

SEGMENTAÇÃO AUTOMÁTICA DE TECIDOS LIGNIFICADOS EM COLMOS DE CANA-DE-AÇÚCAR POR VISÃO COMPUTACIONAL

Gabriela Ferreira Ferrari Rubio¹;

¹Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga, São Paulo.

Marcela Rezende Sant' Ana Tôrres²;

²Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga, São Paulo.

Lilian Elgalise Techio Pereira³;

³Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga, São Paulo.

João Paulo Rodrigues Marques⁴;

⁴Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga, São Paulo.

Adriano Rogério Bruno Tech⁵.

⁵Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), Universidade de São Paulo (USP), Pirassununga, São Paulo.

RESUMO: A quantificação de tecidos lignificados em colmos de cana-de-açúcar é relevante para a caracterização anatômica da biomassa e para sua avaliação em diferentes finalidades de uso. Este estudo teve como objetivo desenvolver e avaliar métodos automatizados de segmentação de imagens histológicas de colmos de cana-de-açúcar, comparando dois pipelines baseados no canal de Saturação (S) do espaço HSV e no índice de Excesso de Vermelho (ExR). Secções do terço médio dos entrenós foram submetidas ao teste de Wiesner com floroglucinol, e as imagens foram obtidas em estereomicroscópio. O processamento foi realizado em Python, utilizando OpenCV e NumPy, com etapas de pré-processamento, limiarização pelo método de Otsu, operações morfológicas e quantificação automática dos pixels segmentados. Os resultados foram comparados às quantificações obtidas no ImageJ. Ambos os métodos apresentaram elevada associação linear com a referência, com coeficientes de determinação superiores a 0,99. Entretanto, o canal S superestimou sistematicamente as regiões lignificadas, com erro relativo médio de 20,2%. O ExR apresentou maior correspondência com o ImageJ, com diferenças relativas entre -2,5% e 3,1% e erro absoluto médio de 2,34%. Assim, o ExR demonstrou maior precisão e potencial para automatizar a quantificação de tecidos lignificados em imagens histológicas de cana-de-açúcar de forma objetiva e padronizada.

PALAVRAS-CHAVE: Índices cromáticos. Processamento de imagens. *Saccharum spp.*

AUTOMATIC SEGMENTATION OF LIGNIFIED TISSUES IN SUGARCANE STALKS USING COMPUTER VISION

ABSTRACT: The quantification of lignified tissues in sugarcane culms is relevant for the anatomical characterization of biomass and for evaluating its suitability for different uses. This study aimed to develop and evaluate automated methods for segmenting histological images of sugarcane culms by comparing two processing pipelines based on the Saturation (S) channel of the HSV color space and the Excess Red (ExR) index. Sections from the middle third of the internodes were subjected to the Wiesner test with phloroglucinol, and images were acquired using a stereomicroscope. Image processing was performed in Python using OpenCV and NumPy, including preprocessing, Otsu thresholding, morphological operations, and automatic quantification of segmented pixels. The results were compared with measurements obtained using ImageJ. Both methods showed a strong linear association with the reference, with coefficients of determination above 0.99. However, the S channel systematically overestimated lignified regions, with a mean relative error of 20.2%. ExR showed greater agreement with ImageJ, with relative differences ranging from -2.5% to 3.1% and a mean absolute error of 2.34%. Therefore, ExR demonstrated greater accuracy and potential for automating the quantification of lignified tissues in sugarcane histological images in an objective and standardized manner, while reducing dependence on manual image delimitation procedures.

KEYWORDS: Digital image processing. Color spaces. Chromatic indices.

INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) é uma gramínea de destaque no agronegócio brasileiro devido à utilização como matéria-prima para a produção de açúcar, etanol, bioenergia e diferentes coprodutos. Além de suas aplicações industriais, a cana-de-açúcar também pode integrar sistemas de produção animal como recurso forrageiro, principalmente em períodos de menor disponibilidade de pastagens (EMBRAPA, 2022). Nesse contexto, além da produtividade agrícola, características anatômicas e químicas dos colmos são determinantes para a qualidade e o aproveitamento da biomassa, uma vez que a distribuição dos tecidos e a composição das paredes celulares podem influenciar tanto os processos industriais quanto sua utilização na alimentação de ruminantes (Marques *et al.*, 2021; Brienzo *et al.*, 2016).

Entre as características utilizadas para avaliar a qualidade da biomassa da planta, destacam-se a proporção e a distribuição dos tecidos parenquimáticos e esclerenquimáticos. Os tecidos parenquimáticos estão associados ao acúmulo de sacarose, enquanto os tecidos esclerenquimáticos, como as fibras, contribuem para a sustentação e a estruturação do colmo (Marques *et al.*, 2021). A distribuição e a quantidade desses tecidos podem influenciar a qualidade da biomassa e, conseqüentemente, sua adequação a diferentes finalidades de uso. Na alimentação de ruminantes, a maior lignificação da parede celular está associada

à menor degradabilidade da fração fibrosa, uma vez que a lignina constitui uma barreira à ação dos microrganismos ruminais (Tedeschi; Adams; Vieira, 2023).

Técnicas histológicas associadas à análise digital de imagens têm sido empregadas na caracterização de componentes da parede celular da cana-de-açúcar. Marques *et al.* (2018), por exemplo, utilizaram o software ImageJ para quantificar sinais de fluorescência relacionados ao acúmulo de celulose e arabinosilano em tecidos da cultura. Nesse contexto, o desenvolvimento de ferramentas computacionais capazes de integrar etapas de processamento, segmentação e quantificação de imagens apresenta-se como uma estratégia para simplificar o fluxo de análise e ampliar as possibilidades de obtenção de informações quantitativas a partir de imagens microscópicas.

A visão computacional constitui uma alternativa para automatizar a análise de imagens microscópicas, permitindo a identificação e a quantificação de estruturas de interesse a partir de suas características visuais. Entre as etapas fundamentais desse processo está a segmentação de imagens, que consiste na separação dos pixels correspondentes às regiões de interesse em relação aos demais componentes da imagem (Barelli, 2019). Em análises histológicas de cana-de-açúcar, a reação com floroglucinol permite evidenciar estruturas lignificadas pela formação de tonalidades avermelhadas ou rosadas, possibilitando sua diferenciação em relação aos demais tecidos (Gallinari *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2024). Sob tal contexto, diferentes representações da informação cromática, como o canal de Saturação (S) do espaço HSV e índices baseados na predominância relativa do componente vermelho, apresentam potencial para auxiliar na distinção entre tecidos lignificados e predominantemente parenquimáticos. A comparação dessas estratégias de segmentação pode contribuir para o desenvolvimento de procedimentos automatizados e padronizados para a quantificação de tecidos em imagens histológicas de colmos de cana-de-açúcar.

OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi desenvolver e avaliar métodos automatizados de segmentação para identificação e quantificação de tecidos lignificados em imagens histológicas de colmos de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), comparando dois pipelines de processamento digital de imagens baseados no canal de Saturação (S) do espaço de cor HSV e no Excesso de Vermelho Normalizado (ExR). Os resultados obtidos pelos métodos computacionais foram comparados às quantificações realizadas no software ImageJ, considerando a associação linear e as diferenças relativas entre as estimativas, com o propósito de avaliar o desempenho e a concordância dos procedimentos na quantificação das regiões de fibras lignificadas.

