



# IV Colóquio Nacional de Horticultura Biológica



Faro, 17 a 19 de março de 2016



## **FICHA TÉCNICA**

**Título:** IV Colóquio Nacional de Horticultura Biológica

**Coleção:** Actas Portuguesas de Horticultura, N.º 25

### **Propriedade e edição**

Associação Portuguesa de Horticultura (APH)

Rua da Junqueira, 299, 1300-338 Lisboa

<http://www.aphorticultura.pt>

### **Editores**

Isabel de Maria Mourão

Amílcar Duarte

Maria Elvira Ferreira

Luís Miguel Brito

**Grafismo da capa:** Ludovico Silva, Gabinete de Comunicação da Universidade do Algarve

**Impressão:** Setor de Reprodução Documental da Universidade do Algarve

**Tiragem:** 250 exemplares

**ISBN:** 978-972-8936-18-1

**Ano:** 2016

# Potencialidades e limitações da utilização de aparelhos portáteis na avaliação do estado nutricional das plantas

Sandra Afonso, Margarida Arrobas, Clara Pinheiro, Isabel Q. Ferreira, M. Ângelo Rodrigues

Centro de Investigação de Montanha (CIMO), ESA - Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, Ap. 1172, 5301-855 Bragança, Portugal, angelor@ipb.pt

## Resumo

Os equipamentos portáteis que permitem recolher informação no campo sem amostragem destrutiva são ferramentas úteis na avaliação de parâmetros diversos da performance das plantas. Em agricultura biológica o seu uso será particularmente importante dado o desafio que este meio de produção impõe na nutrição mineral das plantas. Dois aparelhos com aparente potencial são o medidor de clorofila SPAD-502, que fornece estimativas do teor de clorofila das folhas e o FieldScout CM1000, que estima o índice de vegetação NDVI (Normalized Difference Vegetation Index), relacionável com o estado geral dos cobertos. Neste trabalho, apresentam-se resultados da reprodutibilidade dos equipamentos quando usados por diferentes operadores, da relação entre os resultados dos dois equipamentos obtidos sobre os mesmos tecidos vegetais e da relação dos resultados dos aparelhos com a concentração de N nas folhas. Os resultados revelaram boa reprodutibilidade dos valores de clorofila SPAD e NDVI quando a amostra incluiu folhas verdes, ligeiramente cloróticas e cloróticas. Quando a amostra foi apenas composta por folhas verdes o NDVI apresentou baixa reprodutibilidade. A relação entre os valores SPAD e NDVI revelou uma curva de saturação do segundo, indicando reduzida sensibilidade do aparelho na gama de folhas com coloração verde "normal". A relação dos valores SPAD com a concentração de N nas folhas apresentou igualmente uma curva de saturação. Consequentemente, a relação do NDVI com a concentração de N nas folhas foi fraca devido à rápida saturação do NDVI para folhas com coloração verde normal.

**Palavras-chave:** medidor de clorofila SPAD-502; FieldScout CM1000 NDVI; concentração de azoto nas folhas

## Abstract

### Potential and limitations of portable equipment to assess plant nutritional status

Portable equipment that allows obtaining data in the field without destructive sampling is useful tools in the evaluation of various parameters of plant performance. In organic farming their use is particularly important given the challenge that this production system imposes on mineral nutrition of plants. Two sensors of apparent potential are the SPAD-502 chlorophyll meter, which provides estimates of leaf chlorophyll content and FieldScout CM1000, which estimates the Normalized Difference Vegetation Index (NDVI), relatable with the general state of the canopy. In this paper we present results of the reproducibility of the sensors when used by different operators, the relationship between the results of the two sensors obtain on the same plant tissues and the relation of the result of the sensors with leaf N concentration. The results showed good reproducibility of chlorophyll SPAD values and NDVI when the sample included green, slightly chlorotic and chlorotic leaves. When the sample was only composed of green leaves NDVI showed lower reproducibility. The relationship between SPAD values and NDVI showed a saturation curve of the second, indicating reduced sensitivity of the sensor when operates with leaves of "normal" green coloration. The relationship of the SPAD values with the leaf N concentration presented also a saturation curve. Hence, the relationship of NDVI with leaf N concentration was low due to the rapid saturation of NDVI by leaves of normal green coloration.

