Influência de concentrações de clorofila na resposta espectral de cultivares de soja

Joceli Augusto Gross[1]
Felipe Correa dos Santos[1]
William Gaida[1]
Gustavo Rodrigues Toniolo[2]
Waterloo Pereira Filho[2]

Laboratório de Geotecnologias do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais / Centro Regional Sul (LABGEOTEC/INPE/CRS) e Departamento de Geografia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)
[1]{gross_joceli_augusto; felipecorrea_rs; williamgaida}@hotmail.com
[2]{gustavotoniolo1; waterloopf}@gmail.com

Abstract: This work had the goal of analyzing with Remote Sensing methods the influence of chlorophyl concentrations on the spectral response of soy cultivars in the spectral bands provided by the OLI sensor of Landsat 8 Satellite. This study was conducted in the area cultivated with soy by the Phytotecnic Department of the Federal University of Santa Maria. The varieties of soy that were analyzed were BMX POWER RR and CD 219 RR. Four data collections were performed, and in each collection were acquired two hundred reflectance spectra using the spectroradiometer FieldSpec® HandHeld and eighty soy leaflets. The data evaluation consisted in the calculation of reflectance spectra averages and chlorophyl concentrations to obtain representative values on the cultivars conditions in each data collection and further comparison among variables. The reflectance data were analyzed based on the bands of blue, green, red and near infrared of OLI sensor. The results show that, based on the canopy closing and smaller soil influence on the reflectance spectra, the growth of absortion bands occur. However, the further decreases on chlorophyl concentrations, from the second to the fourth data collection, in both soy varieties, did not cause significant variations on the spectral reflectance in the visible region - mainly in the wavelengths of red (640 to 670 nm) and blue (450 to 510 nm).

Key-Words: Spectral Response; Soy; Chlorophyl; OLI Sensor

1. Introdução

No ano de 2013 foi lançado o satélite *Landsat 8* levando a bordo os sensores espectral *OLI* e o termal *TIRS*, com inovações importantes em se tratando de tecnologias que visam a aquisição de dados espaciais. Dentre outras inovações, as bandas espectrais do sensor *OLI*, fornecem ferramentas melhoradas com relação as missões *Landsat* anteriores, devido à adição de duas novas bandas: um canal do azul na região do visível (banda 1) projetado especificamente para os recursos hídricos e pesquisas em áreas costeiras, e um novo canal infravermelho (banda 9) para a detecção de nuvens cirrus. Para o sensor *TIRS* foram criadas duas bandas para os comprimentos de onda antes cobertos por uma única banda nos sensores *TM* e *ETM* (Ariza, 2013).

Essas inovações são relevantes para a obtenção de informações a partir de dados de Sensoriamento Remoto orbital com qualidade cada vez mais superiores. No entanto, o conhecimento prévio da resposta espectral dos alvos ou objetos de interesse e principalmente dos fatores que interferem neste comportamento torna-se de fundamental importância (Novo, 1988) como é o caso das diferentes espécies vegetais.

Na vegetação, a reflectância espectral é condicionada pelas propriedades da superfície e estruturas internas das folhas, sendo também dependente das concentrações e distribuição de componentes bioquímicos como as de pigmentos fotossintéticos (Peñuelas et al., 1998). Na região do visível do espectro eletromagnético (entre 400 e 720 nm) a reflectância das folhas vegetais é relativamente baixa, onde os pigmentos fotossintéticos dominam absorvendo seletivamente grande parte da radição incidente. No infravermelho próximo (entre 720 e 1100 nm) ocorre pequena absorção da radiação e grande espalhamento interno a folha (Ponzoni e Shimabukuro, 2007).

Segundo Jensen (2009) existem duas regiões ótimas para a observação das características de absorção da radiação pelas clorofilas, de 450 a 520 nm e de 630 a 690 nm. Nestas faixas

espectrais podem ser verificados picos de absorção em comprimentos de onda específicos como 430 e 660 nm para a *clorofila a* e 450 e 650 nm para a *clorofila b*.

De acordo com Read et al. (2003) na região do visível, a reflectância varia em função das concentrações de clorofila das folhas. Goel (1988) ressalta que maiores concentrações de pigmentos fotossintéticos ocasionarão maior absortância e consequentemente a reflectância será mais baixa no visível. No entanto, Lichtenthaler et al. (1996) e Ferri (2008) constataram que o aumento na concentração de clorofila, a mais de 30μg/cm² não influenciou significativamente nos valores de reflectância, que tiveram mínima variância na faixa do espectro de 670 a 680 nm, indicando a possibilidade de outros fatores, também manterem influência sobre a reflectância na região do visível. Neste sentido, Jensen (2009) relatou que tem sido demonstrado a existência de uma relação inversa entre reflectância espectral, particularmente no vermelho, e variáveis relacionadas a biomassa das plantas.