METODOLOGIA

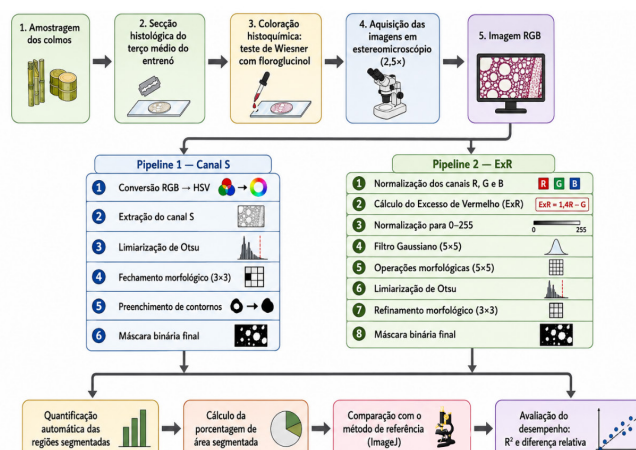
O estudo caracteriza-se como uma pesquisa de natureza aplicada, com abordagem quantitativa e objetivos de caráter descritivo, conduzida por meio de procedimentos experimentais. O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Tecnologia e Sistemas de Informação (LTSI), da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (FZEA/USP), utilizando colmos de cana-de-açúcar da cv. 1004, disponibilizados pelo Sítio dos Ipês, localizado em Mogi Mirim, São Paulo, Brasil.

Os entrenós foram seccionados à mão livre na região do terço médio e submetidos ao teste de Wiesner, método histoquímico baseado na reação do floroglucinol em meio ácido, com tempo de reação de aproximadamente três minutos, promovendo coloração avermelhada nos tecidos lignificados e permitindo sua diferenciação em relação aos demais tecidos (Marques; Soares, 2021). Após a coloração, as secções foram dispostas sobre lâminas histológicas e as imagens foram obtidas em estereomicroscópio Belphotonics, com magnificação de 2,5x, pelo Grupo de Estudos em Botânica Aplicada (GEBAP), também vinculado à FZEA/USP.

A análise computacional foi conduzida por meio de dois procedimentos independentes de segmentação, implementados em linguagem Python. O primeiro foi baseado na extração do canal de Saturação (S) do espaço de cor HSV, empregado anteriormente para diferenciação entre tecidos lignificados e predominantemente parenquimáticos. O segundo procedimento utilizou o Excesso de Vermelho Normalizado (ExR), calculado a partir das componentes RGB da imagem, com a finalidade de realçar a resposta cromática avermelhada produzida pela reação do floroglucinol nos tecidos lignificados. Ambos os procedimentos foram aplicados às mesmas imagens, permitindo a comparação direta dos resultados obtidos.

A Figura 1 apresenta esquematicamente as principais etapas metodológicas adotadas, desde a obtenção das imagens histológicas até a geração das máscaras binárias, quantificação das regiões segmentadas e comparação dos resultados com o método de referência.

Figura 1: Fluxo metodológico para aquisição, processamento, segmentação e quantificação dos tecidos lignificados em imagens histológicas de colmos de cana-de-açúcar.



Fonte: Elaborada pelos autores, 2026.

Processamento computacional das imagens

O processamento das imagens histológicas foi realizado por meio de algoritmos desenvolvidos em linguagem Python, utilizando principalmente as bibliotecas OpenCV e NumPy para manipulação, transformação e segmentação das imagens. O sistema foi estruturado para permitir o processamento automatizado em lote, mantendo as imagens originais inalteradas e armazenando separadamente as imagens intermediárias, máscaras binárias e resultados quantitativos produzidos durante cada etapa. A utilização de métodos computacionais para análise e extração de características em imagens anatômicas vegetais permite transformar informações estruturais e cromáticas em dados quantitativos e subsidiar procedimentos automatizados de identificação e caracterização dos tecidos (Legland *et al.*, 2017; Hwang; Sugiyama, 2021).

Para cada imagem, foram implementados dois pipelines independentes de processamento. O primeiro utilizou o canal de Saturação (S) do espaço de cor HSV (Hue, Saturation and Value), enquanto o segundo foi baseado no Excesso de Vermelho Normalizado (ExR), calculado a partir das componentes RGB. Os dois procedimentos foram aplicados ao mesmo conjunto de imagens e resultaram na geração de máscaras binárias utilizadas para quantificação das regiões identificadas como tecidos lignificados. A utilização de diferentes representações cromáticas permite explorar propriedades específicas das imagens histológicas e aumentar a separabilidade entre tecidos que apresentam respostas distintas à coloração (Lopez-Marnet *et al.*, 2022).