**Keywords:** SPAD-502 chlorophyll meter; FieldScout CM1000 NDVI; nitrogen concentration in leaves

## Introdução

Os equipamentos portáteis têm vindo a ganhar grande popularidade por permitirem de uma forma rápida, não dispendiosa e não destrutiva obter informação relativa ao estado de nutrição azotada das plantas. Dois aparelhos com aparente potencial científico são o medidor de clorofila

SPAD-502 Plus, que fornece estimativas do teor de clorofila das folhas, e o FieldScout CM1000, que estima o índice de vegetação NDVI (Normalized Difference Vegetation Index), relacionável com o estado geral do coberto.

O medidor SPAD-502 Plus estima o teor de clorofila das folhas através da medição da transmitância da radiação em dois comprimentos de onda, na zona do vermelho e do infravermelho. Tem sido observado que existe uma relação frequentemente linear entre o teor de clorofila e o teor de N nos tecidos foliares, permitindo que estes equipamentos sejam utilizados para estimar o teor de clorofila e a concentração de N nos tecidos (Dwyer et al., 1991; Chang & Robison, 2003; Berg & Perkins, 2004; Netto et al., 2005; Pinkard & Mohammed, 2006; Azia & Stewart, 2007; Hawkins et al., 2009; Dray et al., 2012). O Fieldscout CM1000 avalia a luz ambiente e a luz refletida pela planta em diferentes comprimentos de onda, fornecendo um índice de vegetação NDVI, muito utilizado para avaliar o estado geral de cobertos vegetais. O aparelho foi já utilizado com relativo sucesso no auxílio do diagnóstico do estado nutricional das plantas e da recomendação de fertilização (Murdock et al., 2004; López-Bellido et al., 2012; Mahajan et al., 2014).

Não obstante as vantagens na utilização destes equipamentos, apresentam também limitações. A principal limitação será, porventura, a menor fiabilidade dos resultados, comparativamente com métodos laboratoriais padrão. Os valores das leituras SPAD são afetados por vários fatores para além da concentração de clorofila, como a espessura da folha, posição da leitura na folha, diferentes estádios fenológicos da cultura, data de amostragem, danificação das folhas pela herbívoros, entre outros (Chang & Robison, 2003; Dray et al., 2012). Outra limitação dos valores SPAD e NDVI é o facto de apresentarem uma curva de saturação para plantas com concentrações elevadas de clorofila (Gitelson et al., 1996; Muñoz-Huerta et al., 2013).

O conhecimento das capacidades e limitações destes equipamentos permitirá maximizar o seu potencial de utilização. A agricultura biológica é um contexto interessante para o uso destes aparelhos, dada a necessidade particular de se monitorizar o estado nutricional das plantas devido à restrição no uso de fertilizantes. O presente trabalho teve por objetivos: i) comparar a reprodutibilidade dos resultados dos aparelhos SPAD-502 Plus e FieldScout CM1000 quando utilizados por diferentes operadores; e ii) verificar a relação entre os valores SPAD e o índice NDVI com a concentração de N nos tecidos foliares. Para o efeito efetuaram-se leituras com o medidor de clorofila SPAD-502 e com o equipamento FieldScout CM1000 em diferentes espécies fruteiras, designadamente, pessegueiro, cerejeira, ameixeira, pereira e nogueira. Em simultâneo recolheu-se material vegetal para análise laboratorial.

## **Material e métodos**

### *Material vegetal*

A investigação decorreu durante o ano de 2015 e incidiu sobre diversas espécies fruteiras. As leituras com os equipamentos portáteis foram realizadas em junho, julho e setembro sobre folhas verdes, levemente cloróticas e cloróticas, tentando simular carências nutricionais, tal como pode acontecer em agricultura biológica. Subamostras semelhantes foram colhidas para posterior análise laboratorial.

