

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

TAYLA DE ALMEIDA SILVA

**MONITORAMENTO DO NITROGÊNIO FOLIAR EM ÁREAS COMERCIAIS DE
CACAUEIROS CLONAIIS UTILIZANDO CLOROFILÔMETRO E IMAGEM DIGITAL**

ILHÉUS – BAHIA

2016

TAYLA DE ALMEIDA SILVA

**MONITORAMENTO DO NITROGÊNIO FOLIAR EM ÁREAS COMERCIAIS DE
CACAUEIROS CLONAIIS UTILIZANDO CLOROFILÔMETRO E IMAGEM DIGITAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal, da Universidade Estadual de Santa Cruz, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestra em Produção Vegetal.

Área de concentração: Solos e nutrição de plantas em ambiente tropical úmido.

Orientador: José Olímpio de Souza Júnior

Co-orientador: Marcelo Schramm Mielke

ILHÉUS – BAHIA

2016

TAYLA DE ALMEIDA SILVA

**MONITORAMENTO DO NITROGÊNIO FOLIAR EM ÁREAS COMERCIAIS DE
CACAUEIROS CLONAIIS UTILIZANDO CLOROFILÔMETRO E IMAGEM DIGITAL**

Ilhéus, 04 de março de 2016.

José Olímpio de Souza Júnior - DS
UESC/DCAA
(Orientador)

Fábio Pinto Gomes
UESC/DCB

Júlio César Lima Neves – DS
UFV/DPS

DEDICATÓRIA

À minha família, Josevan, Edelvalina, e Derek, por serem as pessoas mais importantes da minha vida e pelo apoio incondicional que recebo constantemente em todos os momentos.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus em primeiro lugar, pois sem Ele nada disso seria possível.

À minha família, meus pais – Josevan Cardoso da Silva e Edelvalina Santos de Almeida Silva – e a meus irmãos Derek de Almeida Silva e Sônia Oliveira de Jesus, e sobrinho Felipe, pelo apoio incondicional.

Aos meus Tios, primos e avós, por sempre estarem presentes em minha vida, e acreditarem em meu sucesso.

À Carlos Rafael e sua família, por todo suporte no decorrer dessa caminhada.

Ao meu orientador José Olimpio Souza Júnior, pela orientação, amizade, paciência, competência, ensinamentos, conselhos, confiança e oportunidades tanto na Iniciação científica, quanto no Mestrado. O levarei para vida.

Ao meu co-orientador Marcelo Schramm Mielke, pelas contribuições enriquecedoras.

À dona Terezinha, mãe do meu orientador, por ceder sua casa, com tanto amor, carinho e confiança.

Aos amigos que fiz durante o mestrado e aos antigos amigos, da graduação e da vida.

Aos produtores rurais que colaboraram com a realização deste trabalho, cedendo suas propriedades para que as coletas fossem feitas, e com muita boa vontade.

À equipe do projeto renova cacau, professor Dário Ahnert, Francisca e Waldimiro, por me ajudarem com a logística e coleta de material.

À Pablo, técnico do laboratório, por me ajudar, tanto, nas análises, sem ele nem sei como seria.

À Cesar Arevalo, colega de mestrado, que me ajudou muito no término dessa etapa de minha vida.

À Universidade Estadual de Santa Cruz e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, que através de seu corpo docente e funcionários me permitiu aprendizagem e conhecimentos para a vida.

À Fapesb pela concessão da bolsa de estudo.

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	7
GENERAL ABSTRACT	9
1. INTRODUÇÃO GERAL	11
1.2 REVISÃO DE LITERATURA	13
1.2.1 Cacaucultura na Bahia.....	13
1.2.2 Adubação em cacauzeiros.....	14
1.2.3 Adubação nitrogenada.....	15
1.2.4 Clorofila.....	16
1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18
2. CAPÍTULO 1 – AVALIAÇÃO DO USO DE CLOROFILÔMETRO PARA ESTIMAR TEORES DE NITROGÊNIO EM CACAU	23
RESUMO.....	23
ABSTRACT.....	24
2.1 INTRODUÇÃO.....	25
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	27
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
2.4 CONCLUSÕES.....	34
2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
3. CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DO USO DE IMAGEM DIGITAL PARA ESTIMAR TEORES DE NITROGÊNIO EM CACAU	39
RESUMO.....	39
ABSTRACT.....	40
3.1 INTRODUÇÃO.....	41
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
3.4 CONCLUSÕES.....	50
3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51

MONITORAMENTO DO NITROGÊNIO FOLIAR EM ÁREAS COMERCIAIS DE CACAUEIROS CLONAIS UTILIZANDO CLOROFILÔMETRO E IMAGEM DIGITAL

RESUMO GERAL

O cacau foi e ainda é o principal produto agrícola do sul da Bahia, sendo este estado o maior produtor nacional com 255.216 t, o que representa 53,1 % da produção nacional. A utilização eficaz de fertilizantes na cultura do cacau ajudaria não só a melhorar o rendimento, mas também a rentabilidade, qualidade do produto e proteção ambiental. O nitrogênio (N) é um dos dois nutrientes minerais requeridos em maior quantidade pelo cacaueiro e frequentemente suprido em quantidade insuficiente pelo solo. Indicadores das culturas têm sido utilizados para monitorar o estado nutricional de N e auxiliar na decisão sobre quantidade e época de aplicação deste nutriente, dada sua instabilidade no solo, dificultando sua análise. Um indicador da planta que vem sendo estudado no intuito de avaliar o nível de N na planta, para predizer a necessidade de adubação de cobertura, é o índice relativo de clorofila nas folhas, obtido com base na intensidade da coloração verde das mesmas, por meio do uso de clorofilômetros. Outro indicador é o uso de imagem digital para a obtenção de índices de reflectância, que expressam a cor verde da planta de maneira eficiente, os quais também vêm apresentando altas correlações com teores foliares de N. Objetivou-se neste trabalho avaliar a capacidade preditiva do uso de um clorofilômetro e da análise da imagem digital em estimar de maneira indireta teores foliares de N, em três clones de cacaueiro (PH16, CCN51 e PS1319) e em duas zonas climáticas, visando subsidiar futuros trabalhos de calibração de adubação com este nutriente para cacaueiros. Foram selecionadas 20 propriedades rurais no sul da Bahia, que possuem lavoura cacaueira em sistema agrossilvicultural e sem irrigação. Dentre as propriedades rurais selecionadas, dez 10 estavam em zona úmida (ZU) e 10 em zona úmida a subúmida, denominada neste texto apenas de zona subúmida (ZSU). Em cada propriedade, quatro plantas de cada clone com idade superior a cinco anos foram selecionadas em situações edáficas e topográficas distintas. No período de janeiro a maio de 2015 foram coletadas quatro folhas sadias por planta (terceira folha a partir do ápice de ramo amadurecido, sem lançamentos). Em cada folha foram feitas imediatamente duas leituras do índice do Cloroflog da Falker, chamado Índice de Clorofila Falker (ICF), sendo uma leitura de cada lado da nervura central no terço médio do limbo. As folhas foram cortadas transversalmente em três partes, sendo o ápice e a base descartados e a porção da central, face adaxial, escaneada no máximo oito horas após a coleta. As imagens digitais foram analisadas no software Image J, obtendo-se a área do fragmento foliar e, em duas áreas delimitadas, localizadas na porção central dos lados opostos da nervura central, determinaram-se os valores red (R), green (G) e blue (B), os quais correspondem as quantidades de luz vermelha, verde e azul refletidas pela imagem. A partir destes índices, médias das duas leituras por folha e de quatro folhas por planta, obtiveram-se os índices RGB sugeridos por diferentes autores: R, G, B, $(R-B)/(R+B)$, $G/(R+G+B)$, $R/(R+G+B)$, G/R , $R+G+B$, $R-B$, $R+B$ e $R+G$. Após o escaneamento, os fragmentos foram secos, pesados, moídos e os teores de N determinados por digestão sulfúrica, destilação e titulação. Determinou-se também a massa foliar específica, obtida pela divisão da massa pela área do fragmento foliar. O teor foliar de N foi submetido à análise de variância, para avaliar possíveis diferenças entre região climática e clone. Fez-se também análise de correlação linear simples de Pearson e posteriormente análise de regressão simples e múltipla,