Frente ao exposto, o presente trabalho teve como objetivo analisar a partir de técnicas de Sensoriamento Remoto a influência de concentrações de clorofilas na resposta espectral de cultivares de soja nas faixas espectrais referentes as bandas do sensor *OLI* do Satélite *Landsat8*.

2. Metodologia de Trabalho

O estudo foi conduzido em uma área experimental de aproximadamente 100 m² cultivada com soja pelo Departamento de Fitotecnia no campus da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) onde foram realizadas a espectrorradiometria de campo e a coleta de amostras de folhas para a determinação da concentração de clorofilas. As variedades de soja analisadas foram a *BMX POTÊNCIA RR* e a *CD 219 RR*. As duas variedades são transgênicas e estão disponíveis no mercado, sendo a primeira de ciclo produtivo curto e a outra de ciclo longo.

2.1 Aquisição e análise de dados espectrais

Os dados espectrais foram adquiridos com a realização de espectrorradiometria de campo sobre o dossel de soja utilizando o espectrorradiômetro *FieldSpec® HandHeld* com faixa de operação entre 325 nm a 1075 nm e *Field of View* (FOV) de 25°. No entanto, nas avaliações dos dados foram simuladas as bandas do sensor *OLI* do satélite *Landsat 8*, com o cálculo das médias dos valores de reflectância das correspondentes bandas do vermelho (640 nm a 670 nm), verde (530 nm a 590 nm), do azul (450 nm a 510 nm) e do infravermelho próximo (850 nm – 880 nm).

As coletas de dados iniciaram 30 (variedade CD 219 RR) e 28 dias (variedade BMX POTÊNCIA RR) após a emergência das plantas e seguiram-se até o centésimo vigésimo terceiro dia de desenvolvimento das cultivares, portanto, não cobrindo todo o ciclo fenológico das mesmas. O horário das medidas radiométricas foi das 11:00 as 12:00 horas, para utilizar o maior ângulo de elevação solar. A unidade foi posicionada ao nadir a distância de 1 metro do alvo (dossel) o que perfaz um *Geometric Instantaneous Field of View* (GIFOV) de 44,5 cm de diâmetro. A partir destas medidas foi obtido o Fator de Reflectância Direcional-Cônico (ρ), 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 iluminação e observação.

Anteriormente a coleta dos espectros de reflectância foi efetuada a calibração do espectrorradiômetro apontando o seu detector para a placa de referência. Foram realizadas quatro coletas de dados nos dias 05/11/2013, 05/12/2013, 09/01/2014 e 05/02/2014. A unidade foi ajustada para a tomada de dez espectros de reflectância em cada ponto de coleta de dados, totalizando 20 pontos amostrais e 200 espectros de reflectância para cada variedade de soja, em cada uma das quatro coletas, dos quais obteve-se as médias para a obtenção de

quatro amostras (4 espectros de reflectância) representativas do comportamento espectral das variedades de soja no decorrer de seu desenvolvimento.

2.2 Determinação e análise das concentrações de clorofilas

A determinação 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 das amostras. 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). 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.

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, retirado o sobrenadante com uma pipeta e colocadas às amostras nas cubetas do espectrofotômetro. As leituras de absorbância das amostras foram efetuadas nos comprimentos de onda de 645, 652, 663. 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.

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

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

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

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);

Da mesma maneira como foi efetuado para os dados de reflectância, calculou-se as médias de concentração de clorofilas verificadas em cada coleta de dados, para a obtenção de valor representativo das condições de ambas as variedades de soja referentes ao conteúdo dos pigmentos fotossintéticos avaliados.

3. Resultados e Discussão

As condições de desenvolvimento das cultivares de soja em cada coleta de dados podem ser visualizados na Figura 1. 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, condição em que se pode observar o solo exposto e restos de palhas secas possivelmente do cultivo anterior. O fechamento do dossel foi verificado a partir da segunda coleta de dados realizada no dia 05/12/2013 quando observou-se 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, no entanto, a variedade CD 219 RR apresentou crescimento superior a BMX POTÊNCIA RR. Este fato é justificado pela variedade CD 219 RR ser de ciclo longo e sujeita ao maior crescimento vegetativo.