### *Equipamentos portáteis*

Foram utilizados o medidor SPAD-502 Plus e o FieldScout CM1000. O medidor portátil SPAD-502 estima o teor de clorofila nos tecidos foliares medindo a transmitância de luz através da folha nos comprimentos de onda de 650 nm (luz vermelha, absorvida pela clorofila) e 940 nm (luz infravermelha, sem absorção de clorofila). O medidor fornece um valor adimensional proporcional ao teor de clorofila da folha (Minolta Camera Co. Ltd., 2009). Efetuaram-se cerca de 15 leituras em cada uma das três repetições dentro da mesma espécie fruteira. O medidor FieldScout CM1000 lê comprimentos de onda de 660 nm e 840 nm. O aparelho emite um feixe de luz sobre a folha e fornece um índice de vegetação NDVI. O índice de vegetação é calculado por comparação entre a luz refletida nos dois comprimentos de onda, de acordo a seguinte expressão:  $NDVI = (Radiação_{infravermelho\ próximo} - Radiação_{vermelho}) / (Radiação_{infravermelho\ próximo} + Radiação_{vermelho})$  (Gitelson et al., 1996). As leituras foram efetuadas seguindo o mesmo procedimento observado para as leituras SPAD. Para além da utilização dos aparelhos por diferentes operadores, no caso do FieldScout CM1000 NDVI foram ainda registadas leituras utilizando diferentes ângulos entre a superfície da folha e a incidência do feixe de luz (90°, 45° e concavidade em U).

### *Determinação laboratorial da concentração de azoto nas folhas*

As amostras de folhas foram colocadas em estufa de ventilação forçada regulada a 70°C. Depois de secas foram moídas e a concentração de N nos tecidos foi determinada pelo método Kjeldahl.

O método consiste na digestão ácida da amostra, com arrastamento do ião amónio numa corrente de vapor e titulado posteriormente com ácido clorídrico.

## **Resultados e discussão**

### *Reprodutibilidade dos aparelhos quando utilizados por diferentes operadores*

O medidor Fieldscout CM1000 demonstrou menor capacidade de discriminação tendo aproximado os valores das folhas com ligeira clorose e verde normal (fig. 1).

Em leituras realizadas por diferentes operadores, no mesmo local de cada folha, em folhas de cerejeira com diferentes graus de clorose, foi possível obter relações lineares, tanto para valores SPAD como para valores NDVI (fig. 2b, 2d). Quando a amostra foi composta de apenas folhas verdes normais, foi ainda possível obter uma relação linear significativa com o aparelho SPAD-502 mas não com o FieldScout CM 1000 (fig. 2a, 2c). Muñoz-Huerta et al. (2013) e Marsh (2014) sugerem que as leituras SPAD deveriam ser efetuadas no ponto médio de cada folha a fim de se obterem resultados mais consistentes. Isto pode ser sobretudo importante no caso de folhas com coloração heterogênea como acontece neste trabalho.

O medidor Fieldscout CM1000 usa um sistema de raios laser que o operador direciona e fixa com a ajuda de um gatilho para efetuar a leitura no local pretendido. Consoante o ângulo utilizado para fixar o raio laser, os valores das leituras poderão divergir. Em regra sugere-se que se utilize um ângulo de 90°. Na comparação entre leituras obtidas com o medidor Fieldscout CM1000 por diferentes operadores, quando se utilizaram diferentes ângulos de leitura (90°, 45°, côncavo-U) em folhas verdes de cerejeira, o ângulo côncavo foi aquele em que se obteve melhor relação entre as leituras, seguido do ângulo de 90° e o ângulo de 45° com a pior relação (fig. 3a, 3c, 3e). Nas mesmas circunstâncias, para leituras em folhas de cerejeira com diferentes graus de clorose, a melhor relação obteve-se para o ângulo de 90° e a pior para o ângulo côncavo (fig. 3b, 3d, 3f).