sendo os modelos de regressão semelhantes, por região e clone, comparados entre si pelo intervalo de confiança dos coeficientes das regressões. Nas condições deste estudo, apesar de alguma correlação significativa, houve baixa relação entre o teor de N com o ICF, obtido pelo Clorofilog, e os índices RGB, obtidos de imagens digitais, indicando baixa capacidade preditiva de ambos os métodos para estimar o teor foliar de N em cacauzeiros, cultivados em sistemas agrossilvicultural. As correlações foram maiores na zona úmida quando comparadas com a zona subúmida, principalmente para os clones PH16 e CCN51 e não houve diferença estatística entre zonas climáticas e entre clones, para o teor foliar de N.

Palavras-Chave: Medidor portátil de clorofila, Índice de cor verde, adubação nitrogenada, *Theobroma cacao*.

MONITORING OF NITROGEN LEAF IN AREAS OF COMMERCIAL COCOA CLONAL USING DIGITAL IMAGE AND CHLOROPHYLL

GENERAL ABSTRACT

The Cocoa was and still is the main agricultural product of southern Bahia, and this state the nation's largest producer with 255.216 t, which represents 53,1 % of the national production. The replacement of nutrients exported by the crops at harvest time is essential to the improvement in production. Efficient use of fertilizers in cocoa cultivation would help not only to improve performance, but also profitability, product quality and environmental protection. Nitrogen (N) is one of two mineral nutrients required in higher quantities by cocoa and frequently inadequate in quantity supplied by the soil. Cultural indicators have been used to monitor nutritional the status of N and assist in the decision regarding the amount and timing of application of this nutrient, given its instability in the soil, making it difficult to analyze. An indicator of the plant that has been studied in order to assess the level of N in the plant to predict the need for top dressing is the relative chlorophyll index in the leaves, obtained based on the intensity of the green color of the same through the use of chlorophyll. Another indicator is the use of digital imaging for obtaining reflectance indices that express the green color of the plant efficiently, which have also showing high correlation with foliar N. The aim of this study was to evaluate the predictive ability of the use of chlorophyll and the digital image analysis to estimate indirectly foliar N for three cocoa clones (PH16, CCN51 E PS1319) and two climatic zones, in order to support future fertilizer calibration work with this cacao nutrient. Twenty farms were selected in the south of Bahia, who own cocoa plantation in agroforestry system and without irrigation. Among the selected farms, ten were in humid zone (ZU) and ten in the sub-humid and humid zone, referred to in this text only sub-humid zone (ZSU). In each property, four plants of each clone over the age of five years were selected in different soil and topographical conditions. In the period from January to May 2015 were collected four healthy leaves per plant (third sheet from the mature branch of flash without releases). In each leaf were made immediately two Chlorofilog index readings of the Falker, called Chlorophyll index Falker (ICF) being one reading of each side of the central rib in the middle third of the blade. The leaves were sliced into three parts, with the apex and the base discarded and the central portion, adaxial face, scanned a maximum of eight hours of collection. Digital images were analyzed with the software Image J yielding area and the leaf fragment and, in two areas delimited, located on opposite sides of the central portion of the center rib, the red values were determined (R), green (G) and blue (B), which correspond to the amounts of red, green and blue light reflected by the image. From these indices, average of the two readings per sheet and four leaves per plant, there was obtained indexes RGB suggested by various authors: R, G, B, $(R-B)/(R+B)$, $G/(R+G+B)$, $R/(R+G+B)$, G/R , $R+G+B$, $R-B$, $R+B$ and $R+G$. After scanning, the fragments were dried, weighed, ground and N content determined by sulfuric acid digestion, distillation and titration. The specific leaf mass was also determined, obtained by dividing the mass area of the leaf fragment. The foliar N was subjected to analysis of variance to assess possible differences between climate and region clone. It is also made analysis of simple linear correlation of Pearson, and then simple regression analysis and multiple, and the similar regression models, by region and clone, compared with each other by the confidence interval of the regressions coefficients.

In this study conditions, despite some significant correlation, the correlation between the N content with Chlorophyll Index obtained by Clorofilog was low, and indexes RGB obtained from digital images, indicating low predictive ability of both methods to estimate leaf nitrogen content in cocoa trees, grown in agroforestry systems. Correlations were higher in the humid zone when compared to the sub-humid zone, especially for PH16 and CCN51 clones and there was no statistical difference between climate zones and between clones, for foliar N.

Keywords: Portable meter, Color green index, Nitrogen fertilization, *Theobroma cacao*.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O cacauieiro (*Theobroma cacao* L.) foi e ainda é a principal cultura agrícola do sul da Bahia, sendo este estado o maior produtor nacional com 255.216 t, o que representa 53,1 % da produção nacional (IBGE, 2016). Apesar do sul da Bahia ainda ser a região mais importante na produção de cacau brasileira, a chegada, no final da década de 1980, e a rápida disseminação da fitodoença denominada vassoura de bruxa (*Moniliophthora perniciosa*) contribuiu para reduzir expressivamente a produção desta região e, conseqüentemente, do Brasil.

Atualmente, a alternativa mais promissora para a recuperação das áreas e da produção de cacau na região é a utilização de clones tolerantes à vassoura de bruxa e também mais produtivos (PEREIRA; VALLE, 2012; ALMEIDA et al., 2014), especialmente, quando associadas a outras práticas de manejo, como controle cultural (remoção de partes das plantas infectadas pela doença), controle biológico e/ou controle químico (ALMEIDA et al., 2003; MONTEIRO et al., 2011; BASTOS, 2011).

A reposição de nutrientes exportados pelas colheitas das culturas, visando suprir a planta com esses nutrientes em quantidades ideais, é essencial para manutenção de uma boa produção. A utilização eficaz dos fertilizantes ajudaria não só a melhorar o rendimento das colheitas, mas também a rentabilidade, qualidade do produto e proteção ambiental (OGUNLADE et al., 2009). O nitrogênio (N) é um dos nutrientes minerais mais requeridos pelo cacauieiro (SILVA, 2009; SOUZA JÚNIOR et al., 2012) e com frequência suprido em quantidade insuficiente pelo solo (AMADO; MIELNICZUK, 2000). O N estimula principalmente o crescimento da parte aérea da planta, influenciando no desenvolvimento da mesma (COELHO et al., 2011). Por ser considerado um elemento muito instável no solo, podendo ser facilmente perdido de várias formas, principalmente por volatilização e lixiviação, suas formas disponíveis não são usualmente determinadas em análises de rotina de solo.

No entanto, é necessário aplicar o N de forma otimizada para assegurar o retorno do que foi exportado e o suprir adequadamente a planta, com o mínimo de risco ambiental. Devido à dificuldade de diagnóstico via análise do solo, a recomendação de fertilização nitrogenada e por consequência a necessidade de adubação das culturas pode ser baseada na expectativa de produtividade e do

diagnóstico do status nutricional de N (p. ex.: diagnose visual ou análise foliar). Ou seja, indicadores da planta têm sido utilizados para monitorar o estado nutricional de N e auxiliar na decisão sobre quantidade e época de aplicação deste nutriente (GODOY et al., 2006).

