

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 01/03/2025.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

MÉTODO BASEADO EM *MACHINE LEARNING* E *DEEP LEARNING* PARA SEGMENTAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA PARTICULADA EM IMAGENS DE MICROTOMOGRÁFIA DE RAIOS X DE AGREGADOS DE SOLO

Aline Barbosa de Oliveira

Geóloga

2023

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

MÉTODO BASEADO EM *MACHINE LEARNING* E *DEEP LEARNING* PARA SEGMENTAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA PARTICULADA EM IMAGENS DE MICROTOMOGRAFIA DE RAIOS X DE AGREGADOS DE SOLO

Aline Barbosa de Oliveira

Orientador: Dr. Ricardo de Oliveira Bordonal

Coorientadora: Dra. Talita Rosas Ferreira

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Ciência do Solo)

2023

O48m

Oliveira, Aline Barbosa de

Método baseado em machine learning e deep learning para segmentação da matéria orgânica particulada em imagens de microtomografia de raios X de agregados de solo / Aline Barbosa de Oliveira. -- Jaboticabal, 2023

77 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Ricardo de Oliveira Bordonal

Coorientadora: Talita Rosas Ferreira

1. Agronomia. 2. Estrutura do solo. 3. Matéria orgânica. 4. Processamento de imagens. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

REGISTRO DE IMPACTO

Nesse estudo é proposto um protocolo de segmentação para a fração da matéria orgânica particulada que considera estratégias de aprendizado de máquina, principalmente por meio da aplicação de redes neurais de convolução. Além de proporcionar uma segmentação de boa qualidade, com maior detalhamento e ganhos metodológicos, permitiu uma maior rapidez quando comparada a técnicas tradicionais de segmentação.

IMPACT REGISTER

This study proposes a segmentation protocol for the particulate organic matter fraction that considers machine learning strategies, mainly through the application of convolution neural networks. Besides providing a good quality segmentation, with greater detail and methodological gains, it allowed for greater speed when compared to traditional segmentation techniques.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: MÉTODO BASEADO EM *Machine Learning* E *Deep Learning* PARA SEGMENTAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA PARTICULADA EM IMAGENS DE MICROTOMOGRAFIA DE RAIOS X DE AGREGADOS DE SOLO

AUTORA: ALINE BARBOSA DE OLIVEIRA

ORIENTADOR: RICARDO DE OLIVEIRA BORDONAL

COORIENTADORA: TALITA ROSAS FERREIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Agronomia (Ciência do Solo), pela Comissão Examinadora:

Pesquisador Dr. RICARDO DE OLIVEIRA BORDONAL (Participação Virtual)
Laboratório Nacional de Biorrenováveis / Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais Campinas/SP



Documento assinado digitalmente

RICARDO DE OLIVEIRA BORDONAL

Data: 01/03/2023 18:59:58-0300

Verifique em <https://verificador.ti.br>

Prof. Dr. LUIZ FERNANDO PIRES (Participação Virtual)
Departamento de Física / Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG



Documento assinado digitalmente

LUIZ FERNANDO PIRES

Data: 01/03/2023 20:16:28-0300

Verifique em <https://verificador.ti.br>

Prof. Dr. NEWTON LA SCALA JUNIOR (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia e Ciências Exatas DECEX / FCAV UNESP Jaboticabal

Jaboticabal, 01 de março de 2023

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ALINE BARBOSA DE OLIVEIRA – Filha de Nilson Barbosa de Oliveira e Rosileide Cassimiro de Oliveira, nascida em 22 de setembro de 1994, em Rio Claro, estado de São Paulo, Brasil. Em 2015, ingressou no curso de graduação em Geologia na Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), com conclusão em 2021. Atuou como bolsista ou voluntária no Programa de Apoio Didático (PAD), na condição de monitora, nas disciplinas “Introdução ao Sensoriamento Remoto”, em 2016, “Fundamentos de Paleontologia”, em 2019, e “Elementos de Paleontologia”, em 2020. Foi bolsista de Iniciação Científica pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico (CNPq) nos anos de 2018-2019 com o projeto “Tafonômia e análise de *charcoals* como ferramenta para caracterização paleoambiental da Formação São Carlos, SP (Cretáceo Superior, Bacia Bauru, Brasil)” e 2020-2021 com o projeto “Fracionamento físico do carbono em solos agrícolas cultivados com cana-de-açúcar sob diferentes níveis de remoção de palha” com vínculo de pesquisadora colaboradora no Laboratório Nacional de Biorrenováveis do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (LNBR/CNPEM). Em 2021, ingressou no curso de mestrado em Agronomia (Ciência do Solo), como bolsista pela Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP), Câmpus de Jaboticabal-SP, com vínculo como pesquisadora colaboradora no LNBR/CNPEM, participando do grupo de pesquisa “Biotecnologia para Agricultura”.

