

Revista Brasileira de Cartografia (2016), Nº 68/7: 1307-1409
Sociedade Brasileira de Cartografia, Geodésia, Fotogrametria e Sensoriamento Remoto
ISSN: 1808-0936

RESPOSTA ESPECTRAL DE DOSSÉIS DE SOJA EM FUNÇÃO DE CONCENTRAÇÕES DE CLOROFILAS

*Spectral Response of Soybean Canopies as a Function
of Chlorophyll Concentrations*

**Joceli Augusto Gross¹, Felipe Correa dos Santos¹, Gustavo Rodrigues Toniolo²,
William Gaida¹, Waterloo Pereira Filho¹ & Fábio Marcelo Breunig¹**

¹Universidade Federal de Santa Maria – UFSM

Centro de Ciências Naturais e Exatas; Departamento de Geociências; Curso de Geografia

Av. Roraima, nº 1000, Cidade Universitária, Camobi - Santa Maria-RS

{gross_joceli_augusto, felipecorrea_rs}@hotmail.com, williamgaida@yahoo.com.br,

{waterloopf, fabiobreunig}@gmail.com;

²Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS

Centro Estadual de Pesquisas em Sensoriamento Remoto e Meteorologia

Avenida Paulo Gama, nº 110, Bairro Farroupilha, Porto Alegre, RS, Brasil

gustavotoniolo1@gmail.com

Recebido em 15 de Novembro, 2015/ Aceito em 8 de Abril, 2016

Received on November 15, 2015/ Accepted on April 8, 2016

RESUMO

O objetivo foi avaliar as mudanças na resposta espectral da soja frente a evolução da concentração de clorofila na cultura da soja. O estudo foi conduzido em uma área experimental com as variedades BMX POTÊNCIA RR e CD 219 RR. Foram realizadas quatro campanhas de campo para a coleta de dados espectrais e de folíolos de soja para a determinação das concentrações de clorofilas. Sobre os dados foram aplicadas as análises de correlação e ANOVA para avaliar a diferença entre as coletas e estimar a concentração de clorofila a partir de dados espectrais. Os resultados mostraram uma diminuição da concentração de clorofila de dois meses após o plantio até o quarto mês. A reflectância diminuiu com a diminuição da concentração de clorofila principalmente nas faixas de 450 nm à 520 nm e de 630 nm à 690 nm. A reflectância da soja é alterada significativamente ($\alpha=0,05$) pela variação da concentração de clorofila principalmente nos comprimentos de onda de 520 nm, 631 nm e 690 nm. A variedade de ciclo longo CD 219 RR apresentou uma diminuição da reflectância do segundo ao quarto mês. A BMX POTÊNCIA RR (ciclo curto) teve um leve aumento da reflectância do vermelho do terceiro para o quarto mês. Diferenças sutis entre variedades de ciclo curto e longo foram capturadas pela espectrorradiometria especialmente na faixa espectral entre o verde e o vermelho. As análises de correlação mostraram que é possível estimar a concentração de clorofila-b, com acurácia de até 82%, utilizando o comprimento de onda de 555 nm.

Palavras chave: Reflectância, Estimativa, Modelagem, Espectrorradiometria, Desenvolvimento Fisiológico.

ABSTRACT

The objective was to analyze the influence of chlorophyll content on the spectral response of soybean. The study was conducted in an experimental area with the varieties BMX POTÊNCIA RR and CD 219 RR. Four field campaigns

were conducted to collect the reflectance and leaflets to chlorophyll determination. Correlation and ANOVA analysis were performed to evaluate the statistic differences between the soybean stages, and to estimate the chlorophyll concentration using spectral data. The results showed a decrease of chlorophyll concentration from two months after planting until the fourth month. Reflectance decreased as a function of chlorophyll concentration decrease, mainly in the 450-520 nm and 630-690 nm wavebands. Soybean reflectance significantly ($\alpha=0.05$) changed due chlorophyll concentration mostly at 520 nm, 631 nm and 690 nm. The long cycle variety CD 219 RR showed a decrease from the second to the fourth month. The BMX POTÊNCIA RR (short cycle) presented a slight increase of the reflectance at the red region from the third to the fourth month. Subtle differences among sort and long cycle varieties were found by the spectroradiometry, above all at the green and red regions. Correlation analysis showed that is possible to estimate the chlorophyll-b concentration in soybean, with an accuracy up to 82%, using the 555 nm wavelength.

Keywords: Reflectance, Estimative, Modelling, Spectroradiometry, Physiological Development.

1. INTRODUÇÃO

A obtenção de informações a partir do sensoriamento remoto exige o conhecimento dos padrões de resposta espectral dos alvos e dos fatores que interferem nesta resposta (NOVO, 1988). A reflectância da vegetação é condicionada principalmente pelas propriedades físicas, químicas e biológicas da planta, das características do dossel, características do desenvolvimento, calendário agrícola, práticas de manejo, aspectos regionais, geometria de iluminação e visada (HAMADA *et al.*, 2007; NARUMALANI *et al.*, 2009; GALVÃO *et al.*, 2011; BREUNIG *et al.*, 2013).

A clorofila é um dos principais pigmentos das plantas e tem sido objeto de investigação em várias pesquisas relacionadas ao uso do sensoriamento remoto (BANNARI *et al.*, 2008; LI *et al.*, 2008; HABOUDANE *et al.*, 2008; SMITH *et al.*, 2008). Variações em sua concentração, nas folhas vegetais, por exemplo, ocasionam variações na reflectância espectral (GOEL, 1988; READ *et al.*, 2003), principalmente na região do visível (PONZONI & SHIMABUKURO, 2007; FERET *et al.*, 2008; JACQUEMOUD *et al.*, 2009). Essas variações de concentração, são indicativos de estresses e do estágio fisiológico da planta, e podem ser observadas por sensores remotos (BLACKBURN, 2006).

Segundo Jensen (2009) existem duas regiões ótimas para a observação das características de absorção da radiação pelas clorofilas: 450 a 520 nm e 630 a 690 nm. No entanto, Lichtenthaler *et al.* (1996) e Ferri (2002) constataram que um aumento na concentração de clorofila a mais de 30 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ não influenciou significativamente nos valores de reflectância, que tiveram mínima variância na faixa do espectro de 670 a 680 nm,

o que indica a possibilidade de outros fatores influenciarem a reflectância na região do visível.

No Brasil, a soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma das principais commodities agrícolas e responsável por boa parte do superávit primário do país (CONAB, 2010). Nas últimas décadas tem apresentado um rápido crescimento da área plantada e da produtividade (LIMA & MAY, 2005). No Rio Grande do Sul, Rudorff *et al.* (2007) e Rizzi *et al.* (2006) mostraram o potencial do sensoriamento remoto para estimar a área plantada e monitorar cultivos de soja. Entretanto, a avaliação da dinâmica da concentração de clorofila ao longo do desenvolvimento da soja, bem como as diferenças espectrais entre espécies precoces e tardias carecem de uma avaliação.

Frente ao exposto, o estudo teve como objetivo avaliar as mudanças na resposta espectral da soja frente as suas concentrações de clorofilas. De forma complementar foram avaliadas as diferenças que espécies de ciclo curto e longo podem apresentar na resposta espectral, considerando o estágio fisiológico e concentração de clorofila. Por fim, o estudo visou utilizar a resposta espectral para estimar as concentrações de clorofila na soja.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em uma área experimental de 100 m² cultivada com duas variedades de soja pelo Departamento de Fitotecnia no campus da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) em Santa Maria - RS (Figura 1). O clima desta área é subtropical tipo Cfa de acordo com a classificação de Köppen-Geiger. Ao longo do experimento foi realizado o controle de solo, fitossanitário e hídrico. Duas variedades de soja, a BMX POTÊNCIA RR e a CD 219 RR foram analisadas. As duas variedades

são transgênicas e estão disponíveis no mercado, sendo a primeira de ciclo produtivo curto e a outra de ciclo longo.