Um indicador ideal deve ser capaz de detectar ou predizer tanto a deficiência quanto o excesso (RAMBO et al., 2004). Além da análise de N foliar, um indicador da planta que vem sendo estudado no intuito de avaliar o status de N na planta, para predizer a necessidade de adubação de cobertura, é o índice relativo de clorofila (IRC) nas folhas, obtido com base na intensidade da coloração verde das mesmas por meio do uso de clorofilômetros, que são aparelhos portáteis e que fornecem leituras indiretas e instantâneas, as quais podem se correlacionam estreitamente com os teores de clorofila e estes, frequentemente, correlacionam-se positivamente com os teores foliares de N em diferentes culturas (GODOY et al., 2008; MARANHÃO et al., 2009; COELHO et al., 2011; DANTAS et al., 2012; MAIA et al., 2013).

Outro indicador que vem sendo objeto de pesquisas recentes é o uso de imagem digital para a obtenção de índices de reflectância, que expressam a cor verde da planta de maneira eficiente e também pode apresentando altas correlações com teores foliares de N (ROCHA et al., 2013). A utilização de técnicas rápidas, como o uso de clorofilômetro e a análise da imagem digital, que têm potencial para permitir a avaliação do estado nutricional em N, podem otimizar a tomada de decisão quanto à recomendação de adubações nitrogenadas, assim como verificar a eficiência da adubação realizada, melhorando o manejo da adubação com N e conseqüentemente a produção.

Dada a escassez de estudos sobre o uso de clorofilômetro e imagem digital para avaliação nutricional de N em cacauzeiros, objetivou-se neste trabalho avaliar a capacidade preditiva do clorofilômetro e da análise da imagem digital em estimar teores foliares de N, para três clones de cacauzeiro e em duas zonas climáticas, visando subsidiar futuros trabalhos de calibração de adubação nitrogenada para cacauzeiros.

1.2 REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1 Cacaucultura na Bahia

O cacauero é uma planta originária das regiões tropicais das Américas Central e do Sul, sendo o seu provável centro de origem as nascentes dos rios Amazonas (Brasil) e Orinoco (Venezuela). A cultura do cacau era tão importante e suas amêndoas tão preciosas, que corria como moeda inclusive para pagamento de tributos, e a plantação muitas vezes era cercada por cerimônias religiosas e homenagens especiais, pelos astecas. O primeiro plantio do cacauero na Bahia ocorreu em 1746 na fazenda Cubículo, às margens do rio Pardo, no atual Município de Canavieiras, do qual se originaram as plantas da variedade Cacau Comum (BONDAR, 1938).

É uma planta dicotiledônea, cauliflora (as flores crescem diretamente do caule), perene, da família das Malváceas, de grande importância econômica, que, quando de origem seminal, geralmente começa a produzir frutos aos três anos de idade. A importância econômica da cacaucultura está ligada principalmente à produção de frutos, de onde são extraídas as sementes que serão utilizadas na fabricação do chocolate. Essa produção é diretamente influenciada por fatores ambientais e características genéticas da planta. Fatores climáticos como regime pluviométrico, radiação solar, umidade relativa do ar e vento podem interferir nos processos fisiológicos da planta, mas podem ser manejados (com irrigação, manejo de sombreamento, etc.), no entanto, a temperatura pode ser um fator limitante na produção de cacau, por ser um fator de difícil controle pelo homem (MONTEIRO; AHNERT, 2012; MÜLLER; VALLE, 2012).

No final da década de 80, com o surgimento da fitodoeença vassoura de bruxa, causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*, antes denominado *Crinipellis Perniciosa*, além de outros fatores como preços internacionais baixos, condições climáticas desfavoráveis, houve elevadas perdas na produção, da ordem de 75 %, e com isso diminuiu consideravelmente a produção nacional, transformando o Brasil de exportador a importador de amêndoas de cacau (ZUGAIB, 2008; OLIVEIRA; LUZ, 2012). No ano de 2015, o Brasil atingiu a produção de 255.216 t de amêndoas secas de cacau, sendo o estado da Bahia ainda foi o maior produtor de cacau do país,

detendo aproximadamente 53,1 % da produção, seguido pelo estado do Pará com aproximadamente 41,5 % (IBGE, 2016).

Após a crise enfrentada no final da década de 80 foram adotadas alternativas com a finalidade de diminuir os danos causados pela fitodoença vassoura de bruxa, possibilitando o convívio com a mesma e a recuperação da lavoura, como: renovação dos cacauzeiros, substituindo plantas infectadas por clones tolerantes à fitodoença; controles cultural (poda de ramos infectados), químico e/ou biológico.

1.2.2 Adubação em cacauzeiros

Grande parte das lavouras de cacau na Bahia já apresentava sinais de decadência na década de 80 – produtividade média inferior a 500 kg de cacau seco por hectare – dentre as razões para esta baixa produtividade estava a baixa aplicação de fertilizantes e corretivos (CHEPOTE et al., 2012). É com base na análise química do solo que serão definidas as doses de corretivos e fertilizantes a serem aplicados, associados a essa análise são considerados alguns fatores, como o tipo de solo (textura e profundidade) e o regime hídrico, para que seja feita a aplicação de fertilizantes de forma correta evitando perdas (CHEPOTE et al., 2013). Ainda segundo a Chepote et al. (2013), a utilização de novas variedades de cacauzeiros resistentes a doenças possibilitou aumento nas produtividades médias, ficando em alguns casos acima de $1.200 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, e isso permitiu aumentar as doses de fertilizantes, para dar sustentabilidade ao aumento da produção.

Ainda não há para a cultura do cacau um modelo que integre todos os fatores que influenciam na produção e conseqüentemente na definição das doses de nutrientes para situações específicas; sendo as recomendações de adubações baseadas exclusivamente em análises de solo e, em algumas situações, em análises de tecido foliar (SOUZA JÚNIOR et al., 2012; CHEPOTE et al., 2012; CHEPOTE et al., 2013). A análise do solo ainda é considerada a principal ferramenta para avaliar a fertilidade do solo e embasar recomendações de adubação; enquanto a análise foliar vem sendo usada como técnica complementar, visando otimizar o uso dos fertilizantes.

1.2.3 Adubação nitrogenada

A adubação nitrogenada é de grande importância para a maioria das culturas, dentre elas milho, batata, feijão, café e muitas outras (COELHO et al., 2010; FARINELLI; LEMOS, 2011; SANT'ANA et al., 2011; QUINTELA et al., 2011) no entanto, o excesso de aplicação deste nutriente faz com que sua eficiência seja diminuída, resultando em queda de produtividade (FERNANDES et al., 2005), e o seu suprimento inadequado é um dos fatores limitantes para a produção, pois o nitrogênio (N) exerce importante função nos processos bioquímicos da planta.

Embora o N esteja presente em grande quantidade no solo, uma percentagem pequena dele está disponível às plantas (CANCELLIER et al., 2011). Dentre os fatores que afetam o aproveitamento do N pelas plantas cabe mencionar a disponibilidade de água, pH, fertilidade e tipo de solo, bem como a presença de alumínio e organismos do solo, entre outros fatores (FREITAS et al., 2007).

O N é um dos elementos mais importantes na nutrição das plantas e no seu crescimento; fazendo parte de proteínas e da clorofila, assim, muitas reações bioquímicas em plantas envolvem a presença de N, tornando-o um dos elementos mais demandados pelas culturas. Este elemento pode ser absorvido pelo cacauzeiro na forma nítrica (NO_3^-) e/ou amoniacal (NH_4^+) (CHEPOTE et al., 2013). A deficiência desse nutriente na planta provoca diversas alterações no metabolismo da planta, como: elevação na relação carboidratos solúveis/proteínas, diminuição na quantidade de clorofila e alterações nos cloroplastos (REIS, 2013).