### *Relação entre valores SPAD e NDVI*

Os resultados revelaram uma relação curvilínea de saturação entre os valores SPAD e NDVI quando a amostra incluiu folhas com diferentes graus de clorose, devido à saturação mais rápida dos valores NDVI (fig. 4). Também em outros estudos (Gitelson et al., 1996; Huete et al., 1997), o NDVI demonstrou falta de sensibilidade em folhas com coloração verde normal, resultando da relação entre os dois indicadores uma curva de saturação para o NDVI. Também Richardson et al. (2002) verificaram que o NDVI apresentou relações não lineares com o teor de clorofila, revelando ser incapaz de diferenciar diferentes níveis de clorofila, exceto quando estes eram muito baixos.

### *Relação entre valores SPAD e NDVI com a concentração de N nas folhas*

Os valores SPAD e NDVI apresentaram uma curva de saturação ligeira e marcada respetivamente com o teor de N nas folhas (fig. 5). Valores SPAD e NDVI não serão adequados para estimar a concentração de N em folhas de culturas excessivamente fertilizadas, devido à saturação da clorofila, tal como observado por Gitelson et al. (1996) e Muñoz-Huerta et al. (2013). Espécies diferentes mostraram curvas de resposta entre SPAD e NDVI diferentes (fig. 5), sugerindo que a relação entre os indicadores terá de ser estabelecida por espécie vegetal.

Os resultados de Basyouni & Goad (2015) apresentaram padrão idêntico, tendo as leituras SPAD apresentado melhor correlação com o teor de N nas folhas em comparação com as leituras NDVI. Outros autores obtiveram, igualmente, boas correlações entre as leituras SPAD e o teor de N em diferentes culturas (Nielsen et al., 1995; Porro et al., 2001; Chang & Robison, 2003; Dray et al., 2012; Marsh, 2014), embora com variações para diferentes cultivares e estados fenológicos. Os resultados, no entanto, não são consensuais entre todos os investigadores. Pinkard et al. (2006) obtiveram correlações fracas entre o teor de N e as leituras SPAD para cultivares de eucalipto e Sibley et al. (1996) para cultivares de macieira.

## **Conclusões**

Os resultados revelaram boa reprodutibilidade dos valores SPAD e NDVI quando a amostra incluiu folhas verdes, ligeiramente cloróticas e cloróticas. O medidor Fieldscout CM1000 demonstrou menor capacidade de discriminação na zona do verde intenso e maior variabilidade na utilização por diferentes operadores relativamente ao medidor de clorofila SPAD. Em regra, o ângulo de 90° usado para o NDVI produziu resultados mais consistentes. A relação dos valores SPAD e NDVI com a concentração de N nas folhas apresentou, respetivamente, ligeira e acentuada curva de saturação. Folhas de espécies diferentes mostraram curvas de resposta entre SPAD e NDVI diferentes, sugerindo que a relação entre os indicadores terá de ser estabelecida por espécie vegetal.