(...)

*O que importa se o pneu furou
O que importa é se vai decolar
O que importa se escorregou
O que importa é se levantar
O que importa se a noite esfriou
O que importa é saber amar*

*O estado contente da mente
Depende somente
De acreditar*

(...)

*Sou feliz, alegre e forte
Tenho amor e sorte
Aonde quer que eu vá*

Marisa de Azevedo Monte

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me capacitar e iluminar nos desafios de cada dia.

Aos meus pais por cada palavra de motivação e incentivo, por estarem sempre ao meu lado e acreditarem em mim.

Ao meu companheiro Felipe, por aguentar todas as minhas crises de ansiedade e angústias. Não é possível colocar em palavras quão importante você foi durante todos esses anos e como se tornou minha inspiração para almejar sempre mais. Obrigada pelas comidas gostosas e motivadoras!

Ao meu orientador Dr. Ricardo de Oliveira Bordonal pela orientação desde a iniciação científica e auxílio para o desenvolvimento deste trabalho.

A minha coorientadora Dra. Talita Rosas Ferreira pelo compartilhamento de muitos dos seus conhecimentos, por me ensinar “o caminho das pedras”, pela paciência e dedicação no desenvolvimento de cada etapa deste trabalho, além de ser uma inspiração de cientista mulher conquistando o seu espaço.

Ao pesquisador Dr. João Luis Nunes Carvalho pelas dicas e palavras de motivação.

Ao professor Dr. Alan Rodrigo Panosso, vice-coordenador do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Ciência do Solo), pelo auxílio nos protocolos, e a todos os professores do programa que contribuíram para o meu desenvolvimento e formação.

Aos meus amigos de laboratório Fernanda, Sarah e Marcelo, agradeço pelos momentos de café (e docinhos), conversas e desabafos, vocês deixaram os meus dias muito mais leves e felizes!

As minhas amigas irmãs Helena e Ieda, que me acompanham desde a graduação. Obrigada por sempre me incentivarem e estarem presentes em cada momento da minha vida.

Ao Laboratório Nacional de Biorrenováveis (LNLS) e Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS) do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM) por fornecerem a estrutura para desenvolvimento deste estudo, além da aquisição das imagens (proposta IMX20180205) e processamento (proposta 20210070).

Ao grupo Tepuí, Grupo de Computação Científica (GCC) e a Kerolyn da Silva Araújo do Serviço de Apoio ao Usuário (SAU) do LNLS, pelo suporte e apoio com as máquinas (HPC), softwares e agendamentos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

MÉTODO BASEADO EM *MACHINE LEARNING* E *DEEP LEARNING* PARA SEGMENTAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA PARTICULADA EM IMAGENS DE MICROTOMOGRAFIA DE RAIOS X DE AGREGADOS DE SOLO

RESUMO – A identificação da distribuição espacial da fração da matéria orgânica particulada (MOP) em agregados de solo é de fundamental importância para decifrar os mecanismos que determinam o aumento da estocagem e estabilidade do carbono no solo. A localização do carbono no agregado de solo pode afetar se ele permanecerá protegido ou será consumido por microrganismos que habitam o solo, por isso a necessidade de buscar compreender o papel da estrutura do solo na proteção física do carbono. O uso da técnica de Microtomografia Computadorizada de Raios X (μ TCX) tem proporcionado avanços na investigação *in situ* de processos relacionados à decomposição e proteção física da fração MOP no solo. No entanto, uma dificuldade que limita o progresso do uso dessa técnica está na identificação (ou segmentação) da MOP em imagens de μ TCX, especialmente quando não são realizados procedimentos de marcação química dessa fração. Por este motivo, o presente estudo tem como objetivo propor um método de segmentação da fração MOP. Buscou-se construir uma base de dados de fragmentos orgânicos, contidos em imagens de μ TCX, segmentados manualmente, utilizando o software Avizo, ou por meio de estratégias de *machine learning*, no software Annotat3D, para treinar uma rede neural de segmentação da MOP via *deep learning*. As imagens 3D consideradas para desenvolvimento do método foram adquiridas na linha de luz de μ TCX do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, com tamanho de pixel de 0,82 μ m. Para o treinamento das redes, considerou-se: o uso de um recurso de criação de dados artificiais (*augmentation*) e a mistura de dois conjuntos de imagens diferentes para diversificação dos dados de entrada. As duas melhores redes neurais treinadas obtiveram identificação parcial ou total dos fragmentos orgânicos nas imagens de μ TCX com uma estimativa de acurácia de 57% e 69%. Os resultados mostraram que o método foi bem sucedido para a segmentação da fração MOP em 17 agregados de solo, sem a utilização de marcação química. O recurso *augmentation* proporcionou melhor continuidade dos fragmentos orgânicos, e a mistura de imagens de diferentes conjuntos resultou em maior número de fragmentos identificados. Portanto, o método apresenta potencial para ser empregado em diferentes propostas experimentais com objetivos semelhantes, uma vez que a rede neural treinada pode ser adaptada e otimizada para a sua aplicação em diferentes conjuntos de imagens.