Dada a sua importância e a alta mobilidade no solo, o N tem sido intensamente estudado, no sentido de maximizar a eficiência do seu uso. Para tanto, tem-se procurado diminuir as perdas do N no solo, bem como melhorar a absorção e a metabolização do N na planta (BREDEMEIER e MUNDSTOCK, 2000).

Existe dificuldade em prever a necessidade de adubação nitrogenada para uma determinada cultura, pois ainda não existe um método laboratorial que permita avaliar satisfatoriamente a capacidade do solo em fornecer N às plantas, devido à complexidade e às interações entre os processos de transformação do nutriente no solo e as condições climáticas (BARBOSA FILHO et al., 2008). Para estimar a disponibilidade de N e por consequência a necessidade de adubação das culturas tem sido muito utilizados a expectativa de rendimento (AMADO et al., 2002); a análise do teor de N na folha (diagnose foliar), método de avaliação do estado

nutricional das culturas em que se analisam determinadas folhas em períodos definidos do ciclo (RAMBO et al., 2004), usando a planta como extratora da solução do solo (MALAVOLTA et al., 1997) e o análise do teor de matéria orgânica (principalmente em regiões de clima temperado), por ser a matéria orgânica do solo um grande reservatório de N para as plantas, mas com limitações pois não há uma ampla aceitação para esse método devido a pequena correlação com a disponibilidade de N em condições de campo (CANTARELLA, 2007).

A análise foliar tem sido a técnica mais empregada para avaliar estado nutricional de N em cacauzeiros, pois a folha reflete bem as mudanças nutricionais na sua composição. Porém, fatores como época de coleta, amostras sujas, tecidos secos, doentes ou atacados por pragas podem interferir na análise e prejudicar a interpretação dos resultados (CANTARUTTI et al., 2007), um deles é o intervalo entre a coleta da amostra e a entrega dos resultados pelo laboratório, que a depender da região pode ser longo demais (DANTAS et al., 2012). Atualmente, uma alternativa citada por vários autores para otimizar o uso dos fertilizantes nitrogenados é o uso de clorofilômetros portáteis e, mais recentemente, de análise de imagens digitais, que podem permitir estimar teores de clorofila e de N, ainda em campo.

1.2.4 Clorofila

A clorofila (Chl) é um pigmento fotossintético presente nas plantas e a sua abundância varia de acordo com a espécie. A Chl-a está presente em todos os organismos que realizam fotossíntese, no primeiro estágio do processo fotossintético, a etapa fotoquímica. Os demais pigmentos, Chl-b, carotenoides e ficobilinas, auxiliam na absorção de luz e na transferência da energia radiante para os centros de reação, sendo assim chamados de pigmentos acessórios (TAIZ; ZIEGER, 2009; SILVA, 2014).

Um dos fatores ligados à eficiência fotossintética de plantas e conseqüentemente ao crescimento e à adaptabilidade a diversos ambientes é a Chl, pois somente por meio de processos mediados por ela, a energia luminosa absorvida pelas folhas pode ser transferida à etapa bioquímica da fotossíntese, tendo como produto final os carboidratos (TAIZ; ZIEGER, 2009). Ela pertence ao

grupo das porfirinas, cuja estrutura está baseada num sistema tetrapirrólico, no qual os anéis de pirrol contendo quatro átomos de carbono (C) e um átomo de N, formando um circuito conjugado fechado, coordenados com um átomo de magnésio (Mg) central (STREIT et al., 2005).

As plantas utilizam a radiação fotossinteticamente ativa (RFA), absorvida pelas clorofilas, compreendida entre os comprimentos de onda de 390 e 760 nm, denominada também de espectro visível. A energia absorvida é transferida para os centros de reação, nas membranas tilacóides dos cloroplastos. Existem dois centros de reação: um absorvendo energia em 680 nm e outro a 700 nm, interagindo por meio de transportadores de elétrons (STREIT et al., 2005).

As regiões de picos de absorbância da Chl são o azul e o vermelho. As de baixa absorbância situam-se na região do verde e as de absorbância extremamente baixa na região do infravermelho (ARGENTA et al., 2001). Em função disso, os comprimentos de onda escolhidos para medição do teor de clorofila, ou do índice de esverdeamento da folha, situam-se na faixa do vermelho, em que a absorbância pela Chl é alta e não é afetada pelos carotenóides, e na do infravermelho, em que a absorbância é extremamente baixa.

1.3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, R. L. S. et al. Produção do cacaueteiro submetido a diferentes lâminas de irrigação e doses de nitrogênio. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 27, n. 4, p. 171-182, 2014.
- ALMEIDA, L. C. C. de et al. Efeito do número de remoções de partes doentes do cacaueteiro e número de aplicações de óxido cuproso no controle da vassoura de bruxa na Bahia. **Agrotropica**, Ilhéus, v. 15, n. 2, p. 79-84, 2003.
- AMADO, T. J. C.; MIELNICZUK, J. Estimativa da adubação nitrogenada para o milho em sistemas de manejo e culturas de cobertura do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 24, n. 3, p. 553-560, 2000.
- BARBOSA FILHO, M. P. et al. Determinação da necessidade de adubação nitrogenada de cobertura no feijoeiro irrigado com auxílio do clorofilômetro portátil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, p. 1843-1848, 2008.
- BASTOS, C. N. Avaliação do potencial de *Clonostachys* sp. no biocontrole da vassoura de bruxa do cacaueteiro. **Agrotropica**, Ilhéus, v. 23, n. 2 e 3, p. 95-100, 2011.
- BONDAR, G. A cultura de cacauete na Bahia. São Paulo, **Revista dos Tribunaes**, Instituto de cacauete da Bahia, 1938. 205p.
- BREDEMEIER, C.; MUNDSTOCK, C. M. Regulação da absorção e assimilação do nitrogênio nas plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 2, p. 365-372, 2000.
- CANCELLIER, L. L. et al. Eficiência no uso de nitrogênio e correlação fenotípica em populações tropicais de milho no Tocantins. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 1, p. 139-148, 2011.
- CANTARELA, H. Nitrogênio. In: NOVAES, R. F. et al. **Fertilidade do Solo**. Viçosa, MG: SBCS, p. 375-449, 2007.
- CANTARUTTI, R. B. et al. Avaliação da fertilidade do solo e recomendação de fertilizantes. In: NOVAES, R. F. et al. **Fertilidade do Solo**. Viçosa, MG: SBCS, p. 770-845, 2007.

CHEPOTE, R. E. et al. Aptidão agrícola e fertilidade de solos para a cultura do cacauzeiro. In: VALLE, R. R. **Ciência, tecnologia e manejo do cacauzeiro**. Brasília, DF: MAPA, p. 67-114, 2012.

CHEPOTE, R. E et al. Recomendações de corretivos e fertilizantes na cultura do cacauzeiro no sul da Bahia: 2ª aproximação. Ilhéus: CEPLAC/CEPEC, 36 p., 2013 (**Boletim técnico nº 203**).

COELHO, F. S. et al. Dose de nitrogênio associada à produtividade de batata e índices do estado de nitrogênio na folha. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, n. 04, p. 1175-1183, 2010.

COELHO, F. S. et al. Uso do clorofilômetro como indicador da necessidade de adubação nitrogenada em cobertura na batateira. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 29, n 2, p.4017- 4025, 2011.

DANTAS, P. A. S. et al. Estimativa não destrutiva do teor foliar de nitrogênio em cacauzeiro utilizando clorofilômetro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 3, p. 669-677, 2012.

FARINELLI, R.; LEMOS, L. B. Produtividade e eficiência agronômica do milho em função da adubação nitrogenada e manejos de solo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 9, n. 2, p. 135-146, 2011.

FERNANDES, F. C. S. et al. Doses, eficiência e uso de nitrogênio por seis cultivares de milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 4, n. 02, p.195-204, 2005.