Na área foram realizadas as medidas de espectrorradiometria e a coleta de amostras de folhas para a determinação das concentrações das clorofilas a, b, a+b e total. As coletas de dados iniciaram 30 dias após a emergência das plantas e seguiram-se mensalmente até o centésimo vigésimo terceiro dia de desenvolvimento das cultivares. As coletas de dados foram realizadas nos dias 05/11/2013, 05/12/2013, 09/01/2014 e 05/02/2014. O horário das medidas radiométricas foi das 11:00 às 12:00 horas (Horário de verão), devido ao ângulo de elevação solar. Os dados espectrais em campo foram obtidos com a utilização do espectrorradiômetro *FieldSpec® HandHeld* (ASD Inc., 2008) com faixa de operação entre 325 nm a 1075 nm e *field of view* (FOV) de 25°. A unidade foi posicionada ao nadir a distância de 1 metro do alvo (dossel) o que perfaz um *ground instantaneous field of view* (GIFOV) de 44,5 cm de diâmetro (0,156 m²). A partir destas medidas foi obtido o Fator de Reflectância Bidirecional (ρ) (SCHAEPMAN-STRUB *et al.*, 2006), que é a razão entre a radiância espectral da amostra (cultura) e da placa de referência (Spectralon com superfície Lambertiana) medidas nas mesmas condições

de geometria de iluminação e observação. Considerando que foram identificadas as reflectâncias em 20 pontos amostrais o banco de dados consistiu em 200 espectros de reflectância para cada variedade de soja em cada uma das quatro coletas de dados.

A extração das clorofilas seguiu a metodologia descrita por Whitham *et al.* (1971). As amostras foliares coletadas em campo foram armazenadas em sacos plásticos e acondicionadas em caixa de isopor com gelo e ao abrigo da luz visando evitar a degradação. Estas foram imediatamente transportadas para o laboratório, onde realizou-se o processo de extração dos pigmentos.

Em cada ponto de coleta de espectros de reflectância foram coletados dois folíolos, com o intuito de se obter uma repetição amostral da concentração de clorofilas totalizando 80 folíolos (40 para cada variedade de soja) em cada campanha de coleta. Destes foram recortados retângulos com dimensões de 2,0 cm por 2,5 cm. Os recortes foram pesados em balança de precisão e acondicionados em tubos de ensaio com tampa, contendo 10 ml de acetona 80% e em seguida colocados em ambiente protegido da luz sob temperatura de 4°C por um período de 24 horas para extração dos pigmentos.

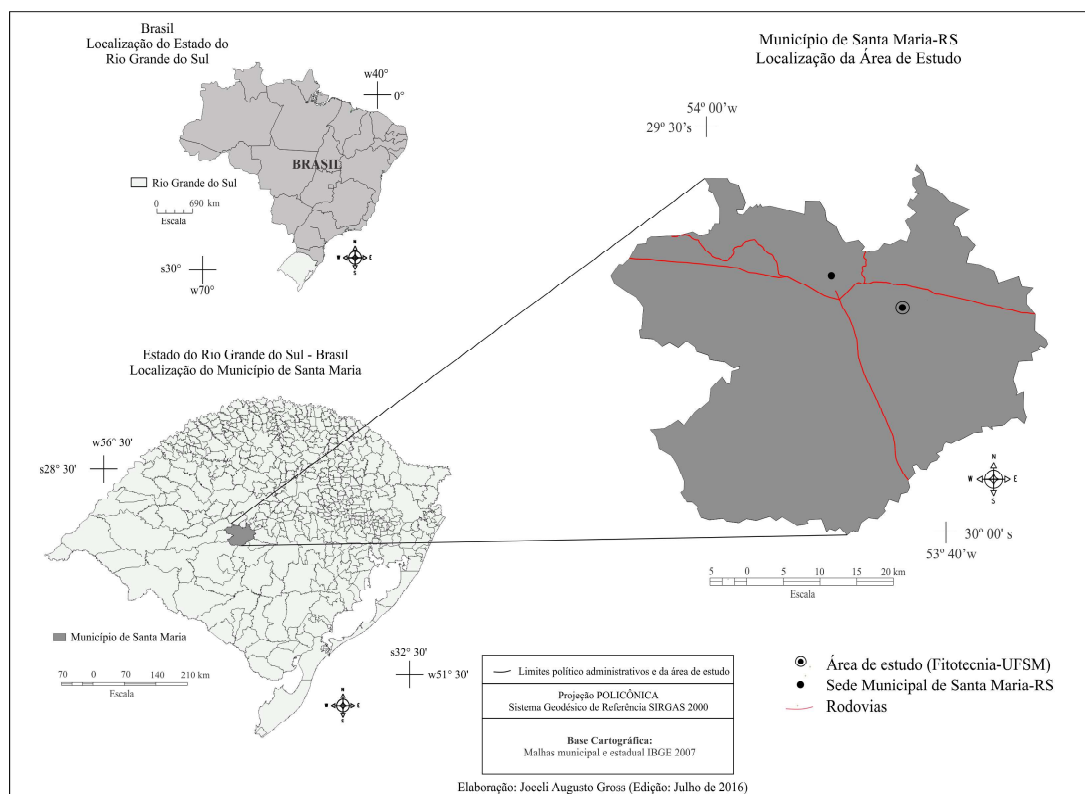


Fig. 1 - Localização da área de estudo.

A determinação das concentrações de clorofilas foi realizada com auxílio de espectrofotômetro Bell 1105 modelo SF325NM com faixa de operação entre 325 a 1000 nm. Para a leitura no espectrofotômetro foram retirados os tubos da refrigeração, sendo removido o sobrenadante com uma pipeta e colocadas nas cubetas do espectrofotômetro. As leituras de absorbância das amostras foram efetuadas nos comprimentos de onda de 645, 652, 663 nm. Para o cálculo das concentrações (mg/g) dos pigmentos fotossintéticos, as clorofilas *a*, *b*, *a+b* e *total* foram levadas em consideração as medições do espectrofotômetro, o peso da amostra e o volume de acetona utilizado, conforme apresentado nas equações 1, 2 e 3.

$$\text{Chla} = \frac{(12,7 \cdot A_{663} - 2,69 \cdot A_{645})V}{1000 \text{ MMF}} \quad (1)$$

$$\text{Chlb} = \frac{(22,9 \cdot A_{645} - 4,68 \cdot A_{663})V}{1000 \text{ MMF}} \quad (2)$$

$$\text{Chlt} = \left[\left(\frac{A_{652} \cdot 1000}{34,5} \right) * \left(\frac{10}{1000 \cdot \text{MMF}} \right) \right] \quad (3)$$

onde:

Chla = Clorofila a (mg/g);

Chlb = Clorofila b (mg/g);

Chlt = Clorofila total (mg/g);

A = absorbância no comprimento de onda indicado

V = volume final do extrato clorofila - acetona

MMF = massa de matéria fresca em gramas do material vegetal utilizado;

Para clorofila a+b = Chla+Chlb (mg/g);

Para a análise dos dados realizou-se inicialmente uma estatística descritiva, quando calculou-se as médias de concentrações de clorofilas e da reflectância para cada coleta de dados e avaliou-se os espectros médios das duas variedades de soja. Posteriormente os dados foram submetidos as análises de correlação e de variância (ANOVA). Para a análise de correlação entre as variáveis, considerou-se os dados de cada ponto amostral, totalizando 60 pontos (n=60) sendo 20 por coleta de dados para cada variedade de soja (primeira coleta foi desconsiderada devido a contaminação espectral associada ao substrato). Esta análise foi realizada para os dados de reflectância de

regiões do espectro do visível destacadas por Jensen (2009), consideradas como ótimas para observações das características de absorção da radiação pelas clorofilas: reflectância para a faixa de 450 a 520 nm e de 630 nm a 690 nm. Inicialmente a análise foi efetuada considerando a média da reflectância de cada uma destas faixas e, posteriormente, para todos os comprimentos de onda contidos nesses intervalos espectrais afim de identificar as melhores correlações com os dados de clorofilas.