Figura 1: Fotografias capturadas nas quatro coletas de dados em área cultiva com soja pelo Departamento de Fitotecnia no Campus da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

As concentrações de clorofilas *a, b, a+b e total* nas duas variedades apresentaram aumento dos valores até a segunda coleta de dados e posteriormente decréscimo até a quarta coleta. 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. No entanto, o aumento das concentrações de clorofilas da primeira para a segunda coleta de dados foi maior para a variedade BMX POTÊNCIA RR. Na quarta coleta as concentrações de clorofilas foram semelhantes em ambas as variedades de soja com leve superioridade nos valores da variedade BMX POTÊNCIA RR.

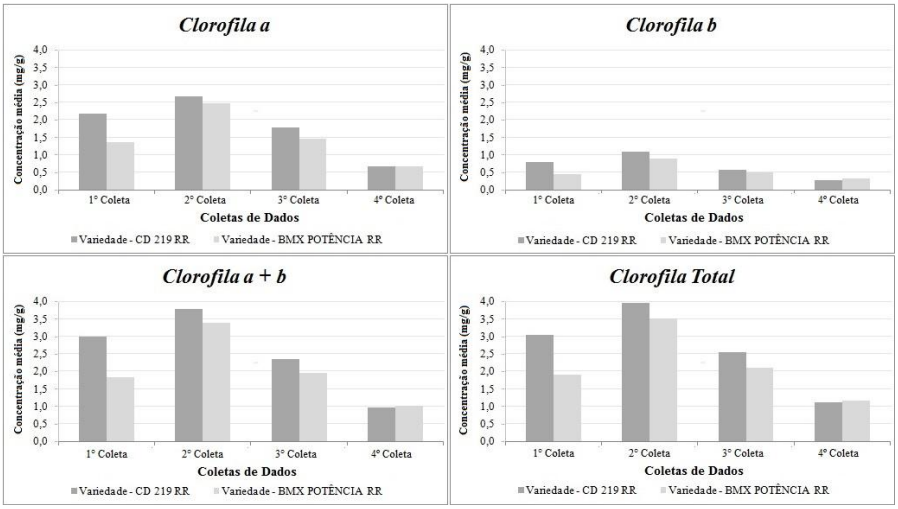

Figura 2: Concentrações de clorofilas por variedade de soja e por coleta de dados.

Os valores médios de reflectância para cada coleta de dados são apresentados na figura 3. Na primeira coleta as tomadas de espectros ocorreram sob influência do solo de fundo e desta forma produziram uma curva espectral com fraca absorção nas bandas 2, 3 e 4 do sensor *OLI* correspondentes a região do visível e menores valores de reflectância na banda 5 do infravermelho próximo.

A partir da segunda coleta de dados (fechamento do dossel) foi possível observar o aumento das bandas de absorção pelas clorofilas. Para a variedade BMX POTÊNCIA RR, as absortâncias na região do vermelho de 640 a 670 nm na segunda, terceira e quarta coletas de dados foram aproximadamente 10% superiores aquela verificada na primeira coleta. Para os dados da variedade CD 219 RR a absorção observada nestes mesmos comprimentos de onda e para as três últimas coletas de dados, aumentou em aproximadamente 7% relacionadas aquela avaliada na primeira coleta.

Na região do verde (530 a 590 nm) as reflectâncias avaliadas na segunda, terceira e quarta coletas de dados para as variedades CD 219 RR e BMX POTÊNCIA RR foram em média 7,5% e 9,7% inferiores, aquelas observadas na primeira coleta, respectivamente. Na faixa do espectro referente aos comprimentos de onda do azul (450 a 510 nm) observou-se decréscimos menores, cerca de 4% para a variedade CD 219 RR e de 5,9% para a BMX POTÊNCIA RR.