FREITAS, R. B. de et al. Adubação do cafeeiro com nitrato de potássio via solo e folha, no outono-inverno e primavera-verão: efeitos na atividade da redutase do nitrato, no crescimento das plantas e na produção. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 945-952, 2007.

GODOY, L. J. G. et al. Índice relativo de clorofila e o estado nutricional em nitrogênio durante o ciclo do cafeeiro fertirrigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 1, p. 217-226, 2008.

GODOY, L. J. G. et al. Intensidade da cor verde e concentração de nitrogênio na lâmina foliar da grama Santo Agostinho como indicativos do estado nutricional em nitrogênio. In: SIGRA, 3, **Anais**, Botucatu, SP: UNESP/FCA, 2006. (CD-ROM).

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Rio de Janeiro, v. 29, n. 7, p. 29, 2016. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_\[mensal\]/Fasciculo/lspa_201607.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistematico_da_Producao_Agricola_[mensal]/Fasciculo/lspa_201607.pdf)>. Acessado em: 27 agosto de 2016.

MAIA, S. C. M. et al. Estimativa da necessidade de nitrogênio em cobertura no feijoeiro IAC Alvorada com clorofilômetro portátil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 5, p. 2229-2238, 2013.

MARANHÃO, C. M. A. et al. Produção e composição químico-bromatológica de duas cultivares de Braquiária adubadas com nitrogênio e sua relação com o índice SPAD. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v. 31, n. 2, p.117- 122, 2009.

MONTEIRO, W. R. et al. Manejo de cacauais seminais pela poda e correção do sombreamento permanente. Centro de Pesquisas do Cacau (CEPLAC), Ilhéus, p. 28, 2013 (**Boletim técnico nº 201**).

MONTEIRO, W. R.; AHNERT, D. Melhoramento genético do cacauero. In: VALLE, R. R. **Ciência, tecnologia e manejo do cacauero**. Brasília, DF: MAPA, p. 11-27, 2012.

MÜLLER, M. W.; VALLE, R. R. Ecofisiologia do cultivo do cacauero. In: VALLE, R. R. **Ciência, tecnologia e manejo do cacauero**. Brasília, DF: MAPA, p. 31-66, 2012.

OGUNLADE, M. O. et al. An evaluation of the level of fertilizer utilization for cocoa production in Nigeria. **Journal of Human Ecology**, New Delhi, v. 25, n. 3, p. 175-178, 2009.

OLIVEIRA, M. L.; LUZ, E. D. M. N. Principais doenças do cacauero e seu manejo. In: VALLE, R. R. M. Manejo integrado da vassoura-de-bruxa do cacauero. In: VALLE, R. R. **Ciência, tecnologia e manejo do cacauero**. Brasília, DF: MAPA, p. 187-275, 2012.

PADMAJA, V.; DEY, M. A. K. Evaluation of leaf chlorophyll content by a non-invasive approach. **International Journal of Innovative Research in Electrical, Electronics, Instrumentation and Control Engineering**, Chennai, v. 3, n. 7, 2015.

PEREIRA, J. L.; VALLE, R. R. M. Manejo integrado da vassoura de bruxa do cacau. In: VALLE, R. R. **Ciência, tecnologia e manejo do cacau**. Brasília, DF: MAPA, p. 357-375, 2012.

QUINTELA, M. P. et al. Parâmetros produtivos e nutricionais do cacau submetido adubação nitrogenada na região de Garanhuns. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 24, n. 4, p. 74-79, 2011.

RAMBO, L. et al. Parâmetros de planta para aprimorar o manejo da adubação nitrogenada de cobertura em milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 5, p. 1637-1645, 2004.

REIS, E. L. Nutrição e adubação da pupunheira (*Bactris gasipaes* HBK) no estado da Bahia. Centro de Pesquisas do Cacau (CEPLAC), Ilhéus, p. 28, 2013 (**Boletim técnico nº 204**).

SANT'ANA, E. V. P. et al. Adubação nitrogenada na produtividade, leitura SPAD e teor de nitrogênio em folhas de feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 40, n. 4, p. 491-496, 2010.

SANT'ANA, E. V. P. et al. Eficiência de uso de nitrogênio em cobertura pelo feijoeiro irrigado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 15, n. 5, p. 458-462, 2011.

SILVA, J.O. **Produção e partição de biomassa e nutrientes e parametrização de um sistema para recomendação de N, P e K para cacauzeiros**. 2009. 85 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus.

SOUZA JÚNIOR, J.O. et al. Diagnóstico Foliar na Cultura do Cacau. In: Prado, R.M. (Ed.). **Nutrição de plantas: diagnóstico foliar em frutíferas**. Jaboticabal, SP: FUNEP, p. 443-476. 2012.

STREIT, N. M. et al. As clorofilas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 748-755, 2005.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 719p.

ZUGAIB, A. C. C. Mudanças cambiais e o efeito dos fatores de crescimento ou declínio das receitas de exportações brasileiras de cacau em amêndoas. **Revista Bahia Agrícola**, v. 8, n. 2, p. 43-48, 2008.

2. CAPÍTULO 1 – AVALIAÇÃO DO USO DE CLOROFILÔMETRO PARA ESTIMAR TEORES FOLIARES DE NITROGÊNIO EM CACAU

RESUMO

O nitrogênio (N) é um elemento essencial para as plantas, cuja carência é verificada em solos tropicais, sendo constituinte da clorofila. Atualmente, foram desenvolvidos medidores portáteis de clorofila, oferecendo medições instantâneas de valores correspondentes a teores de clorofila obtidos pelo método tradicional, podendo em algumas situações serem usados também para avaliar o status nutricional de N nas plantas. Esse trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade de predição de teores de N com o uso de clorofilômetro. Foram selecionadas 20 propriedades rurais no sul da Bahia, que possuem lavoura cacaueteira em sistema agrossilvicultural e sem irrigação. Dentre as propriedades rurais selecionadas 10 estavam em zona úmida (ZU) e 10 em zona úmida a subúmida, denominada neste texto apenas de zona subúmida (ZSU). Os materiais genéticos selecionados neste trabalho são os clones PH16, CCN51 e PS1319. Em cada propriedade, quatro plantas de cada clone, com idade superior a cinco anos, foram selecionadas em situações edáficas e topográficas distintas. No período de janeiro a maio de 2015 foram coletadas quatro folhas sadias por planta (terceira folha a partir do ápice de um ramo amadurecido, sem lançamentos). Em cada folha foram feitas imediatamente duas leituras do índice do Clorofilog, chamado Índice de Clorofila Falker (ICF), sendo uma leitura de cada lado da nervura central no terço médio do limbo. As folhas foram cortadas transversalmente em três partes, sendo as extremidades descartadas e na porção central mediu-se a área foliar (AF) e, após secagem, pesou-se a massa (MSF), visando a obtenção da massa foliar específica (MFE = MSF / AF). Determinou-se também o teor foliar de N, sendo este submetido à análise de variância, para avaliar possíveis diferenças entre região climática e clone. Fez-se também análise de correlação linear simples de Pearson, análise de regressão simples e múltipla, sendo os modelos de regressão semelhantes, por região e clone, comparados entre si pelo intervalo de confiança dos coeficientes da regressão. Não houve diferença estatística entre zonas e entre clones para o teor foliar de N. As melhores correlações foram observadas entre N foliar com ICF para os clones PH16 e CCN51 na ZU. Mesmo obtendo correlações significativas, concluiu-se que houve baixa relação entre o teor de N e o ICFs, indicando que o Clorofilog tem uma baixa capacidade de prever teores foliares de N em cacaueteiros cultivados em sistema agrossilvicultural.

Palavras-chave: Medidor portátil, Manejo de Nitrogênio, Clorofila, Métodos alternativos.