Palavras-chave: Processamento de imagem; rede neural de convolução; anotação; Annotat3D; estabilidade do carbono no solo

MACHINE LEARNING AND DEEP LEARNING BASED METHOD FOR SEGMENTATION OF PARTICULATE ORGANIC MATTER IN X-RAY MICROTOMOGRAPHY IMAGES OF SOIL AGGREGATES

ABSTRACT – Identifying the spatial distribution of particulate organic matter (POM) fraction in soil aggregates is fundamental to deciphering the mechanisms that determine the increased of carbon storage and stability in soils. The location of carbon in the soil aggregate can affect whether it remains protected or is consumed by soil-inhabiting microorganisms, hence the need to seek an understanding of the role of soil structure in the physical protection of carbon. The use of X-ray Computed Microtomography (μ CT) has provided advances in the in situ investigation of processes related to the decomposition and physical protection of POM in soil. However, one difficulty limiting progress in the use of this technique is the identification (or segmentation) of POM in μ CT images, especially in the absence of chemical staining procedures. For this reason, the present study aims to propose a method for direct segmentation of POM fraction, without chemical staining. We sought to build a database of organic fragments, contained in μ CT images, segmented manually using the Avizo software, or by machine learning strategies, in the Annotat3D software, in order to train a neural network for POM segmentation through deep learning. The 3D images considered for method development were acquired on the μ CT IMX beamline of the Brazilian Synchrotron Light Laboratory, with a pixel size of 0.82 μ m. For the training of the networks, we considered: the use of an artificial data creation feature (augmentation) and the mixture of two different image sets for diversification of the input data. The two best trained networks obtained partial or total identification of organic fragments in the μ CT images, with an estimated accuracy of 57% and 69%. The results showed that the method was successful in segmenting the POM fraction in 17 soil aggregates without the use of chemical staining procedure. The *augmentation* feature provided better continuity of organic fragments, and the mixing of images from different sets resulted in a greater number of identified fragments. Therefore, the method has the potential to be employed in different experimental proposals with similar objectives, since the trained neural network can be adapted and optimized for its application on different sets of images.

Keywords: Image processing; convolution neural network; annotation; Annotat3D; carbon stability in soil

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, busca-se promover a rápida ampliação e implementação do uso de práticas agrícolas que permitam a proteção do (C) no solo, com o objetivo de contribuir para a mitigação das mudanças climáticas (Amelung et al., 2020). Os solos são o maior e mais dinâmico reservatório de C terrestre, armazenando mais C na forma de matéria orgânica do solo (MOS) comparado aos reservatórios atmosféricos ou vegetal combinados (Lehmann e Kleber, 2015), podendo remover entre 0,79 e 1,54 Gt C ano⁻¹ da atmosfera. Por essa razão, aumentar a estocagem de C no solo tem se tornado parte de uma agenda global para a mitigação e adaptação às mudanças climáticas. Entre as importantes iniciativas neste contexto estão o "4p1000", lançado na COP21 pela UNFCCC em 2015, os seminários de Koronivia sobre agricultura, iniciados na COP23 em 2018, e o programa RECSOIL lançado pela FAO (Baveye et al., 2020; Rumpel et al., 2020).

A matéria orgânica particulada (MOP) é a fração ativa da MOS, podendo ser definida como partículas orgânicas que variam entre 0,053 e 2 mm, e constituída por fragmentos orgânicos (como folhas ou raízes) parcialmente decompostos. Encontra-se facilmente disponível para os microrganismos, sendo decomposta mais rapidamente e, por isso, é considerada um estoque transitório da MOS. Portanto, por estar menos protegida e ser mais susceptível às alterações no ambiente, o C associado à MOP se torna mais vulnerável às perdas durante o uso e manejo do solo (Lavallee et al., 2020; Cotrufo et al., 2013).

