedio, estuvieron consistentemente entre las mejores clasificadas, mientras que otras características, como el índice de arbustos, el área convexa, el área de superficie, el ancho máximo y la relación ancho-profundidad, nunca estuvieron entre las funciones mejor clasificadas. Sin embargo, el cálculo del rango de cada característica en la clasificación mostró que todas estas características contribuyeron considerablemente a comparaciones específicas.

Actualmente, utilizamos varias imágenes en 2D como proxy para la representación 3D, ya que la reconstrucción 3D no es posible con la versión actual de nuestra configuración. Algunas de nuestras características son rasgos 2D, como perímetro, área convexa, área de red e índice de vegetación. Sin embargo, para otros rasgos como el radio de raíz promedio, SRL, profundidad y

solidez, estimamos una característica 3D usando múltiples imágenes 2D. Aunque nuestra validación del modelo de alambre demuestra que múltiples imágenes 2D y sus análisis proporcionan buenas estimaciones de algunos parámetros RSA, idealmente, las imágenes 3D son necesarias para proporcionar mediciones de rasgos de la más alta precisión. Actualmente estamos desarrollando la próxima generación de tecnología para la adquisición, reconstrucción y procesamiento de imágenes 3D de raíces de plantas.

Una limitación de nuestra plataforma son los medios de cultivo artificiales, ya que los sistemas artificiales difieren del suelo. Si bien en la mayoría de los casos el vínculo entre los rasgos de campo y RSA aún no se ha demostrado, un informe reciente mostró una alta correlación entre los parámetros de arquitectura de la raíz para la soja cultivada con fitogel y la biomasa y el contenido de nutrientes para el campo. soja cultivada.

Nuestra plataforma supera las limitaciones de los métodos de obtención de imágenes anteriores mediante la rápida adquisición de imágenes de alta calidad. Estas imágenes, combinadas con nuestro cálculo automático de características, hacen posible fenotipar tanto los rasgos convencionales como los que antes eran más difíciles de estimar pero que se consideraban cruciales para la absorción de recursos por las raíces. Por tanto, nuestro método amplía el número de QTL RSA funcionalmente importantes que pueden identificarse y, a su vez, conducirá a un conocimiento más amplio sobre los mecanismos genéticos subyacentes al RSA. Además, nuestro enfoque es flexible en términos de especies, rasgos y condiciones analizadas. También es de costo relativamente bajo y la tecnología es fácilmente accesible. La clasificación de características es automática y rápida, lo que permite un fenotipado completo y reduce el sesgo del investigador. La metodología presentada aquí contribuirá al objetivo de identificar los genes subyacentes al RSA, lo que permitirá avances en la productividad de los cultivos.

## REFERENCIAS

- [1] BLAND, William L. (1993). Cotton and Soybean root systems growth in three soil temperature regimes. *Agron. J.* 85: 906-911.
- [2] BÖHM, Wolfgang (1979). *Methods of studying root systems*. Ecological studies, Springer-Verlag, Heidelberg. Vol 33: 140p.
- [3] BOOT R, G.A. (1989). The significance of size and morphology of root systems for nutrient acquisition and productivity of higher plants. *Netherlands Edited By Lambert*: 299- 311p.
- [6] DART P.J. (1975). Legumes root nodule initiation and development. In: *The development and function of roots*. Ed by Torrey and Clarkson, New York. 468-499p.
- [10] HAMBLIN, Ann; TENNANT, David (1987). Root length density and water uptake in cereals and grain legumes. *Aust. J. of Agricultural Research*. 38 (3): 513-524.
- [11] HAQQANI, A.; PANDEY, R. (1994). Response of mung bean to water stress and irrigation at various growth stages and plant densities: I. Plant and crop growth parameters. *Trop. Agrom. Trinidad*. 71 (4): 281-288.
- [12] AMBLER, J. y J. YOUNG. Techniques for determining root length infected by vesiculararbuscular mycorrhizae. *Soil Sci. Soc. Am. J* 41:551556.1977.
- [13] AVILAN, L., L. MENESES, C. ARIAS y O. PEREZ. Distribución del sistema radical de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz) cultivada a diferentes distancias entre plantas. *Agronomía Tropical* 31(16):189210.1981.
- [14] AVILAN, L., L. MENESES, R. SUCRE, O. PEREZ y C. BELARDI. Efecto de algunas propiedades físicas del suelo sobre la distribución radical y la producción de las cítricas. *Agronomía Tropical* 29(5):413427. 1979.
- [15] CARLEY, H. y R. WATSON A new gravimetric method for estimating rootsurface areas. *Soil Sci.* 102:289291.
- [16] ELLIS, F. y B. BARNES. Estimation of the distribution of living roots of plants under field conditions. *Plant and Soil* 39:8191.1973.
- [17] FREEMAN, B. y R. SMART. A root observation laboratory for studies with grapevines. *Am. J. Enol. Vitic.* 27:3639.1976.
- Aboeela, A.; Liptay, A. y Barron, J. (2005), "Using optical flow in near-infrared imagery to measure plant growth", en *International Journal of Robotics and Automation (IJRA2005)*, Acta Press, vol. 20, núm. 1, pp. 43-49.
- [18] Barron, J. y Liptay, A. (1994), "Optic flow to measure minute increments in plant growth", en *Bioimaging*, vol. 2, núm. 1, pp. 57-61.
- Barron, J. y Liptay, A. (1997), "Measurement 3D plant growth using optical flow", en *Bioimaging*, vol. 5, pp. 82-86.
- [19] León, L.; Garrido-Varo, A. y Downey, G. (2005), "Near Infrared Spectroscopy (nirs) as a promising selection tool in olive breeding programs", en *FRUTIC 05*, Information and technology for sustainable fruit and vegetable production, Montpellier, Francia.
- [20] Poorter, H. y Garnier, E. (1996), "Plant growth analysis: an evaluation of experimental design and computational methods", en *Journal of Experimental Botany*, vol. 47, núm. 302, pp. 1343-1351.
- [21] Iyer-Pascuzzi, A. S. et al. Imaging and analysis platform for automatic phenotyping and trait ranking of plant root systems. *Plant Physiol.* 152, 1148–1157, <https://doi.org/10.1104/pp.109.150748> <http://www.plantphysiol.org/content/152/3/1148.full.pdf> (2010).
- [22] Gregory, P. J. et al. Non-invasive imaging of roots with high resolution X-ray microtomography. In *Roots: the dynamic interface between plants and the Earth*, 351–359 (Springer, 2003).