2. CHAPTER 1 – CHLOROPHYLL USE OF ASSESSMENT FOR ESTIMATE LEVELS OF NITROGEN IN COCOA

ABSTRACT

Nitrogen (N) is an essential element for plants, whose deficiency is seen in tropical soils, being a constituent of chlorophyll. Currently, portable meters of chlorophyll have been developed, providing instant measurements of values corresponding to chlorophyll contents obtained by the traditional method, and may in some situations be also used to assess the nutritional status of N in plants. This study aimed to evaluate the predictive capacity of nitrogen contents and the use of chlorophyll. Twenty farms in southern Bahia, who own cocoa plantation in agroforestry system and without irrigation were selected. Among the selected ten farms were in humid zone (ZU) and ten in the sub-humid and humid zone, referred to in this text only sub-humid zone (ZSU). Genetic materials selected for this study are the PH16, CCN51 and PS1319 clones. In each property, four plants of each clone, over the age of five years were selected in different soil and topographical conditions. In the period from January to May were collected four healthy leaves per plant (third leaf from the apex of a mature branch without releases). In each leaf were made immediately Clorofilog two Clorofilog index readings of the Falker, called Chlorophyll index Falker (ICF) and one reading each side of the central rib in the middle third of the blade. The leaves were sliced into three parts, with the discarded ends and the central portion was measured specific leaf area (SLA) and, after drying, the mass weighed (MW) in order to obtain the specific leaf mass (SLM = MW / SLA). It was also determined the leaf N content, which is subjected to analysis of variance to assess possible differences between climate and region clone. There was also analysis of simple linear Pearson correlation, simple and multiple regression analysis, and the like regression models, by region and clone, compared with each other by the confidence interval of the regression coefficients. There was no statistical difference between zones and among clones for foliar N. The best correlations were observed between leaf N with ICF for PH16 and CCN51 clones in ZU. Even getting significant correlations, we concluded with this work that there was a poor relationship between the N content and the ICFs, indicating that the Clorofilog has a low ability to predict foliar N in cacao.

Keywords: Portable meter, Nitrogen management, Chlorophyll, Alternative methods.

2.1 INTRODUÇÃO

O nitrogênio (N) é um elemento essencial para as plantas, cuja carência é verificada em solos tropicais. Os sintomas característicos de deficiência de N consistem em clorose generalizada das folhas, iniciando-se pelas folhas mais velhas (REIS et al., 2006), por ser um nutriente de alta mobilidade na planta. Na falta de um índice de N disponível no solo capaz de ser uma ferramenta a ser utilizada para a tomada de decisão da dose de adubo nitrogenado a ser aplicada em determinadas culturas, métodos de como avaliar o comportamento da planta vem sendo utilizados (GODOY et al., 2006).

A análise foliar é o método mais empregado quando se trata em avaliar o estado nutricional em N na planta, no entanto essa forma de avaliação nutricional requer tempo, trabalho intenso e a coleta de várias amostras representativas, se tornando onerosa e, a depender da cultura, o resultado é tardio, causando perdas consideráveis na produção. Com a elevação no custo dos fertilizantes nitrogenados, os agricultores necessitam adequar o manejo da adubação, pois aplicações de doses muito baixas ou demasiadamente elevadas reduzirão os lucros (COELHO et al., 2010).

O N é constituinte da molécula de clorofila, participando com quatro átomos na mesma, estando assim envolvido na fotossíntese, além de ser componente dos ácidos nucléicos e indispensável na constituição de proteínas. Falta de N e de clorofila significa que a planta terá dificuldade em utilizar a radiação solar como fonte de energia, ou seja, afetará funções essenciais como a síntese de compostos orgânicos e a absorção de nutrientes (REIS et al., 2006; COELHO et al., 2012).

Os métodos tradicionais utilizados para determinar a quantidade de clorofila na folha requerem destruição de amostras de tecido e são trabalhosos nas etapas de extração e quantificação. Atualmente, foram desenvolvidos medidores portáteis que obtêm valores indiretos dos teores de clorofila onde não há a destruição da planta, oferecendo medições instantâneas de valores correspondentes a teores de clorofila obtidos pelo método tradicional e, dessa forma, servindo como uma alternativa para estimar o teor relativo deste pigmento na folha (ARGENTA et al., 2001) e conseqüentemente pode indicar o status de N, devido à proporcionalidade existente entre este nutriente e a clorofila. Os valores obtidos por esses medidores portáteis são calculados com base na quantidade de luz transmitida pela folha em

duas regiões de comprimento de onda, nas quais a absorção pela clorofila é diferente.

O monitoramento do nível adequado de N na planta faz-se necessário para diagnosticar a necessidade ou não de sua aplicação. Para essa finalidade, uma metodologia que se tem mostrado eficaz é a medição do índice de clorofila nas folhas das plantas (CARVALHO et al., 2012; apud MATTJE et al., 2013).

O clorofilômetro nacional (Clorofilog da Falker) utiliza fotodiodos emissores em três comprimentos de onda: dois emitem dentro da banda do vermelho, próximos aos picos de cada tipo de clorofila (635 e 660 nm) e outro no infravermelho próximo (880 nm), um sensor inferior recebe a radiação transmitida por meio da estrutura foliar (FALKER, 2008). A partir desses dados, o aparelho fornece valores chamados Índices Relativos de Clorofila (IRC) proporcionais à absorbância das clorofilas A e B.

A utilização de clorofilômetros como método de predizer de forma indireta a necessidade de adubação nitrogenada está sendo muito utilizado para várias culturas, pois além de não requerer a destruição do tecido foliar, possui baixo custo e maior velocidade de obtenção de dados (RAMBO et al., 2007; GODOY et al., 2007). No entanto, para que os índices obtidos por clorofilômetros sejam precisos, eles precisam estar calibrados de acordo com a cultura que será estudada.

Estudos têm demonstrado que o aumento de doses de N tem acarretado aumento no teor de clorofila nas plantas, ocasionando em correlações positivas entre os teores de clorofila e de N na folha (COSTA et al., 2008). A determinação do IRC por meio de clorofilômetros está sendo utilizado para avaliar o status de N de plantas agrícolas, dentre as principais: milho (ARGENTA et al., 2001), cafeeiro (REIS et al., 2006), mangueira (SALLA et al., 2007), caramboleira (LEAL et al., 2007), braquiária (MARANHÃO et al., 2009), batatinhas (COELHO et al., 2011) e inclusive o cacau (DANTAS et al., 2012), apresentando potencial para predição da necessidade de adubação nitrogenada. Entretanto, para a cultura do cacau, há apenas o trabalho de Dantas et al. (2012) que aborda esta temática.

O objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade preditiva do clorofilômetro Clorofilog® em estimar os teores foliares de N para três clones de cacau, cultivados em sistema agrossilvicultural e em duas zonas climáticas do sul da Bahia, visando subsidiar futuros trabalhos de calibração de adubação com este nutriente.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionadas 20 propriedades rurais no sul da Bahia, em 16 municípios (Tabela 2.1), que possuem lavoura cacaueteira em sistema agrossilvicultural e sem irrigação. Dentre as propriedades rurais que foram selecionadas, 10 estavam em zona úmida (ZU) e 10 em zona úmida a subúmida (SEI, 2015), sendo esta última denominada neste texto apenas de zona subúmida (ZSU).

A ZU não possui estação seca definida e se enquadra em sete tipos climáticos segundo Thornthwaite: B4r A', B3r A', B2r A', B2r B', B1r A', B1r' A' e B1w A'. A ZSU possui um a dois meses de seca e se enquadra em quatro tipos climáticos: C2d A', C2d' A', C2d B' e C2w A' (SEI, 2015). Na tabela 2.2, as zonas envolvidas no estudo são caracterizadas quanto ao clima.