A MOP é importante por propiciar muitos benefícios agrícolas e ecológicos, servindo como fonte de alimento e energia para microrganismos e animais do solo, além de fornecer nutrientes para o crescimento das plantas e melhorar a estabilidade dos agregados, a infiltração de água e aeração do solo (Gosling et al., 2013). A proteção física da MOP dentro dos agregados é um dos principais mecanismos de sequestro de C pelo solo. Portanto, aprofundar o entendimento dos mecanismos que determinam a dinâmica e a distribuição espacial da MOP em agregados de solo é fundamental para assegurar as diversas funções que essa fração da MOS exerce na saúde do solo, incluindo seu potencial para o sequestro de C.

O recente desenvolvimento de técnicas sofisticadas de imagem, atingindo escalas de resolução espacial microscópica, tem levado a um progresso substancial na descrição da arquitetura do solo, tanto em termos de espaço poroso quanto da configuração espacial da fração mineral ou materiais orgânicos de forma direta (Schlüter et al., 2022). No entanto, análises em grandes volumes de solo e em número de repetições adequadas de amostras ainda são limitadas pela complexidade dos procedimentos propostos (Steffens et al., 2017). Essas técnicas permitiram o avanço no entendimento dos processos-chave (de proteção e/ou perda do C) para aumentar a persistência de C no solo, tais como o papel da proteção física da MOS (Lehmann e Kleber, 2015; Kravchenko e Guber, 2017). Na escala micrométrica, a estrutura do solo estabiliza o C dentro de inúmeros arranjos espaciais e canais de poros do solo, os quais governam diversos processos, incluindo a difusão de gases, água, compostos químicos dissolvidos, produtos de decomposição, enzimas e microrganismos na solução do solo (Six et al., 2004). Schlüter et al., 2022 mostraram que as frações da MOS derivadas de imagens de Microtomografia Computadorizada de Raios X (μ TCX) refletiram com precisão as frações de C obtidas através do fracionamento físico convencional do solo, como a MOP, com o benefício adicional de quantificar sua distribuição tridimensional em relação ao espaço poroso não perturbado.

Imagens de μ TCX voltadas para pesquisa científica podem ser obtidas a partir de tomógrafos industriais, de bancada ou baseados em luz síncrotron. No Brasil, está sendo desenvolvido o Sirius, uma nova fonte de luz síncrotron de 4ª geração no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (LNLS/CNPEM). No Sirius, haverá uma linha de luz de micro e nanotomografia (chamada MOGNO) cujo design proporcionará ganhos significativos em estudos de amostras de solo, como as possibilidades de se realizar experimentos com grande número de repetições de amostra (por ser uma linha de aquisição rápida de imagens 3D), resolvidos no tempo (4D) (Ferreira et al., 2022a) e em multiescala (Claro et al., 2023), com resolução espacial máxima de 100 nm. Tendo em vista o seu potencial para aplicações na área da agricultura, um dos desafios atualmente consiste em propor uma metodologia que seja precisa e eficiente (isto é, automatizada/rápida)

para a segmentação de imagens de amostras de solo e que seja acessível aos futuros usuários da linha de luz.

As técnicas de segmentação (classificação) de imagens são fundamentais para a análise de imagens em diversas áreas do conhecimento e visam particionar uma imagem digital em segmentos, a fim de definir com precisão os limites espaciais de objetos de interesse nas imagens. No contexto de imagens de μ TCX, a segmentação consiste em atribuir classificações coerentes e precisas a determinados grupos de tons de cinza na imagem, os quais devem representar uma determinada fase (ou classe) de interesse. No entanto, diferentes fases podem apresentar tons de cinza similares. Por exemplo, a MOP apresenta uma atenuação intermediária dos raios X entre a fase de poros e da matriz sólida, resultando em tons de cinza similares a estas duas fases, mas predominantemente similares aos da matriz sólida. Nesse caso, outras características da MOP nas imagens de tomografia, como a forma, tamanho e textura, podem auxiliar na sua identificação visual. Porém, o processo de segmentação com critérios que levem em consideração essas características é mais complexo e desafiador do que o processo já bem conhecido baseado em separação (*threshold*) simples de tons de cinza (Ferreira et al., 2022b).