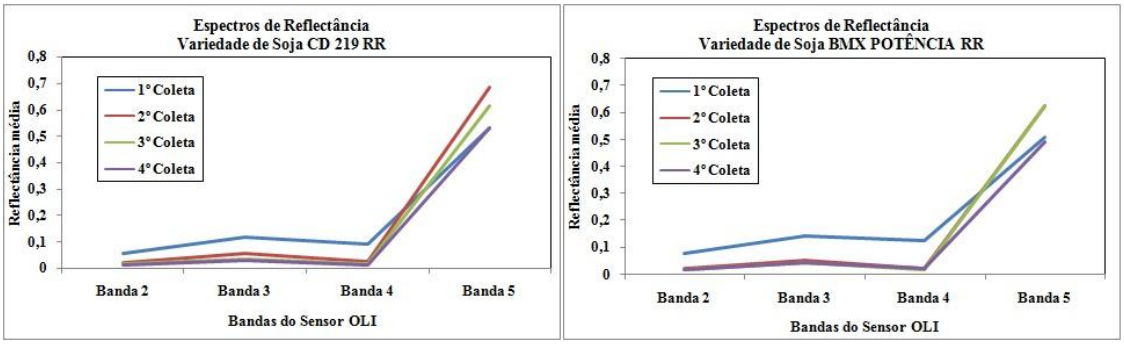

Figura 3: Espectros de reflectância referentes as bandas 2, 3, 4 e 5 do sensor *OLI*, para as quatro coletas de dados sobre as variedades de soja CD 219 RR e BMX POTÊNCIA RR.

No infravermelho próximo (850 a 880 nm) para a variedade CD 219 RR da primeira para a segunda coleta de dados verificou-se em média um aumento de 15,7% de reflectância, e para a variedade BMX POTÊNCIA RR o aumento foi um pouco menor, cerca de 12% (Figura 3). Na terceira coleta de dados, nestes mesmos comprimentos de onda, a variedade

BMX POTÊNCIA RR apresentou valores de reflectância similares aos da segunda coleta, sendo a diferença observada de 0,002% e, para variedade CD 219 RR ocorreu um decréscimo de 7,3%. Na última coleta de dados, as reflectâncias observadas foram similares àquelas verificadas na primeira coleta para as duas variedades de soja, sendo que a CD 219 RR teve aproximadamente 53% de reflectância e a BMX POTÊNCIA RR 49%.

Na Figura 4 são apresentados os dados referentes as concentrações de clorofila total em comparação com as reflectâncias nas faixas do azul (450 a 510 nm), verde (530 a 590 nm), vermelho (640 a 670 nm) e infravermelho próximo (850 a 880 nm) referentes as bandas 2, 3, 4 e 5 do sensor *OLI* do Satélite *Landsat 8*, respectivamente. Nos dados apresentados fica demonstrado que os decréscimos de concentração de clorofilas observados da segunda para a terceira e quarta coletas de dados, ou a partir do fechamento do dossel, não ocasionaram variações significativas nos valores de reflectância na região do visível, como também foi verificado nos espectros da Figura 3, com exceção dos dados da variedade CD 219 RR na segunda coleta de dados, na região do verde, onde observou-se um maior afastamento da curva espectral com relação aquelas verificadas nas duas últimas coletas de dados.

Nas faixas do azul (450 a 510 nm) e do vermelho (640 a 670 nm) na região do visível, que são fortemente influenciadas pelas concentrações de clorofilas, como destacado por Read et al. (2003), Goel (1988) e Jensen (2009) as reflectâncias tiveram variações mínimas após o fechamento do dossel, da ordem de 0,86% e 0,05% no vermelho e de 0,75% e 0,24% no azul para as variedades CD 219 RR e BMX POTÊNCIA RR, respectivamente, da segunda para a quarta coleta de dados (Figura 4A; 4B; 4E; 4F). E inclusive observou-se tendência negativa para os valores de reflectância da variedade CD 219 RR e tendência não definida para os valores da variedade BMX POTÊNCIA RR, ou seja, a medida que as plantas de soja desenvolveram-se, gerando maior quantidade de biomassa, as reflectâncias permaneceram praticamente constantes, mesmo com decréscimos de concentração de clorofila *total*, da ordem de 2,85 mg/g para a variedade CD 219 RR e de 2,26 mg/g para a variedade BMX POTÊNCIA RR, da segunda para a quarta coleta de dados.

Ainda com relação a faixa do vermelho (640 a 670 nm) destaca-se que Almeida (2007) avaliou a reflectância em comparação com as concentrações de clorofila *a* e *b* de folíolos de soja, e constatou a ocorrência de diminuição das reflectâncias devido a decréscimos nas concentrações destes pigmentos, com picos de absortância em 649 nm e 665 nm. Neste sentido, destaca-se que os dados de reflectância avaliados no presente trabalho foram coletados sobre o dossel de soja e não sobre folíolos isolados, o que indica a influência de outros fatores, além das clorofilas, na reflectância observada sobre o dossel nos comprimentos de onda do vermelho.