Para a efetuação da ANOVA primeiramente realizou-se o teste de Bartlett para verificar a homogeneidade das variâncias das amostras considerando $\alpha=0,05$. A normalidade das observações foi verificada utilizando-se do teste de Shapiro-Wilk nos dados de reflectância dos comprimentos de onda especificados na metodologia para análise de correlação. A ANOVA foi aplicada para evidenciar as diferenças de reflectância decorrentes das variações nas concentrações médias de clorofila. Neste sentido, considerou-se a reflectância espectral dependente das concentrações de clorofila, e cada coleta de dados com um tratamento. Em cada tratamento, as amostras compreenderam 20 valores de reflectância decorrentes dos 20 pontos amostrais sobre os dosséis de ambas as variedades de soja analisadas. A análise estatística foi conduzida para as duas variedades de forma independente. O teste de Tukey foi aplicado a um nível de significância de 95% para comparar as médias das amostras de dados de reflectância considerando a variável tempo em três diferentes níveis, ou seja, entre as amostras da segunda e terceira coletas de dados, da segunda e quarta, e da terceira e quarta coletas.

Por fim, para analisar o potencial do uso do sensoriamento remoto para estudar variedades de ciclo curto e longo foi realizada uma análise comparativa dos espectros de reflectância e os dados de clorofila, no sentido de estimar esse parâmetro bioquímico da soja a partir de dados de espectrorradiometria. A partir da geração do modelo de estimativa foram realizados os testes de normalidade dos resíduos, de Shapiro-Wilk, Anderson Darling, Kolmogorov-Smirnov e Ryan-Joiner e de homoscedasticidade dos resíduos de Goldfeld Quandt, Breusch Pagan, Brown Forsythe e Cochran. Os testes foram realizados para $\alpha=0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O desenvolvimento das cultivares de soja entre as campanhas de coleta de dados podem ser visualizados na Figura 2. Na primeira coleta realizada no dia 05/11/2013 as cultivares ainda apresentavam muitas folhas jovens em desenvolvimento e espaços consideráveis entre fileiras e plantas, onde observou-se solo exposto e restos de palhas secas provavelmente do cultivo anterior (substrato). O fechamento do dossel foi verificado a partir da segunda coleta de dados realizada no dia 05/12/2013, quando se observou maior quantidade de folhas em camadas sobrepostas. Nas coletas realizadas nos dias 09/01/2014 e 05/02/2014 verificou-se maior crescimento em ambas as variedades (aumento de biomassa), no entanto, a variedade CD 219 RR apresentou crescimento superior a BMX POTÊNCIA RR, provavelmente devido ao fato de que esta variedade tem ciclo produtivo longo, sujeita ao maior crescimento vegetativo (Figura 2). A partir da terceira coleta, a tonalidade de verde escuro predomina em ambos os dosséis.

As concentrações de clorofilas *a* (Fig. 3a), *b* (Fig. 3b), *a+b* (Fig. 3c), e *total* (Fig. 3d) para as duas variedades de soja apresentaram aumento dos valores até a segunda coleta de dados e posteriormente decréscimo até a quarta coleta, em concordância com os resultados reportados por Ferri *et al.* (2004) para a cultivar de soja IAC 17. Quando comparadas as concentrações de clorofilas das duas variedades de soja observaram-se maiores concentrações destes pigmentos na variedade CD 219 RR até a terceira coleta de dados (Fig. 3). Isso pode indicar uma melhor capacidade de fixação de nitrogênio e maior produtividade primária bruta (GITELSON *et al.*, 2005). No entanto, o aumento das concentrações de clorofilas da primeira para a segunda coleta de dados foi maior para a variedade BMX POTÊNCIA RR. Este fato pode estar associado ao desenvolvimento mais rápido da planta (ciclo curto). Na quarta coleta de dados as concentrações de clorofilas foram semelhantes em ambas as variedades de soja com leve superioridade nos valores da variedade BMX POTÊNCIA RR.

A reflectância da soja tem relação com o desenvolvimento fenológico da cultura (GALVÃO *et al.*, 2011). Neste estudo, verificou-se uma contínua diminuição da reflectância para a faixa do visível (400 a 700 nm) à medida que

a concentração de clorofila diminui (Figura 4). Cabe destacar que o estudo não considerou as variações do índice de área foliar (IAF) e outros parâmetros que podem interferir (efeito do dossel, atmosfera, geometria de iluminação)

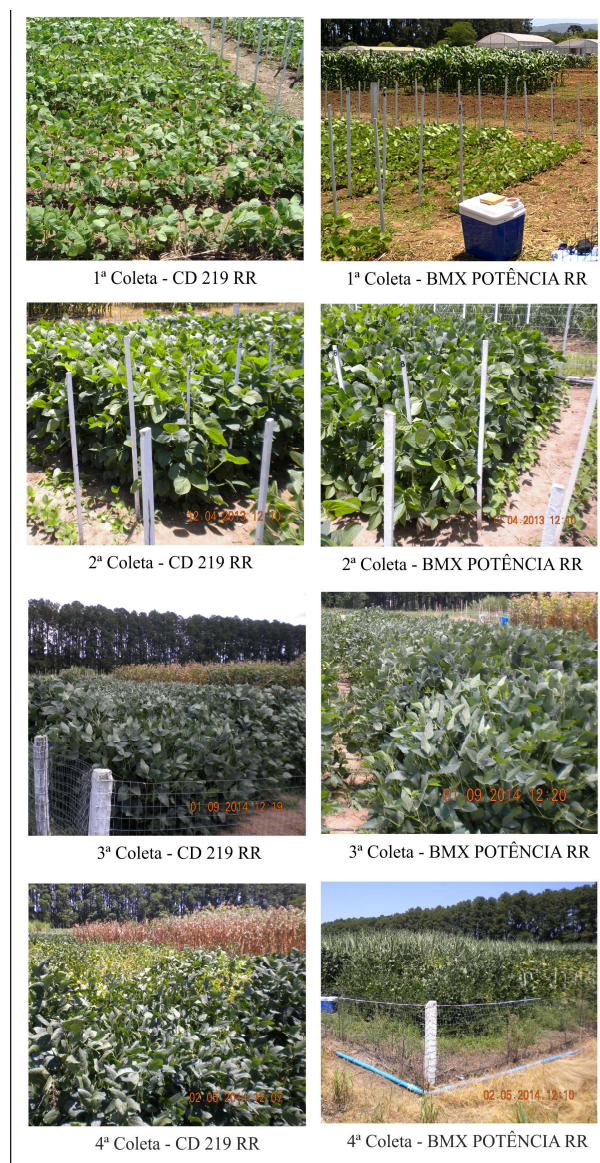


Fig. 2 - Fotografias capturadas nas quatro campanhas de coleta de dados em área cultivada com soja, junto ao Departamento de Fitotecnia no Campus da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), no sul do Brasil. O período de senescência da soja não foi avaliado. Fonte das fotografias: Joceli Augusto Gross