Existem formas de tornar a segmentação da MOP direta por *threshold* através de técnicas que possibilitem a sua marcação química. Peth et al. (2014) desenvolveram uma abordagem para localizar a MOS por meio de uma combinação entre a μ TCX baseada em luz síncrotron e o ósmio (utilizando a fase vapor) como agente de marcação química da MOS (Quigley et al., 2018; Rawlins et al., 2016). Embora seja um método que permita a identificação da MOP, o tetróxido de ósmio (OsO_4) é extremamente tóxico, reativo e altamente volátil, trazendo riscos à saúde do operador e ao ambiente, por isso há estudos que buscam encontrar outros agentes promissores para marcação da MOP (Maenhout et al., 2021). Uma tentativa proposta por (Arai et al., 2019) é o uso do OsO_4 em estado líquido (sob baixa temperatura para não ocorrer a volatilização) para buscar reduzir os riscos relacionados à sua natureza altamente tóxica. Ainda é possível pontuar limitações associadas ao método que impedem sua aplicação para um grande conjunto de amostras ou para uma ampla variedade de condições de solo (Zheng et al., 2020) e até mesmo em relação à

precisão da marcação química da MOS, pois o OsO_4 tem mostrado uma contribuição e afinidade com a fração mineral do solo (Schlüter et al., 2022).

Mais recentemente estão sendo propostos avanços para a segmentação de imagens por meio de estratégias de *machine learning* e *deep learning*. Essas estratégias objetivam proporcionar a segmentação de uma imagem 3D a partir do treinamento de um modelo para classificar pixels como pertencentes a uma classe (como em Rippner et al., 2022; Schlüter et al., 2022; Soltaninejad et al., 2020). Os algoritmos de *machine learning* e *deep learning* realizam a extração de recursos e a classificação de imagens através de modelos de menor ou maior grau de complexidade, respectivamente. Estes algoritmos se diferenciam ainda pelo tipo e quantidade de dados de entrada para o treinamento do modelo, bem como pela forma de entrada dos dados. Mais especificamente, os algoritmos de *machine learning* são mais dependentes da interação com o operador, exigindo dedicação contínua para o desenvolvimento do modelo. Por outro lado, os algoritmos de *deep learning* recebem dados prontos para o desenvolvimento do modelo, isto é, são menos interativos. Ambos os tipos de modelos, quando bem ajustados, podem ser capazes de segmentar grandes volumes de imagens com alto grau de precisão. Entre os softwares que proporcionam abordagens de segmentação baseada em *machine learning* e/ou *deep learning* estão o Annotat3D, Weka Segmentation (plugin do ImageJ/Fiji), Ilastik (Berg et al., 2019), Dragonfly, SuRVoS (Pennington et al., 2022) e Avizo. No caso da MOP, essas estratégias podem ser utilizadas com ou sem o uso de marcação química.

No presente trabalho, será dedicada maior atenção ao software Annotat3D, o qual foi utilizado anteriormente em Ferreira et al. (2022b) para o desenvolvimento de um protocolo de segmentação da fase de poros em imagens tomográficas de agregados de solo. Portanto, o objetivo é propor um método de segmentação da MOP, sem marcação química, a partir da: i) elaboração de um banco de dados de fragmentos orgânicos segmentados via *machine learning* e manualmente, que servirá como referência (dados observados) para o ii) treinamento de uma rede neural (modelo) capaz de iii) reproduzir a classificação de referência e vi) classificar novos dados semelhantes. Com esse protocolo pretende-se propor uma forma eficiente e precisa de segmentar a MOP, sem a necessidade de marcação química, a fim de

diminuir o tempo de operação necessário e conseqüentemente, permitir um aumento de repetição amostral em pesquisas futuras.

6 CONCLUSÃO

Foi apresentado neste trabalho um método de segmentação da MOP em imagens de μ TCX de agregados de solo. Trata-se de um método baseado em estratégias de *machine learning* para a construção de uma base de dados de fragmentos segmentados de MOP que alimentam o treinamento de redes neurais via estratégias de *deep learning*, sendo tais estratégias implementadas no software Annotat3D. Foram estabelecidos protocolos mais eficientes de criação do banco de dados de fragmentos, os quais podem ser reproduzidos por outros operadores para aumentar ainda mais este banco de dados. O banco de fragmentos segmentados de MOP permitiu o treinamento de redes neurais para a generalização da segmentação da MOP em diferentes amostras. As inferências das redes neurais (obtidas em alguns minutos por imagem) identificaram parcial ou totalmente os fragmentos orgânicos contidos nas imagens de μ TCX, onde as melhores redes atingiram valores médios de acurácia de 57 e 69%. O uso do recurso *augmentation* (redes A2 e B2 em relação às redes A1 e B1) proporcionou melhor continuidade dos fragmentos orgânicos identificados, principalmente na porção menos nítida das imagens, mostrando ser um artifício interessante para o aumento na diversificação dos dados de entrada para treinamento. A mistura de imagens de diferentes conjuntos (redes B1 e B2) resultou na identificação de um maior número de fragmentos, o que pode significar futuras melhorias a partir do uso e adaptação da rede para outras imagens.