## Referências

- Azia, F. & Stewart, K.A. 2001. Relationship between extractable chlorophyll and SPAD values in muskmelon leaves. *Journal of Plant Nutrition*, Abingdon 24:961-966.
- Basyouni, R., Dunn, B.L. & Goad, C. 2015. Use of nondestructive sensors to assess nitrogen status in potted poinsettia (*Euphorbia pulcherrima* L. (Willd. ex Klotzsch)) production. *Scientia Horticulturae* 192:47-53.
- Berg, A.K. & Perkins, T.D. 2004. Evaluation of a portable chlorophyll meter to estimate chlorophyll and nitrogen contents in sugar maple (*Acer saccharum* Marsh.) leaves. *Forest Ecology and Management* 200:113-117.
- Chang, S.X. & Robison, D.S. 2003. Nondestructive and rapid estimation of hardwood foliar nitrogen status using the SPAD-502 chlorophyll meter. *Forest Ecology and Management* 181:331-338.
- Dray Jr, F.A., Centera, T.D. & Mattison, E.D. 2012. In situ estimates of waterhyacinth leaf tissue nitrogen using a SPAD-502 chlorophyll meter. *Aquatic Botany* 100:72-75.
- Dwyer, L.M., Tollenaar, M. & Houwing, L. 1991. A nondestructive method to monitor leaf greenness in corn. *Canadian Journal of Plant Science* 71:505-509.
- Gitelson, A.A., Kaufman, Y.J. & Merzlyak, M.N. 1996. Use of a Green Channel in Remote Sensing of Global Vegetation from EOS-MODIS. *Remote Sensing of Environment* 58:289-298
- Hawkins, T.S., Gardiner, E.S. & Comer, G.S. 2009. Modeling the relationship between extractable chlorophyll and SPAD-502 readings for endangered plant species research. *Journal for Nature Conservation* 17:123-127.
- Huete, A.R., Liu, H.Q., Batchily, K. & Leeuwen, W. 1997. A comparison of vegetation indices over a global set of TM images for EOS-MODIS. *Remote Sensing of Environment* 59:440-451.
- López-Bellido, R.J., López-Bellido, L., Fernández-García, P., López-Bellido, J.M., Muñoz-Romero, V., López-Bellido, P.J. & Calvache, S. 2012. Nitrogen remote diagnosis in a creeping bentgrass golf green. *European Journal of Agronomy* 37:23-30.
- Mahajan, G.R., Pandey, R.N., Kumar, D., Datta, S.C., Sahoo, R.N. & Parsad, R. 2014. Development of critical values for the leaf color chart, SPAD and FieldScout CM 1000 for fixed time adjustable nitrogen management in aromatic hybrid rice (*oryza sativa* L.). *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 45:1877-1893.
- Marsh, B.H. 2014. Use of chlorophyll meters to assess in-season wheat nitrogen fertilizer requirements in the Southern San Joaquin Valley. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 8(10):1092-1096.
- Minolta Camera Co. Ltd. 2009. Chlorophyll meter SPAD-502Plus. Minolta, Osaka, Japan.
- Muñoz-Huerta, R.F., Guevara-Gonzalez, R.G., Contreras-Medina, L., Torres-Pacheco, I., Prado-Olivarez, J. & Ocampo-Velazquez, R.V. 2013. A Review of methods for sensing the nitrogen status in plants: advantages, disadvantages and recent advances. In Review. *Sensors* 13:10823-10843.
- Murdock, L., Call, D. & James, J. 2004. Comparison and use of chlorophyll meters on wheat (reflectance vs. transmittance/absorbance). Cooperative Extension Service. AGR - 181. University of Kentucky - College of Agriculture.
- Neilsen, D., Hogue, E.J., Neilsen, G.H. & Parchomchuk, P. 1995. Using SPAD-502 values to assess the nitrogen status of apple trees. *HortScience* 30:508-512.
- Netto, A.T., Campostrini, E., Gonçalves de Oliveira, J. & Bressan-Smith, R.E. 2005. Photosynthetic pigments, nitrogen, chlorophyll a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. *Scientia Horticulturae* 104:199-209.
- Pinkard, E.A., Patel, V. & Mohammed, C. 2006. Chlorophyll and nitrogen determination for plantation-grown *Eucalyptus nitens* and *E. globulus* using a non-destructive meter. *Forest Ecology and Management* 223:211-217.
- Porro, D., Dorigatti, C., Stefanini, M. & Ceschini, A. 2001. Use of SPAD meter in diagnosis of nutritional status in apple and grapevine. *Acta Horticulturae* 564:243-252.
- Richardson, A.D., Duigan, S.P. & Berlyn, G.P. 2002. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New Phytologist* 153:185-194.
- Sibley, J.L., Eakes, D.J., Gilliam, C.H., Keever, G.J., Dozier Jr., W.A. & Himelrick, D.G. 1996. Foliar SPAD-502 meter values, nitrogen levels, and extractable chlorophyll for red maple selections. *HortScience* 31(3):468-470.