A partir da segunda coleta de dados foi possível observar a influência do fechamento do dossel (Figura 2) e do aumento da concentração de clorofila (Figura 3) sobre a reflectância espectral (Figura 4), bem como o aumento da biomassa foliar (não medida). Verificou-se que a

resposta espectral apresenta feições de absorção mais pronunciadas e com mínimas variações dos percentuais de reflectância da segunda para a terceira coleta, evidenciando uma maior homogeneidade da reflectância com o fechamento do dossel (WALTERSHEA & BLAD, 1989; EPIPHANIO & HUETE, 1995; BREUNIG *et al.*, 2011). Desconsiderando a primeira coleta, a variedade de ciclo longo CD 219 RR (Fig. 4a) apresentou uma contínua diminuição da reflectância na região do visível, sendo que na faixa de 630 e 690 nm observou-se reflectâncias médias de 2,6%, 1,9% e 1,7% para segunda, terceira e quarta coletas, respectivamente e de 450 a 520 nm verificou-se 2,4%, 1,8% e 1,6%, destaca-se também a faixa espectral do verde onde observou-se claramente a diminuição da reflectância da segunda para a terceira e quarta coleta de dados.

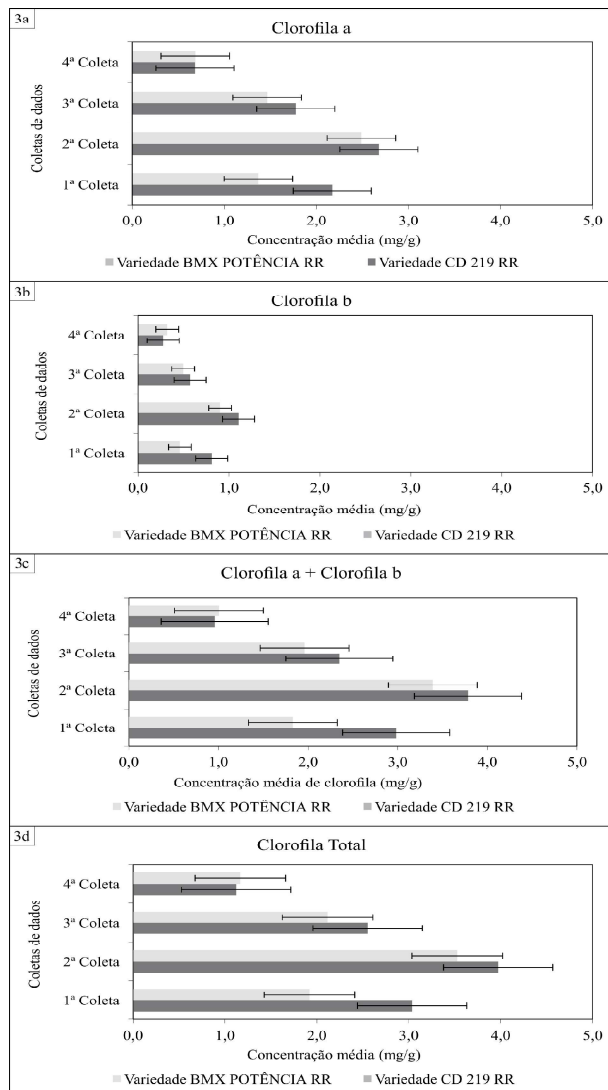


Fig. 3 - Variação das concentrações de (a) clorofila a; (b) clorofila b; (c) clorofila a+b e; (d) clorofila total ao longo do desenvolvimento vegetativo de duas variedades de soja no sul do Brasil.

Por outro lado, quando a variedade de ciclo curto BMX POTÊNCIA RR é avaliada para o mesmo intervalo (Figura 4b), verifica-se uma redução da reflectância da segunda para a terceira campanha de campo (2,5% para 2,1%) e um aumento proporcional da terceira para a quarta campanha de campo (2,1% para 2,5%) na faixa espectral entre o verde e o vermelho, concordando com o observado na Figura 3b e Figura 3d. Isto é um indício de que a resposta espectral de variedades de ciclo curto e longo é diferente e levanta a possibilidade de discriminação destas variedades com espectrorradiometria de campo.

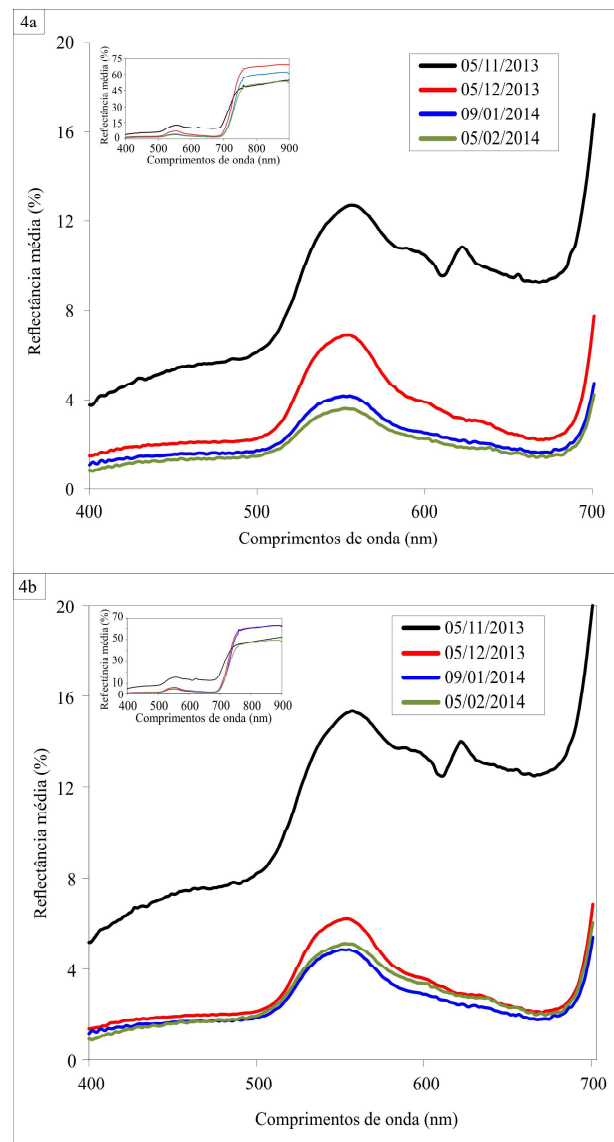


Fig. 4 - Variação dos espectros de reflectância para as variedades de soja CD 219 RR (4a) e BMX POTÊNCIA RR (4b) ao longo dos quatro períodos avaliados. Os espectros referem-se a média de 20 amostras para cada variedade. A faixa espectral de 400 a 900 nm é apresentada em menor destaque dentro de cada figura.