## Acerca de los autores



### **Salvador Antonio Arroyo Díaz.**

Es doctor y maestro en Electrónica ambos títulos otorgados por INAOE, así también, tiene un doctorado en Administración. Cuenta con una licenciatura en Electrónica, siendo egresado de la BUAP. Actualmente, pertenece al Sistema Nacional de Investigadores y cuenta Perfil Deseable PRODEP. Es profesor investigador de tiempo completo en la Universidad Politécnica de Puebla. Cuenta con experiencia en gestión de proyectos en la Secretaría de Marina y ha tramitado patentes de prótesis y un dispositivo de asistencia para el diagnóstico de movimiento de extremidades ante el IMPI. Ha participado como ponente en congresos nacionales e internacionales, ha publicado en diferentes revistas indexadas y ha fungido como asesor de tesis de maestría.



### **Obed Cortes Aburto.**

Es doctor y maestro en mecánica, obtuvo el grado en la universidad autónoma de Morelos en el centro de investigaciones Ciicap. Actualmente pertenece al sistema nacional de investigadores y cuenta con perfil PRODEP. Es líder de cuerpo académico en ingeniería mecatrónica de la universidad politécnica de Puebla. Ha dirigido tesis de maestría y doctorado en instituciones públicas de los estados de Puebla, México y Morelos. Es profesor investigador de tiempo completo en la Universidad Politécnica de Puebla. Sus líneas de investigación son la optimización de sistemas mecánicos, algoritmos de optimización, redes neuronales y aprendizaje profundo.



### **Rafael Rojas Rodríguez.**

Es doctor y maestro en mecatrónica, obtuvo el grado en Cenidet campus Morelos. Actualmente pertenece al sistema nacional de investigadores y cuenta con perfil PRODEP. Pertenece al cuerpo académico en ingeniería mecatrónica de la universidad politécnica de Puebla. Ha dirigido tesis de maestría y doctorado en instituciones públicas de los estados de Puebla y Morelos. Es profesor investigador de tiempo completo en la Universidad Politécnica de Puebla. Sus líneas de investigación son los sistemas domóticos.



### **Araceli Ortiz Carranco.**

cuenta con los siguientes grados académicos: Licenciada en Informática, Maestría en Administración de Empresas con Especialidad en Mercadotecnia de Servicios y Doctorado en Administración. Posee experiencia como consultor independiente en áreas de servicios, informática administrativa y procesos administrativos. Actualmente, adscrita a Ingeniería Financiera como profesora de tiempo completo en la Universidad Politécnica de Puebla, con reconocimiento a perfil deseable desde el año de 2013. Miembro de la Red de Estudios Latinoamericanos de Administración y Negocios. Académica Acreditada por ANFECA en Informática Administrativa. Fundadora y líder del Cuerpo Académico Gestión de la Cadena de Valor Empresarial en MyPE's con reconocimiento de PRODEP. Así mismo, cuenta con participaciones en congresos nacionales e internacionales, publicaciones en revistas indexadas y diferentes capítulos de libros. De la misma manera ha dirigido proyectos de estadía profesional y tesis de maestría;