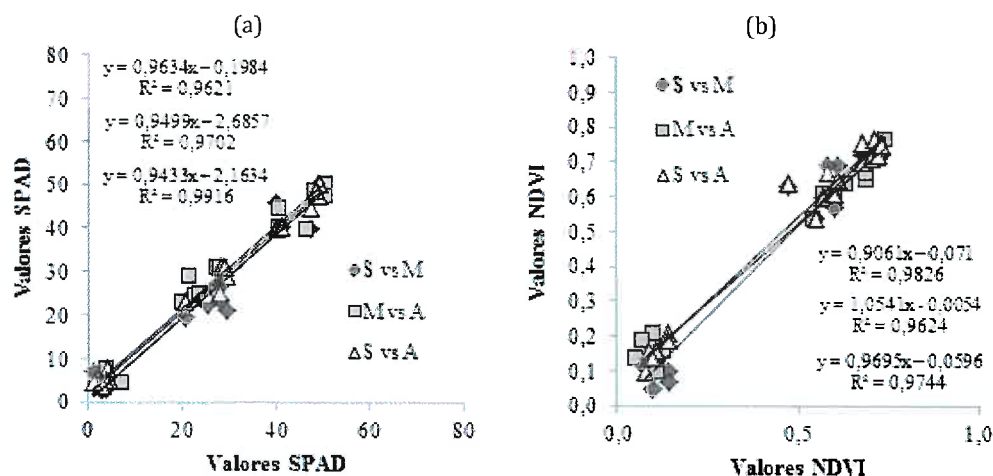


Figura 1 – Valores SPAD (a) e NDVI (b) obtidos por diferentes operadores (S, M, A) em folhas verdes, com clorose ligeira e cloróticas de pessegueiro e ameixeira (correlações significativas para  $p < 0,01$ ).