Segmentação pelo canal S

No primeiro pipeline, como pré-processamento, as imagens originais, representadas no espaço de cor RGB, foram convertidas para o espaço de cor HSV, composto pelos

canais Matiz (H), Saturação (S) e o Valor (V), sendo esse último relacionado ao brilho ou à luminosidade. Esse espaço de cor permite uma maior separação entre as informações relacionadas à cor e à iluminação, favorecendo sua aplicação em procedimentos de segmentação de imagens (Barelli, 2019).

Na etapa de processamento, a imagem correspondente ao canal S foi submetida à limiarização automática pelo método de Otsu, o qual determina automaticamente o valor de limiar a partir da distribuição das intensidades dos pixels (Otsu, 1979). Como resultado, obteve-se uma máscara binária inicial, constituída por pixels pretos e brancos, utilizada como entrada para a etapa de pós-processamento.

Na etapa de pós-processamento, aplicou-se inicialmente uma operação de fechamento morfológico, utilizando um elemento estruturante (kernel) com matriz de 3x3 pixels, com o objetivo de reduzir pequenas discontinuidades e preencher lacunas presentes nas regiões segmentadas. A dimensão do elemento estruturante foi definida de forma a promover alterações localizadas na máscara binária, evitando modificações prejudiciais na geometria das estruturas de interesse, uma vez que o tamanho do kernel influencia o efeito das operações morfológicas (Lotufo, *et al.* 2023). Em seguida, foram identificados os contornos externos das regiões presentes na máscara binária e realizado o preenchimento dessas áreas, resultando na máscara binária final

Segmentação pelo Excesso de Vermelho (ExR)

No segundo pipeline, os canais vermelho (R), verde (G) e azul (B) das imagens originais foram separados e normalizados para o intervalo entre 0 e 1 por meio da divisão dos valores de intensidade por 255, valor máximo correspondente a imagens de 8 bits. Essa normalização é representada nas Equações 1, 2 e 3, em que R_n , G_n e B_n correspondem, respectivamente, aos canais vermelho, verde e azul normalizados (Agarwal *et al.*, 2025).

$$R_n = \frac{R_n}{255} \text{ (Eq. 1); } G_n = \frac{G_n}{255} \text{ (Eq. 2); } B_n = \frac{B_n}{255} \text{ (Eq. 3)}$$

A partir desses valores, calculou-se o índice de Excesso de Vermelho de duas vezes (ExR), definido pela Equação 4.

$$ExR = (2 \times R_n) - G_n - B_n \quad \text{Equação 4}$$

Como o índice resultante pode assumir valores negativos e positivos, seus valores foram normalizados para o intervalo de 0 a 255, permitindo sua representação em 8 bits. Em seguida, aplicou-se um filtro Gaussiano com janela de 5x5 pixels, com o objetivo de suavizar pequenas variações locais de intensidade. Posteriormente, foram realizadas

operações morfológicas de abertura e fechamento, utilizando um elemento estruturante elíptico (kernel) de matriz 5x5 pixels, visando reduzir pequenos elementos isolados e preencher descontinuidades antes da segmentação. O emprego de suavização Gaussiana e de operações morfológicas como etapas de preparação da imagem tem sido utilizado em procedimentos recentes de segmentação de imagens vegetais (Chambingo *et al.*, 2026).