O teste de *Bartlett* resultou em p-valor $0,2219 > \alpha=0,05$ e para o teste de *Shapiro-Wilk* o menor p-valor verificado foi de $0,083826$, portanto, todos os p-valor $> \alpha=0,05$, sendo a hipótese H_0 aceita, as variâncias são homogêneas e a distribuição dos dados é normal. Os testes foram aplicados sobre os dados reflectância médios e comprimentos de onda específicos (458 nm, 474 nm, 520nm, 631 nm, 682 nm e

690 nm) das faixas de 450 a 520 nm e de 630 a 690 nm.

Na Tabela 1 estão expostos os resultados sintetizados da ANOVA para os dados de reflectância da variedade de soja CD 219 RR e BMX POTÊNCIA RR para as faixas do espectro de 450-520 nm, 630-690 nm e para os comprimentos de onda de 458 nm, 474 nm, 520 nm, 631 nm, 682 nm e 690 nm.

Tabela 1: Síntese dos resultados da análise de variância⁽¹⁾ (ANOVA) para as duas variedades de soja estudadas em função da concentração de clorofila

Faixa espectral - variedade	Resultados ANOVA		
	F	ValorP	Fct*
450 a 520 nm - CD 219 RR	65,44	<0,01	3,16
630 a 690 nm - CD 219 RR	67,20	<0,01	3,16
458 nm - CD 219 RR	65,22	<0,01	3,16
474 nm - CD 219 RR	66,61	<0,01	3,16
520 nm - CD 219 RR	100,53	<0,01	3,16
631 nm - CD 219 RR	85,66	<0,01	3,16
682 nm - CD 219 RR	72,31	<0,01	3,16
690 nm - CD 219 RR	84,86	<0,01	3,16
450 a 520 nm - BMX POTÊNCIA RR	3,60	<0,01	3,16
630 a 690 nm - BMX POTÊNCIA RR	3,49	<0,01	3,16
458 nm - BMX POTÊNCIA RR	6,26	<0,01	3,16
474 nm - BMX POTÊNCIA RR	4,65	<0,01	3,16
520 nm - BMX POTÊNCIA RR	5,76	<0,01	3,16
631 nm - BMX POTÊNCIA RR	3,99	<0,01	3,16
682 nm - BMX POTÊNCIA RR	3,21	<0,01	3,16
690 nm - BMX POTÊNCIA RR	3,29	<0,01	3,16

⁽¹⁾ Para a análise de variância foi considerado o nível de significância $\alpha=0,05$. * (Fct = F crítico).

Estas avaliações possibilitaram a não aceitação da hipótese H_0 (com $F_{\text{crítico}} < F_{\text{cal}}$ e p-valor $< \alpha=0,05$) em todas as situações. Este resultado indica que as clorofilas influenciaram significativamente os valores de reflectância ao longo de desenvolvimento de ambas as cultivares. Em especial, para a variedade de soja BMX POTÊNCIA RR as variâncias foram menores indicando uma tendência de estacionaridade ou variância mínima dos valores de reflectância em função da concentração de clorofila.

Com base nos resultados obtidos com a análise de variância ANOVA buscou-se identificar entre quais amostras as diferenças das médias foram maiores. Para esta análise aplicou-se o teste *t* de *Student* para duas amostras presumindo

variâncias equivalentes. Para a variedade CD 219 RR ficou demonstrado que ocorreram diferenças entre as médias de todas as amostras. No entanto, destaca-se que para as amostras adquiridas na terceira e quarta coleta de dados observou-se as menores diferenças entre as médias, o que também foi verificado entre os espectros de reflectância apresentados na Figura 4a. Por outro lado, para a variedade BMX POTÊNCIA RR observou-se que da terceira para a quarta coleta de dados as médias de reflectância não diferiram para as faixas do espectro e comprimentos de onda específicos analisados. No teste de Tukey observou-se resultados similares a um nível de significância de 95%. Para a variedade CD 219 RR a hipótese de igualdade das médias de todas

as amostras foi rejeitada. Para a variedade BMX POTÊNCIA RR, a hipótese de igualdade entre as médias das amostras da terceira e quarta coleta de dados foi aceita. Estes resultados, evidenciam a não influência dos decréscimos de concentração de clorofilas para explicar as variações de reflectância, principalmente para os comprimentos de onda de 630 a 690 nm.

Considerando que os valores de reflectância da variedade de soja BMX POTÊNCIA RR tiveram variância mínima em função das concentrações de clorofila, na faixa do espectro de 630 a 690 nm, buscou-se iniciar a ANOVA a partir de comprimentos de onda maiores. Nesta avaliação, verificou-se que de 641 a 690 nm a hipótese H_0 pode ser aceita, com $F_{\text{crítico}} 3,158843 > F_{\text{cal}} 3,153242$ e p-valor $0,050253 > \alpha=0,05$, sendo que, as diminuições nas concentrações de clorofila, da segunda para a quarta coleta de dados (3,53 mg/g para 1,14 mg/g para clorofila total) não ocasionaram variações significativas na reflectância espectral nesta faixa do espectro. Resultados similares, em comprimentos de onda dentro desta mesma faixa do espectro foram verificados por *Lichtenthaler et al.* (1996) e *Ferri* (2002) porém com a observação de um aumento na concentração de clorofila a mais de $30\mu\text{g}/\text{cm}^2$, que ocasionou mínima variância na reflectância de 670 a 680 nm, o que indica a possibilidade de outros fatores também manterem influência sobre a reflectância na região do visível como já ressaltado na introdução do presente trabalho.

Na análise de correlação entre as médias dos valores de reflectância, das faixas do espectro de 450 a 520 nm e de 630 a 690 nm, e dados de concentração de clorofilas *a*, *b*, *a+b* e *total* observou-se os maiores coeficientes de determinação (R^2) na variedade de soja CD 219 RR. Considerando-se esta variedade de soja e a reflectância média de 450 a 520 nm o maior R^2 calculado foi de 0,5252 (Figura 5a) com a concentração de clorofila *b*. Para a reflectância média de 630 a 690 nm da variedade CD 219 RR o maior R^2 foi de 0,514 com a clorofila *b* (Figura 5b). Estes valores explicam 72% e 71% da variância considerando o maior e o menor R^2 observados, respectivamente, e são estatisticamente significativos para $\alpha=0,001$.