Estes resultados mostraram o potencial do método proposto para a identificação e segmentação da MOP em imagens de μ CTX. Espera-se que esse protocolo possibilite avanços no ponto de vista metodológico para estudos científicos relacionados ao entendimento do papel da estrutura do solo na proteção física do carbono do solo.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

Como continuidade deste trabalho, a segmentação da MOP proposta aqui será integrada à da rede de poros (segmentação resultante da adaptação da rede treinada

para poros em Ferreira et al. (2022b)). O intuito será avançar na questão científica com relação aos impactos da remoção ou manutenção da palha de cana-de-açúcar em microescala. No caso, serão utilizados os resultados obtidos a partir da rede B2, pois acredita-se que a morfologia será mais importante que um número maior de fragmentos (geralmente pequenos) identificados. Será proposta quantificações que correlacione a MOP e a sua morfologia com a rede de poros, com o benefício de quantificar a sua posição em relação ao espaço poroso não perturbado.

8 REFERÊNCIAS

Amelung W, Bossio D, et al. (2020) Towards a global-scale soil climate mitigation strategy. **Nature Communications** 11:5427.

Arai M, Uramoto GI, Asano M, Uematsu K, Uesugi K, Takeuchi A, Morono Y, Wagai R (2019) An improved method to identify osmium-stained organic matter within soil aggregate structure by electron microscopy and synchrotron X-ray micro-computed tomography. **Soil and Tillage Research** 191:275-281.

Arganda-Carreras I, Kaynig V, Rueden C, Eliceiri KW, Schindelin J, Cardona A, Seung HS (2017) Trainable Weka Segmentation: a machine learning tool for microscopy pixel classification. **Bioinformatics** 33:2424-2426.

Ashman MR, Hallett PD, Brookes PC (2003) Are the links between soil aggregate size class, soil organic matter and respiration rate artefacts of the fractionation procedure? **Soil Biology and Biochemistry** 35:435-444.

Bartels M (2013) Cone-beam X-ray phase contrast tomography of biological samples: optimization of contrast, resolution and field of view. Universitätsverlag Göttingen.

Baveye, PC (2006) Comment on? Soil structure and management: A review? by CJ Bronick and R. Lal. **Geoderma** 134:231-232.

Baveye PC, White RE, Amiraslani F, Chenu C, Cardenas MG, Kaonga M, Koutika L-S, Ladha JK (2020) The “4p1000” initiative: A new name should be adopted Comment to: Rumpel. **Ambio** 49:361-362.

Belazi D, Solé-Domènech S, Johansson B, Schalling M, Sjövall P (2009) Chemical analysis of osmium tetroxide staining in adipose tissue using imaging ToF-SIMS. **Histochemistry Cell Biology** 132:105-115.

Berg S, Kutra D, et al. (2019) ilastik: interactive machine learning for (bio)image analysis. **Nature Methods** 16:1226-1232.

Claro PIC, Borges EPBS, Schleder GR, Archilha NL, Pinto A, Carvalho M, Driemeier CE, Fazzio A, Gouveia RF (2023) From micro- to nano- and time-resolved x-ray computed tomography: Bio-based applications, synchrotron capabilities, and data-driven processing. **Applied Physics Reviews** 10:021302.

Cotrufo MF, Wallenstein MD, Boot CM, Deneff K, Paul E (2013) The Microbial Efficiency-Matrix Stabilization (MEMS) framework integrates plant litter decomposition with soil organic matter stabilization: Do labile plant inputs form stable soil organic matter? **Global Change Biology** 19:988-995.

Dexter AR (1988) Advances in characterization of soil structure. **Soil Tillage Research** 11:199-238.

Ekschmitt K, Kandeler E, Poll C, Brune A, Buscot F, Friedrich M, Gleixner G, Hartmann A, Kästner M, Marhan S, Miltner A, Scheu S, Wolters V (2008) Soil-carbon preservation through habitat constraints and biological limitations on decomposer activity. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science** 171:27-35.

Elliott ET, Cambardella CA (1991) Physical separation of soil organic matter. **Agriculture, Ecosystems & Environment** 34:407-419.