Na etapa de processamento, a imagem resultante foi submetida à limiarização global pelo método de Otsu, idêntico ao usado na segmentação pela banda S (Otsu, 1979). Como resultado, também obteve-se uma máscara binária inicial. Essa máscara binária inicial foi submetida a etapa de pós-processamento, com o intuito de ser refinada por meio de operações de abertura e de fechamento morfológico, utilizando um kernel de 3x3 pixels. A abertura foi empregada para reduzir pequenas regiões isoladas, enquanto o fechamento foi utilizado para preencher pequenas lacunas e favorecer a continuidade das regiões segmentadas, procedimentos também validado em segmentação de imagens vegetais (Chambingo *et al.*, 2026). Como resultado, obteve-se a máscara binária final utilizada para a quantificação dos tecidos.

Quantificação e validação das segmentações

A quantificação das regiões segmentadas foi realizada automaticamente a partir das máscaras binárias produzidas pelos dois pipelines. Para cada imagem, foram contabilizados o número de pixels brancos, correspondentes às regiões segmentadas, o número de pixels pretos e o número total de pixels. A proporção de área segmentada foi determinada pela Equação 5, em que P_s representa a porcentagem da imagem classificada como região de interesse, N_s corresponde ao número de pixels brancos da máscara e N_t ao número total de pixels da imagem.

$$P_s = \frac{N_s}{N_t} \times 100$$

Equação 5

Os resultados, juntamente com os valores de limiar determinados pelo método de Otsu e os parâmetros utilizados durante o processamento, foram armazenados automaticamente em planilha eletrônica, no Microsoft Excel.

Para avaliação dos procedimentos computacionais, as quantificações obtidas pelo canal S e pelo ExR foram comparadas às quantificações realizadas no software ImageJ, adotadas como referência para análise comparativa. A associação linear entre os valores foi avaliada pelo coeficiente de determinação (R^2). Adicionalmente, calculou-se a diferença relativa de cada estimativa computacional em relação ao valor obtido no ImageJ, usando a Equação 6, em que D_r representa a diferença relativa, N_{seg} corresponde ao número de pixels segmentados pelo método avaliado e N_{ref} ao número de pixels obtido pelo ImageJ.

$$D_R = \frac{N_m - N_{ref}}{N_{ref}}$$

Equação 5

Valores positivos de indicaram superestimação, enquanto valores negativos indicaram subestimação em relação à referência. Essa análise foi utilizada conjuntamente com o R^2 , uma vez que elevada associação linear entre métodos não implica necessariamente concordância entre as medidas (Bland; Altman, 1986).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação e o desenvolvimento de ferramentas de análise de imagens para identificação e quantificação de diferentes tecidos em imagens histológicas de plantas de interesse agrícola têm recebido crescente atenção nos últimos anos (Lopez-Marnet *et al.*, 2022). Técnicas de processamento digital de imagens e visão computacional têm demonstrado potencial para tornar as análises histológicas mais rápidas e objetivas, permitindo a automatização de procedimentos tradicionalmente realizados de forma manual. Fluxos de processamento voltados ao isolamento e quantificação de tecidos lignificados, com particular atenção aos segmentos de entrenós do colmo, em culturas como o milho (*Zea mays*) e a cana-de açúcar possibilitam a avaliação da qualidade da biomassa, através do mapeamento da organização e distribuição espacial, bem como da determinação da proporção de lignina em relação a outros tecidos, como o parênquima (Marques *et al.*, 2021). Todavia, pesquisas desenvolvidas com cana-de açúcar são incipientes.