Tabela 2.1 - Municípios e número de propriedades, por zona climática do sul da Bahia, onde este trabalho foi desenvolvido

Zona climática úmida (ZU)		Zona climática subúmida (ZSU)	
Município	Nº de propriedades	Município	Nº de propriedades
Uruçuca	1	Ipiaú	3
Teolândia	1	Itagibá	2
Itamarí	1	Ibirataia	2
Piraí do Norte	1	Barra do Rocha	1
Ibirapitanga	1	Itagi	1
Gandu	1	Gongogi	1
Wenceslau Guimarães	1		
Ubatã	1		
Uma	1		
Ilhéus	1		

Tabela 2.2 – Caracterização climática das zonas úmida (ZU) e subúmida (ZSU) do sul da Bahia

Zona Climática	Temp. Mín. (°C)	Temp. Média (°C)	Temp. Máx. (°C)	Amp. Térmica (°C)
Úmida	14,4 a 22,5	18,4 a 25,3	24,3 a 31,2	4,9 a 13,5
Úmida a subúmida	15,3 a 22,4	19,4 a 24,6	25,4 a 32,2	5,0 a 15,5
Zona Climática	Precip. Média (mm)	Defic. Hídrica (mm)	Excedente Hídrico (mm)	
Úmida	> 2000	0 a 345	200 a 1409	
Úmida a subúmida	1100 a 2000	3 a 426	22 a 424	

Fonte: SEI (2015).

Os materiais genéticos selecionados para trabalho foram os clones PH16, CCN51 e PS1319, por serem bastante difundidos na região, além de terem boa produtividade e boa tolerância à vassoura de bruxa (MANDARINO e GOMES, 2009). Em cada propriedade foram selecionadas quatro plantas de cada clone, com idade superior a cinco anos, em situações edáficas e topográficas distintas, buscando-se alcançar maior variedade de solo. No período de janeiro a maio de 2015 foram coletadas quatro folhas sadias por planta, uma em cada quadrante na meia altura da copa da planta (terceira folha a partir do ápice de ramo amadurecido, sem lançamentos).

Em cada folha foram feitas imediatamente duas leituras com o Clorofilog da Falker, chamado de Índice de Clorofila Falker (ICF), sendo uma leitura de cada lado da nervura central no terço médio do limbo. Antes da realização das leituras, o aparelho foi calibrado com o verificador de leitura, de acordo com as recomendações do manual de instruções do fabricante. O aparelho apresenta três leituras, correspondendo a clorofila a, b e a+b (total), correspondendo, respectivamente, aos índices ICF-A, ICF-B e ICF-total.

Posteriormente, as folhas foram cortadas transversalmente em três partes, sendo descartadas as porções apical e basal. As porções centrais das folhas, região onde foram feitas as leituras com o clorofilômetro, foram escaneadas para determinação da área foliar (AF) com auxílio do software Image J (<http://rsb.info.nih.gov/ij/download.html>), seguindo o tutorial estabelecido por Brito-Rocha (2013); posteriormente foram acondicionados em sacos de papel e secas em estufa de circulação forçada de ar a 70° C de temperatura, por 72 horas, posteriormente foram pesados para obtenção da massa seca foliar (MSF) e moídas

em moinho de facas. Nestas amostras determinaram-se os teores de N, via digestão sulfúrica, destilação e titulação, de acordo com Embrapa (2009). A massa foliar específica (MFE) foi obtida pela divisão MSF pela AF, sendo que a MFE é o inverso da área foliar específica e dá uma estimativa da espessura foliar, a qual é influenciada pela intensidade luminosa (GODOY et al., 2008; LUCENA et al., 2011).

Os resultados foram submetidos à correlação linear de Pearson a 1 e 5 % de significância pelo teste t, após isso foram feitas às análises de variância e de regressão simples (com coeficientes lineares e quadráticos) e múltipla (com a introdução da variável MFE), por região climática e clone. Foram aceitos os modelos que apresentassem coeficientes significativos até 5 % de probabilidade, pelo teste F. Os modelos de regressão semelhantes, por região e clone, foram comparados entre si pelo intervalo de confiança dos coeficientes da regressão, sendo que quando havia sobreposição destes, gerava-se um único modelo de regressão. Utilizou-se, para as análises dos dados, o software estatístico R (<https://www.r-project.org/>).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 2.3 estão apresentados os coeficientes de correlação linear de Pearson entre as variáveis ICFs e teor foliar de N. Em várias situações, não foram constatadas correlações significativas entre o teor de N e o ICFs, ainda assim, as melhores correlações ocorreram na ZU, quando comparada a ZSU. As correlações significativas e positivas foram observadas na ZU entre teor de N e ICF-total ($r = 0,53$) para o clone CCN51 e entre o teor de N e ICF-B para os clones PH16 e CCN51 ($r = 0,50$ e $0,53$, respectivamente). Dantas et al. (2012), também estudando o clone PH16, nas duas zonas climáticas apresentadas neste trabalho, observou correlações mais elevadas entre o teor de N e o índice SPAD, sendo os coeficientes de correlação de $0,75$ e $0,74$ para a ZU e ZSU, respectivamente.

Guimarães et al. (1999) não obtiveram correlações significativas com o teor de N-org e N-total e de clorofila no limbo das folhas de plantas de tomate determinadas pelo método do medidor portátil SPAD-502, corroborando com os resultados encontrados nesta pesquisa. O mesmo foi observado por Mercado-Luna et al. (2010) que concluíram que o método SPAD não é uma maneira confiável para avaliar o estado nutricional de N em mudas de tomate. Quadros et al. (2010) ao analisarem a relação entre leitura do clorofilômetro e teor de N na folha em rabanete

fertirrigado também não obteve boas correlações, indicando que as leituras efetuadas com medidor portátil de clorofila não são precisas na verificação do nível de N no desenvolvimento da planta.

Barbosa Filho et al. (2009), em estudo realizado com feijoeiro, citam que valores obtidos com clorofilômetro podem ser influenciados por diversos fatores como a espessura da folha, a posição da folha em que a leitura é tomada, deficiências de outros nutrientes, estresse causado por doenças, pragas e altas temperaturas, fatores esses que, em geral, reduzem os teores de clorofila nas folhas, indicando que dependendo desses fatores, o medidor portátil passa a ser ineficaz para estimar N, visando adubação de cobertura com este nutriente. A baixa correlação entre leitura do clorofilômetro e teor de N na folha pode indicar que boa parte do N absorvido deva estar alocado em outros compostos orgânicos, inclusive como resultado do consumo de luxo da planta (ARGENTA et al., 2001).

O modelo de regressão selecionado que relaciona o teor de N e o ICFs foi o linear, sendo significativas as relações entre o teor de N e o ICF-B, e teor de N e ICF-total para os clones PH16 e CCN51 na ZU (Figura 2.1B e 2.2B), e para o clone PS1319 na ZSU (Figura 2.1C e 2.2C – único clone que apresentou relação entre as variáveis em estudo na ZSU). Ao analisar o intervalo de confiança do intercepto (β_0) e do coeficiente angular (β_1) dos modelos dos clones PH16 e CCN51 na ZU para duas variáveis (ICF-B e ICF-total), verificou-se sobreposição dos mesmos indicando que ambos poderiam ser expressos como um único modelo (Figura 2.1B e 2.2B), porém ambos modelos, apesar de significativos, apresentaram baixa capacidade preditiva, visto que o coeficiente de correlação foi baixo ($r=0,53$ para ICF-B e ICF-total).