Ferreira TR, Cássaro FAM, Zhou H, Pires LF (2022b) X-ray Computed Tomography Image Processing & Segmentation: A Case Study Applying Machine Learning and Deep Learning-Based Strategies. **X-ray Imaging of the Soil Porous Architecture**. Springer International Publishing, p. 57-80.

Ferreira TR, Pires LF, Reichardt K (2022a) 4D X-Ray Computed Tomography in Soil Science: an Overview and Future Perspectives at Mogno/Sirius. **Brazilian Journal of Physics** 52:33.

Ferreira TR, Archilha NL, Pires LF (2022c) An analysis of three XCT-based methods to determine the intrinsic permeability of soil aggregates. **Journal of Hydrology** 612:128024.

Ferreira TR, Pires LF, Wildenschild D, Brinatti AM, Borges JAR, Auler AC, dos Reis AMH (2019) Lime application effects on soil aggregate properties: Use of the mean

weight diameter and synchrotron-based X-ray μ CT techniques. **Geoderma** 338:585-596.

Ferreira TR, Pires LF, Wildenschild D, Heck RJ, Antonino ACD (2018) X-ray microtomography analysis of lime application effects on soil porous system. **Geoderma** 324:119-130.

Gosling P, Parsons N, Bending GD (2013) What are the primary factors controlling the light fraction and particulate soil organic matter content of agricultural soils? **Biology and fertility of soils** 49:1001-1014.

Gregorich EG, Beare MH, McKim UF, Skjemstad JO (2006) Chemical and Biological Characteristics of Physically Uncomplexed Organic Matter. **Soil Science Society of America Journal** 70:975-985.

Gureyev TE, Nesterets YI, Stevenson AW, Miller PR, Pogany A, Wilkins SW (2008) Some simple rules for contrast, signal-to-noise and resolution in in-line x-ray phase-contrast imaging. **Optics express** 16:3223-3241.

Kamilaris A, Prenafeta-Boldú FX (2018) Deep learning in agriculture: A survey. **Computers and Electronics in Agriculture** 147:70-90.

Kravchenko AN, Guber AK (2017) Soil pores and their contributions to soil carbon processes. **Geoderma** 287:31–39.

Kravchenko NA, Guber AK, Razavi BS, Koestel J, Quigley MY, Robertson GP, Kuzyakov Y (2019) Microbial spatial footprint as a driver of soil carbon stabilization. **Nature Communications** 10:3121.

Kravchenko AN, Negassa W, Guber AK, Schmidt S (2014) New Approach to Measure Soil Particulate Organic Matter in Intact Samples Using X-ray Computed Microtomography. **Soil Science Society of America Journal** 78:1177-1185.

Kuzyakov Y, Blagodatskaya E (2015) Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept & review. **Soil Biology and Biochemistry** 83:184-199.

Lavallee JM, Soong JL, Cotrufo MF (2020) Conceptualizing soil organic matter into particulate and mineral-associated forms to address global change in the 21st century. **Global Change Biology** 26:261-273.

Lehmann J, Kleber M (2015) The contentious nature of soil organic matter. **Nature** 528:60-68.

Maenhout P, De Neve S, Wragg J, Rawlins B, De Pue J, Hoorebeke L Van, Cnudde V, Sleutel S (2021) Chemical staining of particulate organic matter for improved contrast in soil X-ray μ CT images. **Scientific Reports** 11:370

Miqueles E, Koshev N, Helou ES (2018) A Backprojection Slice Theorem for Tomographic Reconstruction. **IEEE Transactions on Image Processing** 27:894-906

Miqueles EX, Rinkel J, O'dowd F, Bermú Dez B A JS v (2014) Synchrotron Radiation Generalized Tatarski's algorithm for ring artefacts reduction. **Journal of Synchrotron Radiation** 21:1333-1346.

Pennington A, King ONF, Tun WM, Ho EML, Luengo I, Darrow MC, Basham M (2022) SuRVoS 2: Accelerating Annotation and Segmentation for Large Volumetric Bioimage Workflows Across Modalities and Scales. **Frontiers in Cell and Developmental Biology** 10:842342.

Perry D (2013) Image processing/ Histograms. Disponível em: http://daniel-perry.github.io/class/cs6640/histograms/dperry_cs6640_project1_report.html

Peth S, Chenu C, Leblond N, Mordhorst A, Garnier P, Nunan N, Pot V, Ogurreck M, Beckmann F (2014) Localization of soil organic matter in soil aggregates using synchrotron-based X-ray microtomography. **Soil Biology and Biochemistry** 78:189-194.