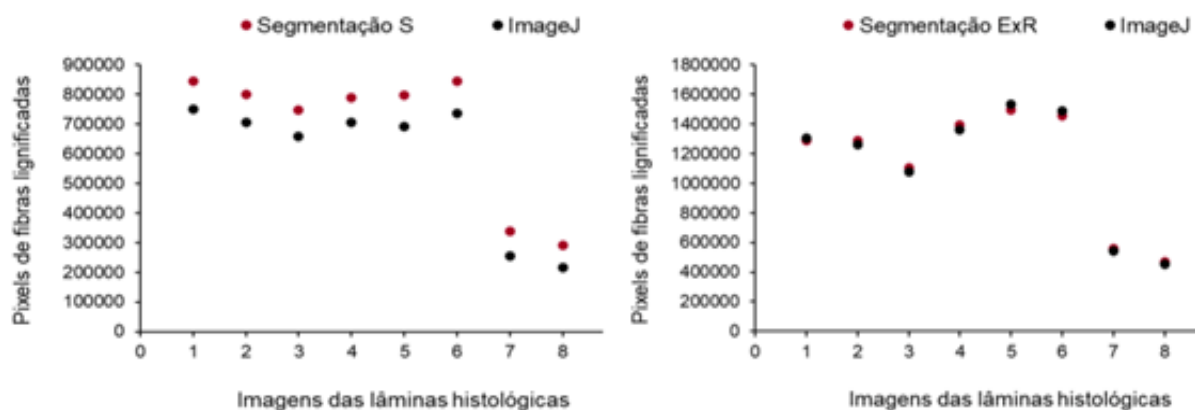
Legland *et al.* (2017), ao analisarem seções histológicas de colmos de milho, demonstraram a possibilidade de automatizar a segmentação e a quantificação de diferentes tecidos a partir de imagens de lâminas histológicas coradas com safranina. A safranina colore os tecidos lignificados de vermelho, enquanto tecidos não lignificados ou pouco lignificados aparecem em azul. Assim, as diferenças cromáticas são utilizadas como base para a identificação e distinção entre tecidos.

Todavia, os canais de cor a serem utilizados nos fluxos de processamento, bem como as etapas relativas ao pré-processamento, limiarização (ou segmentação) e pós-processamento, dependem do corante e das estruturas a serem identificadas. Lopez-Marnet *et al.* (2022) utilizaram combinações de amplitudes dos canais S e V, para identificar e segmentar tecidos externos, medula e feixes vasculares em imagens histológicas de colmos de milho. Por outro lado, Legland *et al.* (2017) realizaram a segmentação de diferentes regiões do tecido utilizando os canais H e L (luminância, do CIELab).

No presente trabalho, o floroglucinol produz uma coloração rosa-cereja ou fúcsia, sendo que a intensidade da cor varia com o grau de lignificação, o que torna possível explorar atributos relacionados à saturação, que mede a pureza ou intensidade da cor em uma imagem, e à predominância relativa do componente vermelho como critérios para a segmentação das regiões lignificadas.

O coeficiente de determinação da reta ajustada entre o número de pixels segmentados pelos métodos propostos comparativamente ao método de referência (ImageJ) foi superior a 0,99, tanto para o canal S () quanto para o . Entretanto, esse ajuste deve ser interpretado com cautela. A utilização isolada do canal S permitiu identificar as regiões de maior intensidade cromática nas imagens histológicas, resultando, todavia, em superestimativas da quantidade de pixels classificados como pertencentes aos tecidos de interesse comparativamente aos determinados pelo ImageJ em todas as amostras (Figura 2). As diferenças relativas variaram de aproximadamente 11,7% a 34,3%, com erro relativo médio de 20,2%. Isso indica que a saturação, embora seja sensível à intensidade da coloração produzida pelo floroglucinol, não é suficientemente específica para discriminar exclusivamente as regiões lignificadas.

Figura 2: Pixels associados aos tecidos lignificados em imagens histológicas (n=10) de colmos de cana-de-açúcar corados com floroglucinol, a partir da segmentação utilizando o canal S (saturação, à esquerda) ou o índice ExR (excesso de vermelho, à esquerda).



Fonte: Elaborado pelos autores, 2026.

Isso decorre do fato de que regiões com elevada saturação, mas que não apresentam necessariamente a coloração rosa-cereja característica da reação do floroglucinol com a lignina, podem ser incorporadas à máscara de segmentação. Esse efeito torna-se particularmente relevante em imagens histológicas, nas quais variações relacionadas à espessura do corte, concentração do corante, condições de iluminação e aquisição da imagem podem alterar substancialmente a intensidade cromática observada.