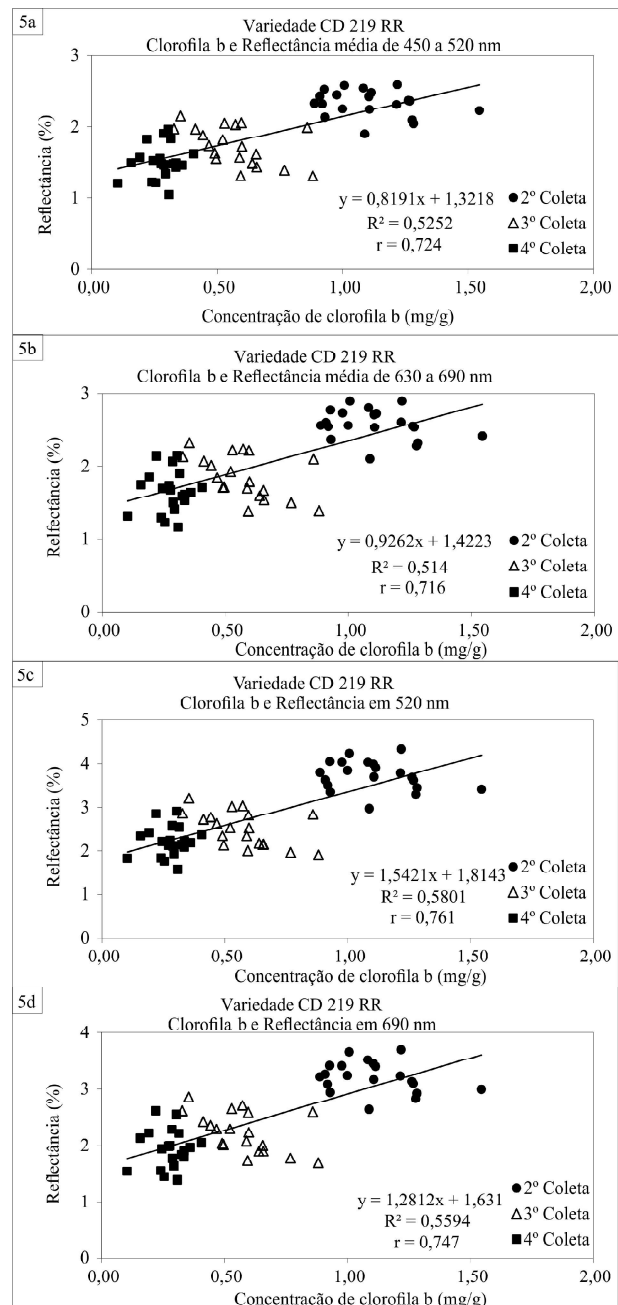


Fig. 5 - Análise de correlação entre concentrações de clorofilas e reflectância espectral de 450 a 520 nm e 630 a 690 nm, e para os dados de comprimentos de onda em 520 nm e 690 nm da variedade de soja CD 219 RR.

Considerando todos os comprimentos de onda isoladamente dentro das faixas do espectro de 450 a 520 nm e de 630 a 690 nm os maiores coeficientes de determinação, $R^2=0,5801$ e $R^2= 0,5594$, para os dados da variedade CD 219 RR foram verificados entre a clorofila *b* e a reflectância em 520 nm e 690 nm, respectivamente (Fig. 5c; Fig. 5d). Estes

valores explicam de 76% a 75% da variância e são estatisticamente significativos para $\alpha=0,001$. Destaca-se que os coeficientes de correlação (r) gerados a partir dos dados de concentração de clorofila b e reflectância foram maiores para todos os comprimentos de onda da faixa de 450 nm a 700 nm (Fig. 6a).

Os maiores R^2 para os dados da variedade de soja BMX POTÊNCIA RR, em comprimentos de onda das faixas de 450 a 520 nm e de 630 a 690 nm foram $R^2=0,1152$ e $R^2=0,1301$, que resultaram de polinômios de segunda ordem entre reflectância em 458 nm e clorofila a e b, respectivamente. Estes resultados não são estatisticamente significativos e indicam a possível presença de uma tendência nos dados, ou então, o período de coleta dos dados não capturou toda variabilidade que a variedade apresenta no seu ciclo fisiológico.

Na Figura 6a estão expostas as correlações entre os valores de reflectância em todos os comprimentos de onda da faixa de 400 nm a 900 nm e os dados de clorofila a, b, a+b e total para a variedade de soja CD 219 RR.

Em toda a faixa do espectro analisado, as correlações obtidas com os dados da variedade CD 219 RR foram positivas e significativas para $\alpha = 0,001$ (Figura 6a), onde se destacaram as correlações dos dados de reflectância com os de concentração de clorofila b em toda a faixa do espectro de 450 nm a 700 nm, especialmente o coeficiente de correlação ($R=0,8075$) calculado entre os valores de reflectância em 555 nm (comprimento de onda do verde) e de concentração de clorofila b. Por outro lado, considerando cada tipo de clorofila (a, b, a+b, total) e a faixa de 450 nm a 520 nm e 630 nm a 690 nm destacadas por Jensen (2009) e ainda para os dados da variedade CD 219 RR, os maiores coeficientes de correlação ($r=0,7063$; $r=0,7616$; $r=0,7263$; $r=0,6944$; $r=0,6946$; $r=0,7202$; $r=0,6858$; $r=0,7479$) foram observados entre os dados de reflectância dos comprimentos de onda de 474 nm e clorofila a, de 520 nm e clorofila b, a+b e total, de 631 nm e clorofila a, a+b e total, e entre a reflectância em 690 nm e clorofila b, respectivamente. Para os dados da variedade BMX POTÊNCIA RR (Figura 6b) verificou-se coeficientes de correlação (r) positivos e baixos. Nas faixas de 450 nm a 520 nm e de 630 nm a 690 nm os maiores coeficientes de correlação

($r=0,3065$; $r=0,2745$; $r=0,3036$; $r=0,2595$) foram observados entre os dados de reflectância em 458 nm e clorofila a, b, a+b e total respectivamente.

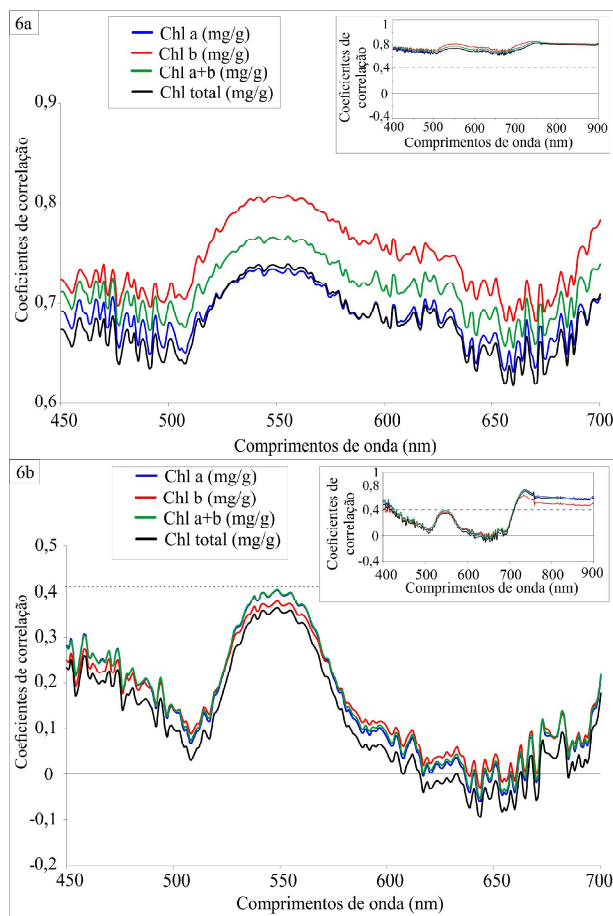


Fig. 6 - Correlogramas entre os valores de reflectância nas faixas de 450 nm a 520 nm e de 630 nm a 690 nm (primeiro plano) e de 400 a 900 nm (menor destaque) e as concentrações (mg/g) de clorofila a, b, a+b e total das variedades de soja CD 219 RR (6a) e BMX POTÊNCIA RR (6b). As linhas pontilhadas marcam os limites dos coeficientes de correlação estatisticamente significativos.

Considerando os resultados obtidos na análise de correlação para a variedade de soja BMX POTÊNCIA RR (não estatisticamente significativos), os modelos lineares de estimativa expostos a seguir (Tabela 2) foram calculados sobre 70% dos dados amostrais da variedade CD 219 RR, sendo os demais 30% reservados para a validação dos modelos. Os cálculos foram realizados considerando os dados de reflectância dos comprimentos de onda com os melhores coeficientes de determinação (R^2) obtidos no

correlacionamento com a clorofila a, b e total dentro das faixas de 450 nm a 520 nm e de 630 nm a 690 nm, como os expostos das Figuras 5c e 5d, além dos valores de reflectância em 555 nm e de clorofila b, sobre o quais obteve-se o maior coeficiente

de correlação ($r = 0,8075$) na faixa do verde na região do visível (Figura 6a). Destaca-se que em todos os casos, os coeficientes de determinação (R^2) calculados na geração dos modelos são significativos para $\alpha=0,001$ (Tabela 2).