Pinto A, Borin G, Carlos B, Bernardi ML, Sarmento MF, Peixinho AZ, Spina T, Miqueles EX (2022) Annotat3D: A Modern Web Application for Interactive Segmentation of Volumetric Images at Sirius/LNLS. **Synchrotron Radiation News** 35:36-43.

Pires LF, Auler AC, Roque WL, Mooney SJ (2020) X-ray microtomography analysis of soil pore structure dynamics under wetting and drying cycles. **Geoderma** 362:114103.

Quigley MY, Rivers ML, Kravchenko AN (2018) Patterns and sources of spatial heterogeneity in soil matrix from contrasting long term management practices. **Frontiers in Environmental Science** 6:28

Rabot E, Wiesmeier M, Schlüter S, Vogel HJ (2018) Soil structure as an indicator of soil functions: A review. **Geoderma** 314:122-137.

Rawlins BG, Wragg J, Reinhard C, Atwood RC, Houston A, Lark RM, Rudolph S (2016) Three-dimensional soil organic matter distribution, accessibility and microbial respiration in macroaggregates using osmium staining and synchrotron X-ray computed tomography. **SOIL** 2:659-671.

Rippner DA, Raja P V., Earles JM, Momayyezi M, Buchko A, Duong F V., Forrestel EJ, Parkinson DY, Shackel KA, Neyhart JL, McElrone AJ (2022) A workflow for segmenting soil and plant X-ray computed tomography images with deep learning in Google's Colaboratory. **Frontiers in Plant Science** 13:3225.

Rumpel C, Amiraslani F, Chenu C, Garcia Cardenas M, Kaonga M, Koutika LS, Ladha J, Madari B, Shirato Y, Smith P, Soudi B, Soussana JF, Whitehead D, Wollenberg E (2020) The 4p1000 initiative: Opportunities, limitations and challenges for implementing soil organic carbon sequestration as a sustainable development strategy. **Ambio** 49:350-360.

Santos HG, Jakomine PKT, Anjos LHC, Oliveira VA, Lumbreras JF, Coelho MR, Almeida JA, Araujo-Filho JC, Oliveira JB, Cunha TJF (5 Eds.) (2018). Sistema brasileiro de classificação de solos. Embrapa, 350p.

Schlüter S, Leuther F, Albrecht L, Hoeschen C, Kilian R, Surey R, Mikutta R, Kaiser K, Mueller CW, Vogel H-J (2022) Microscale carbon distribution around pores and particulate organic matter varies with soil moisture regime. **Nature Communications** 13: 2098.

Schlüter S, Sammartino S, Koestel J (2020) Exploring the relationship between soil structure and soil functions via pore-scale Imaging. **Geoderma** 370:114370.

Six J, Bossuyt H, Degryze S, Denef K (2004) A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. **Soil and tillage research** 79:7-31.

Six J, Elliott ET, Paustian K (2000) Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: A mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture. **Soil Biology and Biochemistry** 32:2099-2103.

Soltaninejad M, Sturrock CJ, Griffiths M, Pridmore TP, Pound MP (2020) Three Dimensional Root CT Segmentation Using Multi-Resolution Encoder-Decoder Networks. **IEEE Transactions on Image Processing** 29:6667-6679

Steffens M, Rogge DM, Mueller CW, Hö C, Lugmeier J, Kö A, Kö Gel-Knabner I (2017) Identification of Distinct Functional Microstructural Domains Controlling C Storage in Soil. **Environmental science & technology** 51:12182-12189.

Tuller M, Kulkarni R, Fink W (2015) Segmentation of X-ray CT data of porous materials: A review of global and locally adaptive algorithms. **Soil-Water-Root Processes: Advances in Tomography and Imaging** 61:157-182.

Vasconcelos GJQ, Antonietti G, Libel GC, Rosa PRR, Archilha NL, Carvalho TJ, Pedrini H, Spina T V (2018) Evaluation of Segmentation Methods Based on Classification Patterns for Micro-Tomography Applications in Rock Analysis. In: **Conference on Graphics, Patterns and Images, 31.(SIBGRAPI)**. Sociedade Brasileira de Computação, Foz do Iguaçu, PR, Brazil.

Young IM, Crawford JW, Rappoldt C (2001) New methods and models for characterising structural heterogeneity of soil. **Soil and Tillage Research** 61:33-45.

Zheng H, Kim K, Kravchenko A, Rivers M, Guber A (2020) Testing Os Staining Approach for Visualizing Soil Organic Matter Patterns in Intact Samples via X-ray Dual-Energy Tomography Scanning. **Environmental Science Technology** 54:8980-8989