Em contraste, a utilização do índice ExR apresentou maior correspondência com as segmentações obtidas pelo ImageJ. Considerando-se o ImageJ como referência e empregando-se o mesmo critério de cálculo do erro relativo para todas as imagens, as diferenças do ExR variaram aproximadamente entre -2,5 e 3,1%, enquanto o erro absoluto médio foi de apenas 2,34%. Além disso, todas as imagens apresentaram diferenças absolutas inferiores a 5%, evidenciando maior estabilidade do método diante da variabilidade existente entre as amostras histológicas analisadas.

O melhor desempenho do ExR pode ser explicado pela sua própria formulação,

uma vez que esse índice realça a contribuição relativa do vermelho em relação aos demais componentes da imagem. Essa característica é particularmente adequada para imagens coradas com floroglucinol, onde o ExR tende a privilegiar especificamente os pixels nos quais há predominância do componente cromático, reduzindo a inclusão de estruturas intensamente coloridas, porém não associadas ao tecido lignificado.

Assim, a utilização do ExR permitiu intensificar o contraste entre os tecidos lignificados e as demais estruturas anatômicas presentes nos segmentos de entrenós da cana. A partir dessa diferenciação, as etapas subsequentes puderam ser aplicadas sobre uma representação da imagem mais específica para o alvo de interesse, favorecendo a obtenção de máscaras com maior correspondência em relação à segmentação realizada no ImageJ.

Consequentemente, o método proposto apresenta potencial para substituir ou complementar procedimentos manuais de quantificação, especialmente quando muitas imagens histológicas necessitam ser processado. Além de reduzir o tempo necessário para a avaliação de muitas amostras, essa abordagem pode minimizar a subjetividade associada à identificação visual e à delimitação dos tecidos, favorecendo a obtenção de informações quantitativas sobre a distribuição, organização e proporção de tecidos lignificados nas estruturas vegetais.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os métodos avaliados apresentaram elevada associação com as quantificações obtidas no ImageJ. Entretanto, o índice ExR apresentou maior concordância com o método de referência, com diferenças relativas entre -2,5% e 3,1% e erro absoluto médio de 2,34%, enquanto o canal S apresentou tendência à superestimação das regiões lignificadas. Assim, nas condições avaliadas, o ExR mostrou-se mais adequado para a segmentação e quantificação automatizada de tecidos lignificados em colmos de cana-de-açúcar, apresentando potencial para tornar a análise mais objetiva, automatizada e menos dependente de procedimentos manuais.

REFERÊNCIAS

- AGARWAL, A.; COLWELL, F. J.; GALVIS, V. A. C.; HILL, T. R.; BOONHAM, N.; PRASHAR, A. **Two-fold red excess (TReX): a simple and novel digital color index that enables non-invasive real-time monitoring of green-leaved as well as anthocyanin-rich crops.** *Plant Methods*, v. 21, art. 24, 2025. DOI: 10.1186/s13007-025-01339-y.
- BARELLI, F. C. **Introdução à visão computacional: uma abordagem prática com Python e OpenCV.** São Paulo: Casa do Código, 2019.
- BLAND, J. M.; ALTMAN, D. G. **Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement.** *The Lancet*, v. 327, n. 8476, p. 307–310, 1986. DOI: 10.1016/S0140-6736(86)90837-8.
- BRIENZO, M.; ABUD, Y.; FERREIRA, S.; CORRALES, R. C. N. R.; FERREIRA-LEITÃO,

V. S.; DE SOUZA, W.; SANT'ANNA, C. **Characterization of anatomy, lignin distribution, and response to pretreatments of sugarcane culm node and internode**. *Industrial Crops and Products*, v. 84, p. 305–313, 2016. DOI: 10.1016/j.indcrop.2016.01.039.