Na faixa do verde (530 a 590 nm) da segunda para quarta coleta de dados houve um comportamento decrescente da reflectância com a diminuição das concentrações de clorofilas, para a variedade CD 219 RR (Figura 4C). Nesta mesma faixa do espectro, os dados da variedade BMX POTÊNCIA RR apresentaram tendência negativa, porém, como já especificado anteriormente, foi observado um pequeno aumento de reflectância na quarta coleta de dados (Figura 4D). Destaca-se que Lichtenthaler et al. (1996) constatou decréscimos de reflectância em 550 nm para o aumento da concentração de *clorofila a*. E Ferri (2008) observou que o aumento das concentrações de clorofila não se correlacionou de forma significativa com a reflectância em 550 nm na região do verde.

Na porção do infravermelho próximo de 850 a 880 nm observou-se, a ocorrência de proporcionalidade entre as concentrações de clorofila e a reflectância espectral, da segunda para a quarta coleta de dados, com relações positivas dos valores (Figura 4G e 4H). Resultado oposto foi verificado por Almeida (2007) entre as concentrações de clorofilas *a* e *b* e a reflectância na porção do infravermelho próximo para folíolos de soja, com uma relação

diretamente proporcional, porém, negativa dos valores. De acordo com Steffen et al. (1993) na porção do infravermelho os pigmentos foliares são transparentes à radiação solar e, conseqüentemente, a reflectância é maior nestes comprimentos de onda. O mesmo autor ainda ressalta, que o aumento de reflectância no infravermelho pode ser atribuído ao maior espalhamento da radiação ao nível do mesófilo provocado pelo aumento do Índice de Área Foliar. Portanto, para estes comprimentos de onda a reflectância não é condicionada diretamente pelos aumentos ou diminuições das concentrações de clorofilas, mas provavelmente pelas consequências destes na estrutura celular das folhas.