Tabela 2: Modelos de regressão e respectivos R^2 gerados a partir dos dados de reflectância e clorofila a, b e total da variedade de soja CD 219 RR

Comprimento de onda (nm)/Variedade/Pigmento	Modelos de Regressão e Coeficiente de determinação	
	Modelos de Regressão	R^2
474 nm / CD 219 RR/Chl - a	$y = 0,0032 * x + 0,0116$	0,489*
631 nm / CD 219 RR/Chl - a	$y = 0,005 * x + 0,0148$	0,472*
520 nm / CD 219 RR/Chl - b	$y = 0,0157 * x + 0,0178$	0,568*
690 nm / CD 219 RR/Chl - b	$y = 0,0135 * x + 0,0156$	0,562*
520 nm / CD 219 RR/Chl - total	$y = 0,0042 * x + 0,0174$	0,480*
631 nm / CD 219 RR/Chl - total	$y = 0,0035 * x + 0,0143$	0,481*
555 nm / CD 219 RR/Chl - b	$y = 0,0347 * x + 0,0258$	0,632*

*(Significativos para $\alpha=0,001$).

Para a validação optou-se por correlacionar os dados de clorofila determinados em laboratório com aqueles estimados pelos modelos lineares da variedade CD 219 RR (Figura 7). O melhor ajuste ($R^2 \approx 0,68$) foi observado para o modelo gerado a partir da reflectância em 555 nm e a concentração de clorofila b determinado em laboratório conforme Figura 7. O $r = 0,822$ calculado é estatisticamente significativo para $\alpha=0,001$. Isso indica a viabilidade do uso dos espectros de reflectância para a estimativa da clorofila b da soja. Destaca-se que a hipótese H_0 para a normalidade dos resíduos foi aceita em todos os testes realizados para $\alpha=0,05$ (Menor p-valor=0,8348>0,05 para o teste de Ryan-Joiner). No entanto, em dois dos quatro testes de homoscedasticidade dos resíduos (Brown Forsythe; Cochran) a hipótese H_0 foi rejeitada, sendo $\alpha=0,05 > p\text{-valor}=0$, indicando que o modelo pode apresentar tendenciosidade relacionada a heteroscedasticidade. Isso implica em um modelo viesado que superestima baixas concentrações de clorofila e subestima as altas concentrações de clorofila.

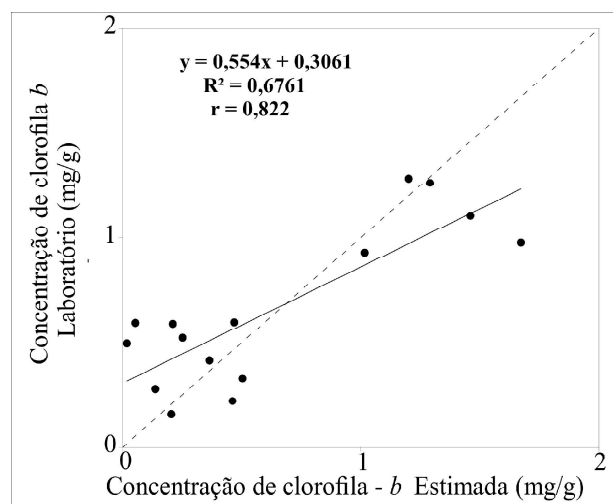


Fig. 7 - Correlação entre clorofila b, estimada por dados de reflectância em 555 nm e, clorofila b determinada a partir de amostras foliares em laboratório.

4. CONCLUSÕES

Verificou-se que ocorre uma redução da concentração de clorofila em ambas as variedades de soja a partir do segundo mês

de desenvolvimento das mesmas. A variedade de ciclo curto BMX POTÊNCIA RR tende a apresentar menores concentrações de clorofila que a variedade de ciclo longo CD 219 RR.

Os valores de reflectância acompanharam as variações da concentração de clorofila para a variedade CD 219 RR, ou seja, a reflectância diminuiu na região do visível a medida que a concentração de clorofila diminuiu.

Para a variedade BMX POTÊNCIA RR foi observado um pequeno aumento da reflectância entre a região do verde e vermelho do terceiro para o quarto mês de desenvolvimento. Isso pode indicar que a reflectância pode ser utilizada para discriminar estas variedades e variedades de ciclo curto e longo.

A concentração de clorofila b foi possível ser estimada para a variedade CD 219 RRR a partir de um modelo linear utilizando o comprimento de onda de 555 nm, obtendo o coeficiente de correlação de 0,82.

Novos estudos, envolvendo mais delineamentos experimentais e variedades, bem como um acompanhamento fenológico detalhado podem auxiliar a entender os padrões de reflectância da soja em função da concentração de clorofila.

AGRADECIMENTOS

Ao departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) pela cooperação para realização dos experimentos. A Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) pelo apoio para a realização do estágio de Pós-doutorado. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (processos 484712/2007-1, 312081/2013-8 e 168869/2014-4) pelo fomento que viabilizou a realização da pesquisa.

Nota: Resultados parciais referentes aos dados de clorofila foram publicados no XVII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto (SBSR) João Pessoa-PB, Brasil, 25 a 29 de abril 2015.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASD Inc. FieldSpec® HandHeld. ASD Inc. 2555 55th Street, Suite 100, Boulder, CO 80301, USA, 2008.

BANNARI, A.; KHURSHID, K.S.; STAENZ, K.; SCHWARZ, J. Potential of hyperion EO-1 hyperspectral data for wheat crop chlorophyll

content estimation, **Canadian Journal of Remote Sensing**, v. 34, 2008. p.139–157.

BLACKBURN, G. A. Hyperspectral Remote Sensing of Plant Pigments. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, 2006. p. 855–67. Disponível em: <<http://jxb.oxfordjournals.org/content/58/4/855.full>>. Acesso em: 14 ago. 2015.

BREUNIG, F. M.; GALVÃO, L. S.; FORMAGGIO, A. R.; EIPHANIO, J. C. N. Directional Effects on NDVI and LAI Retrievals from MODIS: A Case Study in Brazil with Soybean', **International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation**. v. 13, 2011, p. 34–42 Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jag.2010.06.004>>. Acesso em: 22 ago. 2015.

BREUNIG, F. M.; GALVAO, L. S.; FORMAGGIO, A. R.; EIPHANIO, J. C. N. Influence of data acquisition geometry on soybean spectral response simulated by the prosail model. **Engenharia Agrícola [online]**. 2013, v. 33, n.1, p. 176-187. ISSN 0100-6916. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/eagri/v33n1/v33n1a18>> Acesso em: 15 dez. 2014.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira: Grãos - Safra 2009/2010. Brasília, DF Conab, 2010.

EIPHANIO, J. C.N.; HUETE, A. R.; Dependence of NDVI and SAVI on Sun/sensor Geometry and Its Effect on fAPAR Relationships in Alfalfa', **Remote Sensing of Environment**. v. 51 (1995), p. 351–60. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/0034-4257\(94\)00110-9](http://dx.doi.org/10.1016/0034-4257(94)00110-9)>. Acesso em: 17 jul. 2015.