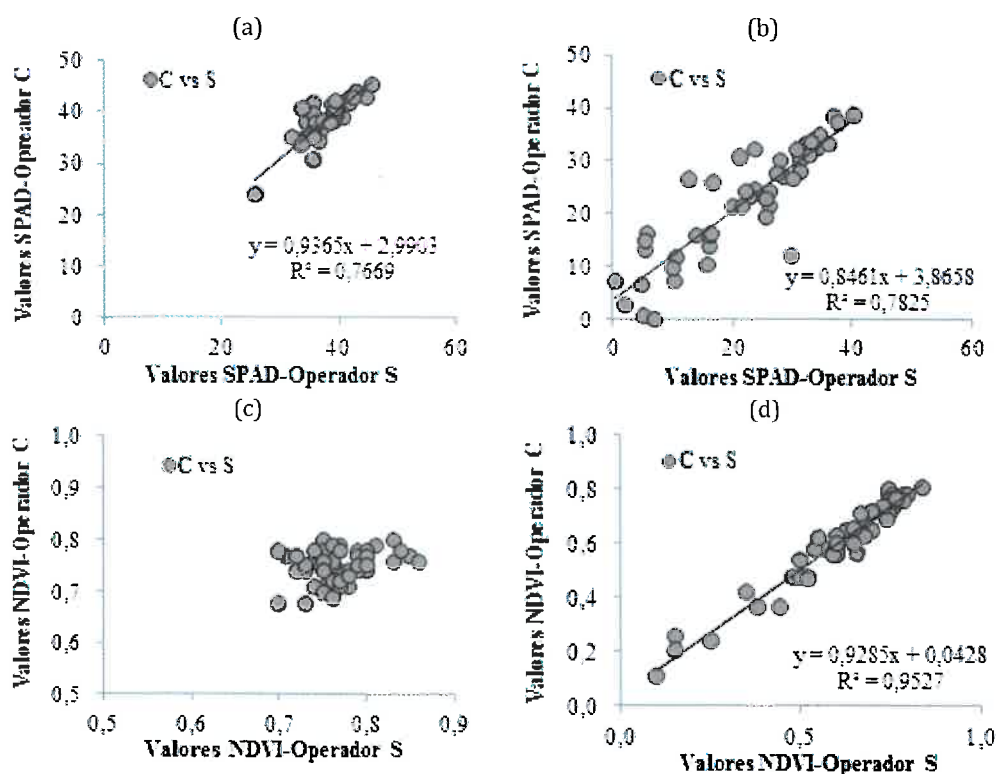


Figura 2 – Relação entre valores SPAD obtidos por diferentes operadores (C, S) em folhas de cerejeira verdes (a) e com diferentes graus de clorose (b) e entre valores NDVI obtidos por diferentes operadores (C, S), em folhas de cerejeira verdes (c) e com diferentes graus de clorose (d) (correlações significativas para  $p < 0,01$ ).