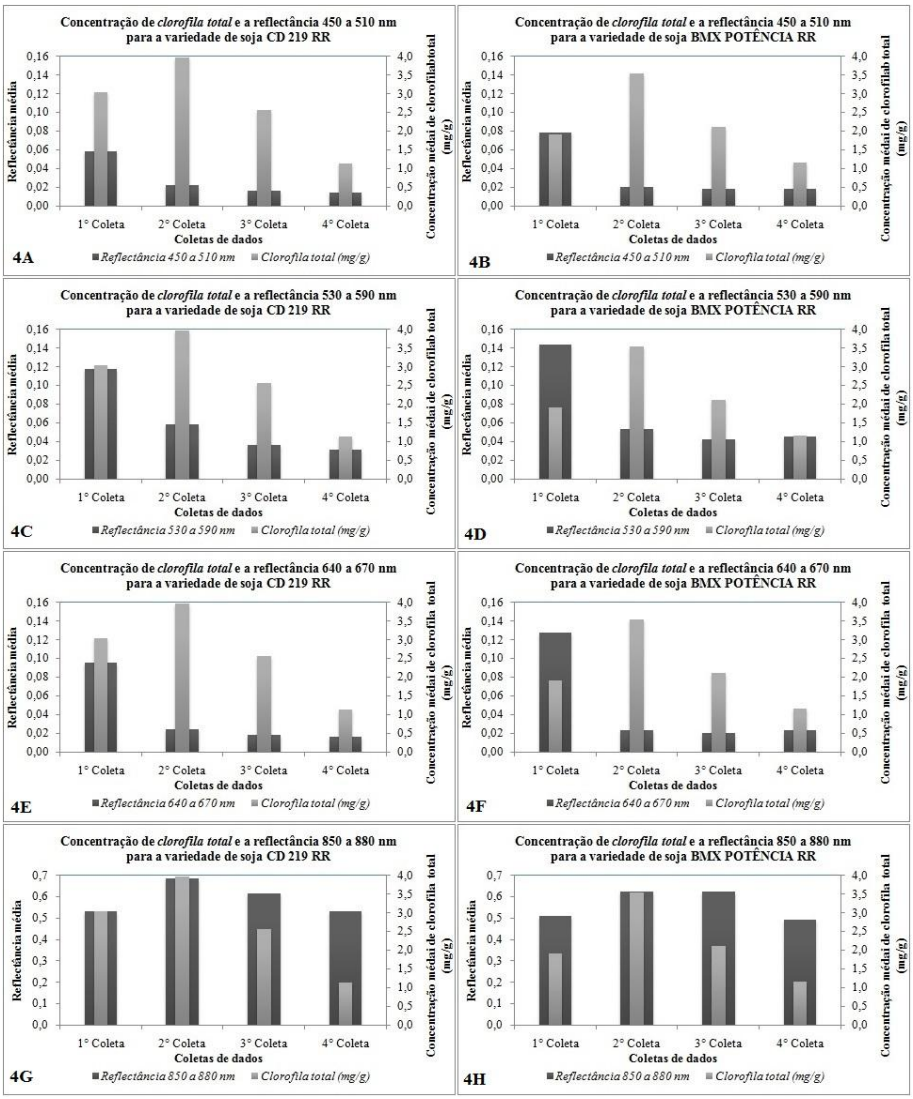

Figura 4: Concentrações de clorofila total e reflectâncias medias observadas nas 4 coletas de dados

4. Considerações Finais

O objetivo do presente trabalho foi analisar a partir de técnicas de sensoriamento remoto a influência de concentrações de clorofilas na resposta espectral de cultivares de soja nas faixas espectrais referentes as bandas do sensor *OLI* do Satélite *Landsat 8*. Neste sentido, considerando a metodologia aplicada, e as cultivares de soja avaliadas, destaca-se, que a partir do fechamento do dossel e a menor influência do solo de fundo, além do acréscimo de biomassa das plantas observou-se o aumento das bandas de absorção, no entanto, os posteriores decréscimos de concentrações dos pigmentos fotossintéticos avaliados, da segunda para terceira, e desta para a quarta coleta de dados em ambas as variedades de soja, não ocasionaram variações significativas na reflectância espectral da região do visível,

principalmente nos comprimentos de onda do vermelho (640 a 670 nm) e do azul (450 a 510 nm) correspondentes as bandas 4 e 2 do sensor *OLI*. Isto permite inferir, que as diminuições das concentrações de clorofilas até determinados níveis, após o fechamento do dossel e consequente aumento de biomassa das plantas como os verificados no presente trabalho, podem não ocasionar significativas alterações na reflectância espectral de dosséis de soja, principalmente nas faixas espectrais do azul e vermelho na região do visível.

Agradecimentos

Os autores do presente trabalho agradecem ao departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) pela cooperação para realização dos experimentos.

Referências

Almeida, T. S. **Respostas espectrais da soja sob diferentes condições hídricas e de preparo do solo**. 2008. 100p. Dissertação (Mestrado em sensoriamento remoto) – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

Ariza, A. **Descripción y Corrección de Productos Landsat 8** - LDCM (Landsat Data Conunity Mission). Grupo Interno de Trabajo en Percepción Remota y Aplicaciones Geográficas. Instituto Geográfico Agustín Codazzi: Bogotá. Colombia, 2013.

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.

Goel, N. S. Models of vegetation canopy reflectance and their use in estimation of biophisical parameters from reflectance data. **Remote Sensing Reviews**,.v. 4, p. 1- 21, 1988.

Jensen, J. R. **Sensoriamento remoto do Ambiente: uma perspectiva em recursos terrestres**. São José dos Campos, SP: Parêntese, 2009.

Lichtenthaler, H. K.; Gitelson, A. A.; Lang, M. Non-destructive determination of chlorophyll content of leaves of a green and an aurea mutant of tabacco by reflectance measurements. **Journal of Plant Physiology**, v. 148, n.3, p.483-493, 1996.

Novo, E. M. L. de M. **Sensoriamento remoto: princípios e aplicações**. 2. ed. São Paulo: E. Blücher, 1988. 308 p.

Peñuelas, J.; Filella, I.; Llusia, J.; Siscart, D.; Pinol, J. Comparative field study of spring and summer leaf gas exchange and photobiology of the Mediterranean trees *Quercus ilex* and *Phillyrea latifolia*. **Journal of Experimental Botany,** 1988.

Ponzoni, F. J.; Shimabakuru, Y. E. **Sensoriamento Remoto no estudo da Vegetação**. São José dos Campos, SP: Parêntese. 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. p. 177-195, 2003.

Steffen, C. A.; Moraes, E. C. Introdução à Radiometria. In: Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, 7., 1993, Curitiba. **Anais**...Curitiba, 1993. p. 2-12.

Whitham, F. H.; Blaydes, D. F.; Devlin, R. M**. Experiments in Plant Physiology.** New York, D. Van Nostrand Company, 1971, p.55-8.