FERET, J-B.; FRANCOIS, C.; ASNER, G. P.; GITELSON, A. A.; MARTIN, R. E.; BIDEL, L. P.R.; and others., PROSPECT-4 and 5: Advances in the Leaf Optical Properties Model Separating Photosynthetic Pigments. **Remote Sensing of Environment**, v. 112 (2008), p. 3030–3043 Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rse.2008.02.012>> Acesso em: 20 ago. 2015.

FERRI, C. P. **Utilização da reflectância espectral para a estimativa de pigmentos fotossintéticos em dosséis de soja**. [glycine max (L.), merril]. S.J. dos Campos, INPE, 2002. 152f.

- Tese (Doutorado em Sensoriamento Remoto) – INPE, São José dos Campos, 2002.
- FERRI, C. P.; FORMAGGIO, A. R.; A. R. SCHIAVINATO; SCHIAVINATO, M. A. Narrow band spectral indexes for chlorophyll determination in soybean canopies (*Glycine max* (L.) Merrill). **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 16, n. 3, p. 131-136, 2004. doi: <10.1590/S1677-04202004000300002>.
- GALVÃO, L. S.; EPIPHANIO, J. C. N.; BREUNIG, F. M.; and FORMAGGIO, A. R. Crop Type Discrimination Using Hyperspectral Data', in **Hyperspectral Remote Sensing of Vegetation**, ed. by Australia Prasad S. Thenkabail, U.S. Geological Survey, Arizona, USA; John G. Lyon, Clifton, Virginia, USA; Alfredo Huete, University of Technology, Sydney, 1st edn (Boca Raton: CRC Press, 2011. p. 397–421. Disponível em: <<http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.1201/b11222-25> >. Acesso em: 01 ago. 2015.
- GITELSON, A. A.; VIÑA, A.; CIGANDA, V.; RUNDQUIST, D. C. and T. J. ARKEBAUER. Remote estimation of canopy chlorophyll content in crops, **Geophysical Research Letters**, v. 32, 2005, L08403, doi:10.1029/2005GL022688. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1029/2005GL022688/pdf>>. Acesso em: 10 jul. 2015.
- GOEL, N. S. Models of vegetation canopy reflectance and their use in estimation of biophysical parameters from reflectance data. **Remote Sensing Reviews**, v. 4, 1988. p. 1- 21.
- HABOUDANE, D.; TREMBLAY, N.; MILLER, J.R.; VIGNEAULT, P.; Remote estimation of crop chlorophyll content using spectral indices derived from hyperspectral data. **IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing**, v. 46, 2008. p. 423–437.
- HAMADA, Y.; STOW, D.A.; COULTER, L.L.; JAFOLLA, J.C.; HENDRICKS, L.W.; Detecting Tamarisk species (*Tamarix* spp.) in riparian habitats of Southern California using high spatial resolution hyperspectral imagery, **Remote Sensing of Environment**, v. 109, 2007. p. 237-248.
- JACQUEMOUD, S.; VERHOEF, W.; BARET, F.; BACOUR, C.; ZARCO-TEJADA, P. J.; ASNER, G. P.; and others. PROSPECT+SAIL Models: A Review of Use for Vegetation Characterization. **Remote Sensing of Environment**, v. 113, 2009. p. 56–66. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.rse.2008.01.026>> Acesso em: 20 ago. 2015.
- JENSEN, J. R. **Sensoriamento remoto do Ambiente: uma perspectiva em recursos terrestres**. 2 ed. Trad. José Carlos Neves Epiphânio. São José dos Campos, SP: Parêntese, 2 ed., 2009. 598 p.
- LICHTENTHALER, H. K.; GITELSON, A. A.; LANG, M. Non-destructive determination of chlorophyll content of leaves of a green and an aurea mutant of tobacco by reflectance measurements. **Journal of Plant Physiology**, v. 148, n.3, 1996. p.483-493.
- LIMA, S. B ; MAY, P. H. A expansão da fronteira agrícola no sul do Amazonas e sua relação com o incremento do desmatamento nas áreas de cerrados e campos naturais. In: **VI Encontro da Sociedade Brasileira de Economia Ecológica - ECOECO**, 2005, Brasília. VI Encontro da Sociedade Brasileira de Economia Ecológica - ECOECO, v. 1, 2005. p 1-25. Disponível em: http://www.ecoeco.org.br/conteudo/publicacoes/encontros/vi_en/artigos/mesa4/Expansao_da_Fronteira_Agricola.pdf . Acesso em: 5 mar. 2014.
- LI, Q.M.; HU, B.X.; PATTEY, E.; A scale-wise model inversion method to retrieve canopy biophysical parameters from hyperspectral remote sensing data, **Canadian Journal of Remote Sensing**, v. 34, 2008. p. 311–319.
- NARUMALANI, S.; MISHRA, D.R.; WILSON, R.; REECE, P.; KOHLER, A. Detecting and mapping four invasive species along the floodplain of North Platte River, Nebraska, **Weed Technology**, v. 23, 2009. p. 99–107.
- NOVO, E. M. L. de M. **Sensoriamento remoto: princípios e aplicações**. 2. ed. São Paulo: E. Blücher, 1988. 308 p.
- PONZONI, F. J.; SHIMABUKURO, Y. E. **Sensoriamento Remoto no estudo da Vegetação**. São José dos Campos, SP: Parêntese. 1ed., 2007. 128 p.
- READ, J. J.; WHALEY, E. L.; TARPLEY, L.; REDDY, R. Evaluation of a hand-held radiometer

- for field determination of nitrogen status in cotton. **American Society of Agronomy. Special Publication Number 66**. 2003. p. 177-195.
- RIZZI, R.; RUDORFF, B. F. T.; ADAMI, M. Estimativa da área de soja no Estado do Rio Grande do Sul por um método de amostragem. **Ciência Rural [online]**. v. 36, n.1, 2006. p. 30-35. ISSN 1678-4596.
- RUDORFF, C. de M.; SUGAWARA, L. M.; VIEIRA, C. A. O. Superfícies de resposta espectro-temporal de imagens do sensor MODIS para classificação de área de soja no Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural [online]**. v. 37, n.1, 2007. p. 118-125. ISSN 1678-4596.
- SCHAEPMAN-STRUB, G.; SCHAEPMAN, M. E.; PAINTER, T. H.; DANGEL, S.; MARTONCHIK, J. V. Reflectance quantities in optical remote sensing – definitions and case studies. **Remote Sensing of Environment**, v. 103, n. 1, 2006. p. 27-42.
- SMITH, A.M.; BOURGEOIS, G.; TEILLET, P.M.; FREEMANTLE, J.; NADEAU, C.; A comparison of NDVI and MTVI2 for estimating LAI using CHRIS imagery: A case study in wheat. **Canadian Journal of Remote Sensing**, v. 34, 2008. p. 539–548.
- WALTERSHEA, E J N.; BLAD, B.; Leaf Bidirectional Reflectance and Transmittance in Corn and Soybean, **Remote Sensing of Environment**, v. 29, 1989, p. 161–74 Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/0034-4257\(89\)90024-2](http://dx.doi.org/10.1016/0034-4257(89)90024-2)>. Acesso em: 11 jul. 2015.
- WHITHAM, F. H.; BLAYDES, D. F.; DEVLIN, R. M. *Experiments in Plant Physiology*. New York, D. Van Nostrand Company, 1971, p.55-58.