CHAMBINGO, I. F.; BERTIN, M. G.; SILUPU, W. M. C.; BAESSO, M. M.; PEREIRA, L. E. T.; TECH, A. R. B. **Leaf Image Segmentation in Urochloa Pastures: A Comparative Analysis of Preprocessing Strategies Using Smartphone Imagery**. *AgriEngineering*, v. 8, p. 1–20, 2026

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Cana como forragem**. 2022. Conteúdo atualizado em 21 fev. 2022. Acesso em: 26 abr. 2026.

GALLINARI, R. H.; LYCZAKOWSKI, J. J.; LLERENA, J. P. P.; MAYER, J. L. S.; RABELO, S. C.; TEIXEIRA, M. M.; DUPREE, P.; ARAUJO, P. **Silencing ScGUX2 reduces xylan glucuronidation and improves biomass saccharification in sugarcane**. *Plant Biotechnology Journal*, v. 22, p. 587–601, 2024. DOI: 10.1111/pbi.14207.

HWANG, S.-W.; SUGIYAMA, J. **Computer vision-based wood identification and its expansion and contribution potentials in wood science: a review**. *Plant Methods*, v. 17, art. 47, 2021. DOI: 10.1186/s13007-021-00746-1.

LI, X.; LIU, Z.; WU, H.; YU, Z.; MENG, J.; ZHAO, H.; DENG, X.; SU, Y.; CHEN, B.; LI, R. **Four sugarcane ScDIR genes contribute to lignin biosynthesis and disease resistance to *Sporisorium scitamineum***. *Phytopathology Research*, v. 6, art. 17, 2024. DOI: 10.1186/s42483-024-00237-w.

LEGLAND, D.; EL-HAGE, F.; MÉCHIN, V.; REYMOND, M. **Histological quantification of maize stem sections from FASGA-stained images**. *Plant Methods*, v. 13, art. 84, 2017. DOI: 10.1186/s13007-017-0225-z.

LOPEZ-MARNET, P.-L.; GUILLAUME, S.; MÉCHIN, V.; REYMOND, M. **A robust and efficient automatic method to segment maize FASGA stained stem cross section images to accurately quantify histological profile**. *Plant Methods*, v. 18, art. 125, 2022. DOI: 10.1186/s13007-022-00957-0.

LOTUFO, R. A.; AUDIGIER, R.; SAÚDE, A. V.; MACHADO, R. C. **Morphological Image Processing**. *Microscope Image Processing*. Elsevier Inc., 2023. p. 75-117. DOI: 10.1016/B978-0-12-821049-9.00012-5.

MARQUES, J. P. R.; AFERRI, G.; MONTANHA, G. S.; GUEDES, F. T. P.; SOARES, M. M.; MUNIZ, L. F.; TOMAZELLO-FILHO, M.; XAVIER, M. A.; DE CARVALHO, H. W. P. **Sugarcane as a forage plant: structural and chemical traits that affect fiber quality**. *BioResources*, v. 16, n. 4, p. 7623–7634, 2021. DOI: 10.15376/biores.16.4.7623-7634.

MARQUES, J. P. R.; HOY, J. W.; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; VIVEROS, A. F. G.; VIEIRA, M. L. C.; BAISAKH, N. **Sugarcane cell wall-associated defense responses to infection by *Sporisorium scitamineum***. *Frontiers in Plant Science*, v. 9, art. 698, 2018. DOI: 10.3389/fpls.2018.00698.

MARQUES, J. P. R.; SOARES, M. K. M. **Manual de técnicas aplicadas à histopatologia vegetal**. Piracicaba: FEALQ, 2021.

TEDESCHI, L. O.; ADAMS, J. M.; VIEIRA, R. A. M. **Forages and Pastures Symposium: revisiting mechanisms, methods, and models for altering forage cell wall utilization for ruminants**. Journal of Animal Science, v. 101, p. 1–21, 2023. DOI: 10.1093/jas/skad009

OTSU, N. **A threshold selection method from gray-level histograms**. IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics, v. 9, n. 1, p. 62–66, 1979. DOI: 10.1109/TSMC.1979.4310076.