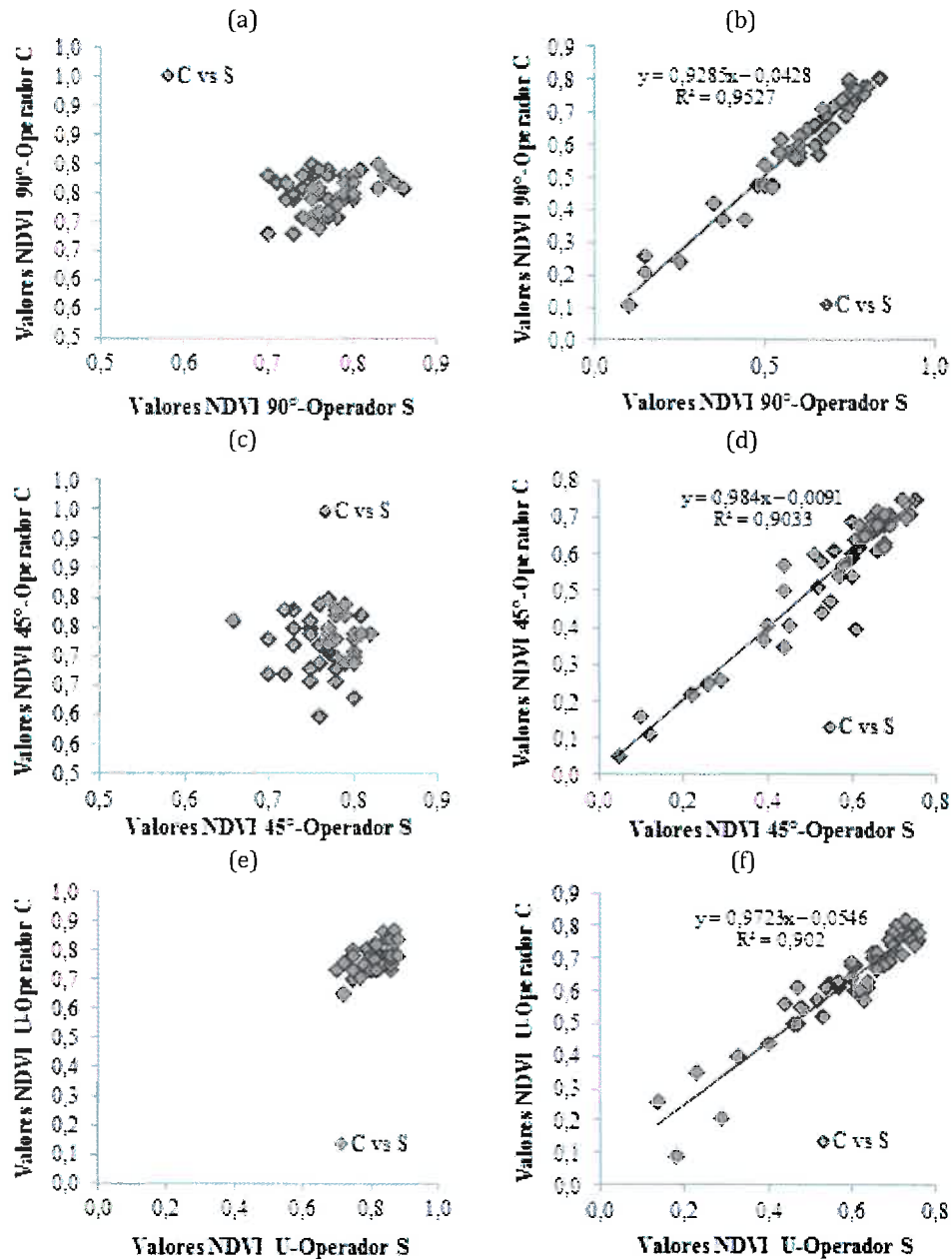


Figura 3 – Relação entre valores NDVI obtidos por diferentes operadores (C, S), em folhas de cerejeira: (a) e (b), leitura a 90°, em folhas verdes e folhas com diferentes graus de clorose, respetivamente; (c) e (d), leitura a 45°, em folhas verdes e folhas com diferentes graus de clorose, respetivamente; (e) e (f), leitura em ângulo côncavo (U), em folhas verdes e folhas com diferentes graus de clorose respetivamente (correlações significativas para  $p < 0,01$ ).

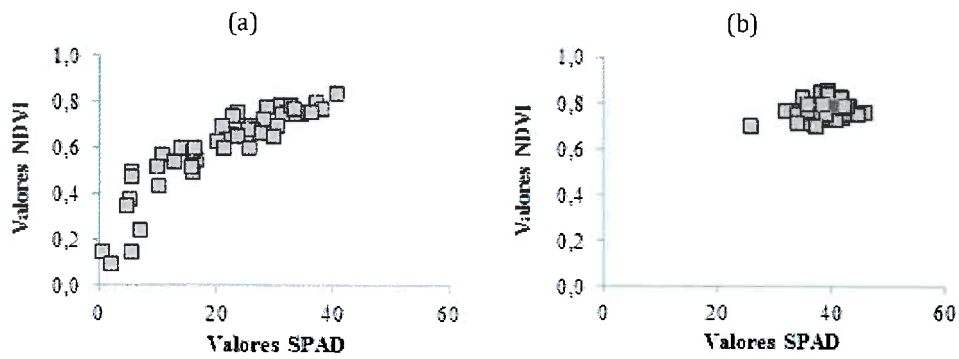


Figura 4 – Valores SPAD e NDVI obtidos em folhas de cerejeira com diferentes graus de clorose (a) e folhas com coloração “normal” (b).

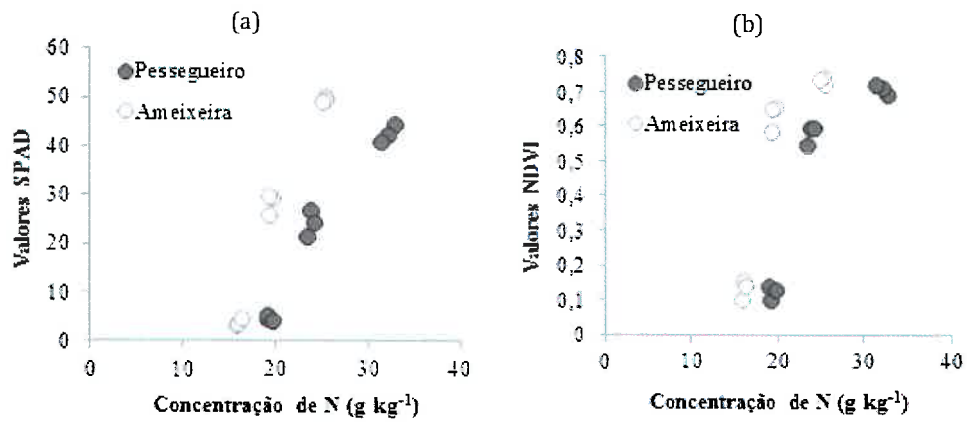


Figura 5 – Relação entre valores SPAD e concentração de N (a) e valores NDVI e concentração de N (b) em folhas verdes, com clorose ligeira e cloróticas de pessegueiro e ameixeira.