As figuras 2.1A e 2.2A mostra que não houve relação significativa entre teor de N e ICF-B, e teor de N e ICF-total ($\bar{Y} = 21,89$) para os clones CCN51 e PH16 na ZSU e para o clone PS1319 na ZU ($H_0:\beta_0 = 0$, rejeitou-se H_0), ou seja, o clorofilômetro não foi capaz de prever teores de N nas situações apresentadas. Segundo Engel e Poggiani (1991) em presença da luz a clorofila é constantemente sintetizada e destruída pelo processo da foto-oxidação, sendo que a velocidade de decomposição é diretamente proporcional à intensidade luminosa muito alta, causando dessa forma prejuízos para a fotossíntese, assim, há uma diferença na concentração de clorofila de acordo com a intensidade luminosa do ambiente. As diferenças nos teores de clorofila variam muito entre as espécies, assim como entre

genótipos de uma mesma espécie (NOGUEIRA e SILVA Jr, 2001). A diversidade ambiental e genética pode ter sido causadora de diferenças entre as zonas estudadas, devido ao período de coleta ter sido mais longo (janeiro a maio) do que o estabelecido pela literatura: verão, época padronizada como a de menor flutuação estacional por isso a mais indicada para o diagnóstico do estado nutricional de espécies perenes (CANTARUTTI et al., 2007), inclusive para o cacauero (SOUZA JÚNIOR et al., 2012).

A análise de variância, seguida pelo teste de médias, evidenciaram que não houve diferença significativa do teor foliar de N entre as zonas climáticas e também entre os clones, sendo as médias da ZU e da ZSU de 21,8 e 22,3 g kg⁻¹, respectivamente; e as médias dos clones CCN51, PS1319 e PH16 de 21,9, 22,0 e 22,2 g kg⁻¹, respectivamente.

Tabela 2.3 – Correlação linear de Pearson entre os teores foliares de N e o ICFs, para três clones de cacaueros, em duas zonas climáticas, do sul da Bahia: zona úmida (ZU) e zona subúmida (ZSU)

	PH16		PS1319		CCN51		Todos os clones		
	ZU	ZSU	ZU	ZSU	ZU	ZSU	ZU	ZSU	ZU+ZSU
ICF-A	0,37*	-0,02 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,26*	0,51**	-0,06 ^{ns}	0,29**	-0,09 ^{ns}	0,10*
ICF-B	0,50**	-0,04 ^{ns}	0,04 ^{ns}	-0,33*	0,53**	-0,05 ^{ns}	0,34**	-0,10 ^{ns}	0,13*
ICF-total	0,45*	-0,03 ^{ns}	0,02 ^{ns}	-0,30*	0,53**	-0,06 ^{ns}	0,32**	-0,10 ^{ns}	0,12*

** Significativo a 1 % de probabilidade pelo teste t.

* Significativo a 5 % de probabilidade pelo teste t.

ns – não significativo.

A principal variável que diferencia as duas zonas climáticas é a precipitação pluviométrica. O estresse por seca é normalmente caracterizado por perda de clorofila e um declínio progressivo na capacidade fotossintética das plantas. Silva et al. (2014), em estudos com cana de açúcar, pôde concluir que cultivares respondem diferentemente em relação aos pigmentos fotossintéticos (clorofila) quando submetidas à deficiência hídrica. Já em estudos realizados por Mielke et al. (2010), foram encontradas correlação de alta significância entre teor de clorofila e leituras do clorofilômetro (SPAD) em plantas de *Eugenia uniflora*, e esta relação não foi influenciada pelo alagamento. Diferenças genéticas entre cultivares também são reconhecidas por afetar a tonalidade de verde, ou seja, afeta a quantidade de clorofila, além de outros fatores como o estágio de crescimento da cultura, o

momento e forma de aplicação do nitrogênio (SCHEPERS et al., 1992) e estresse hídrico (SCHEPERS et al., 1996). Dessa forma, pode-se supor que as diferenças das relações do teor de N e ICF encontradas entre as duas regiões possa estar relacionada não só a diferentes regimes pluviométricos, mas também aos diferentes genótipos de cacau estudados.

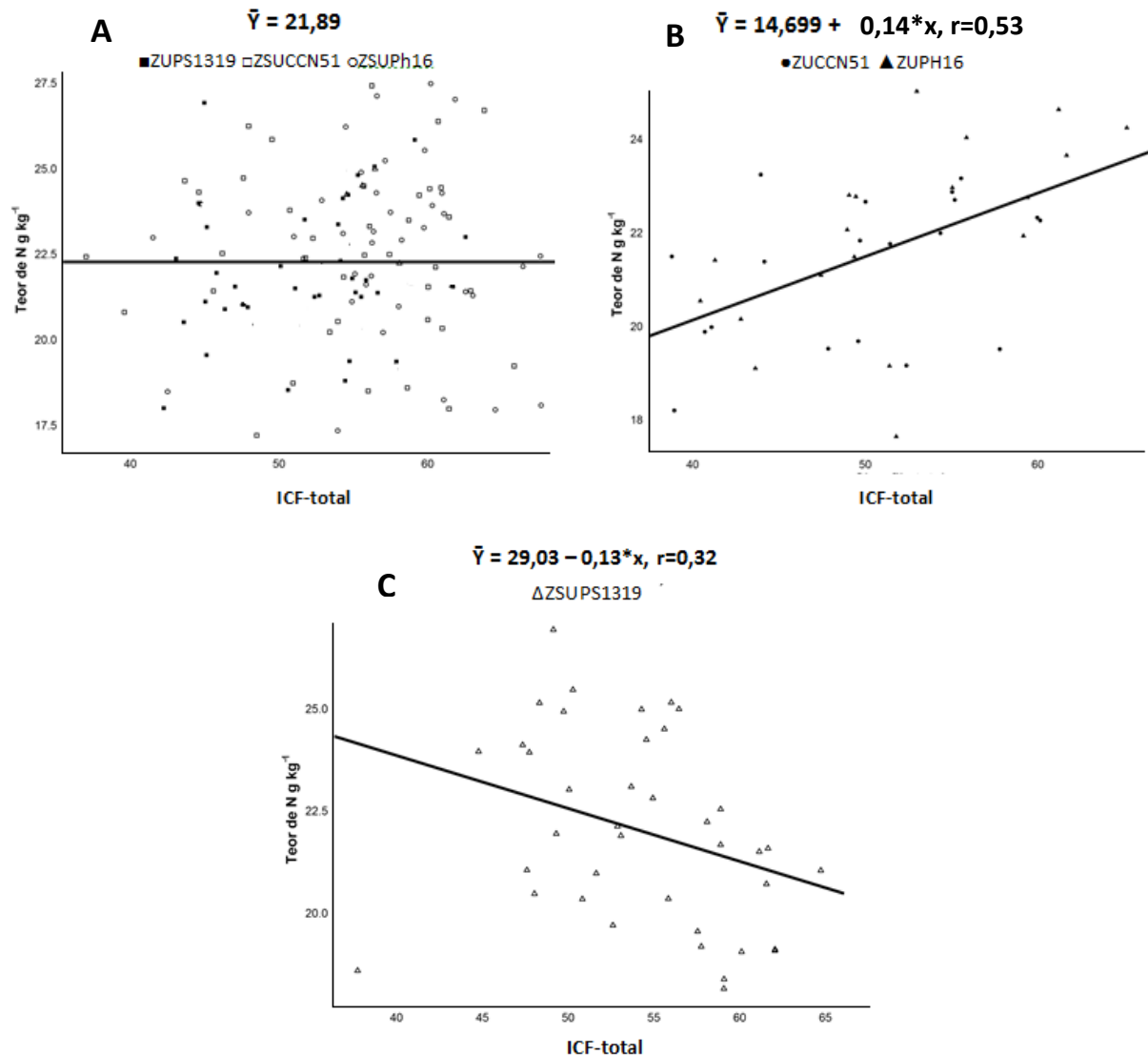


Figura 2.1 – Equações das análises de regressão mostrando a relação entre o ICF-total e teor foliar de N em cacauzeiros na ZU e ZSU para os três clones. * Significativo a 5 % de probabilidade pelo teste F.

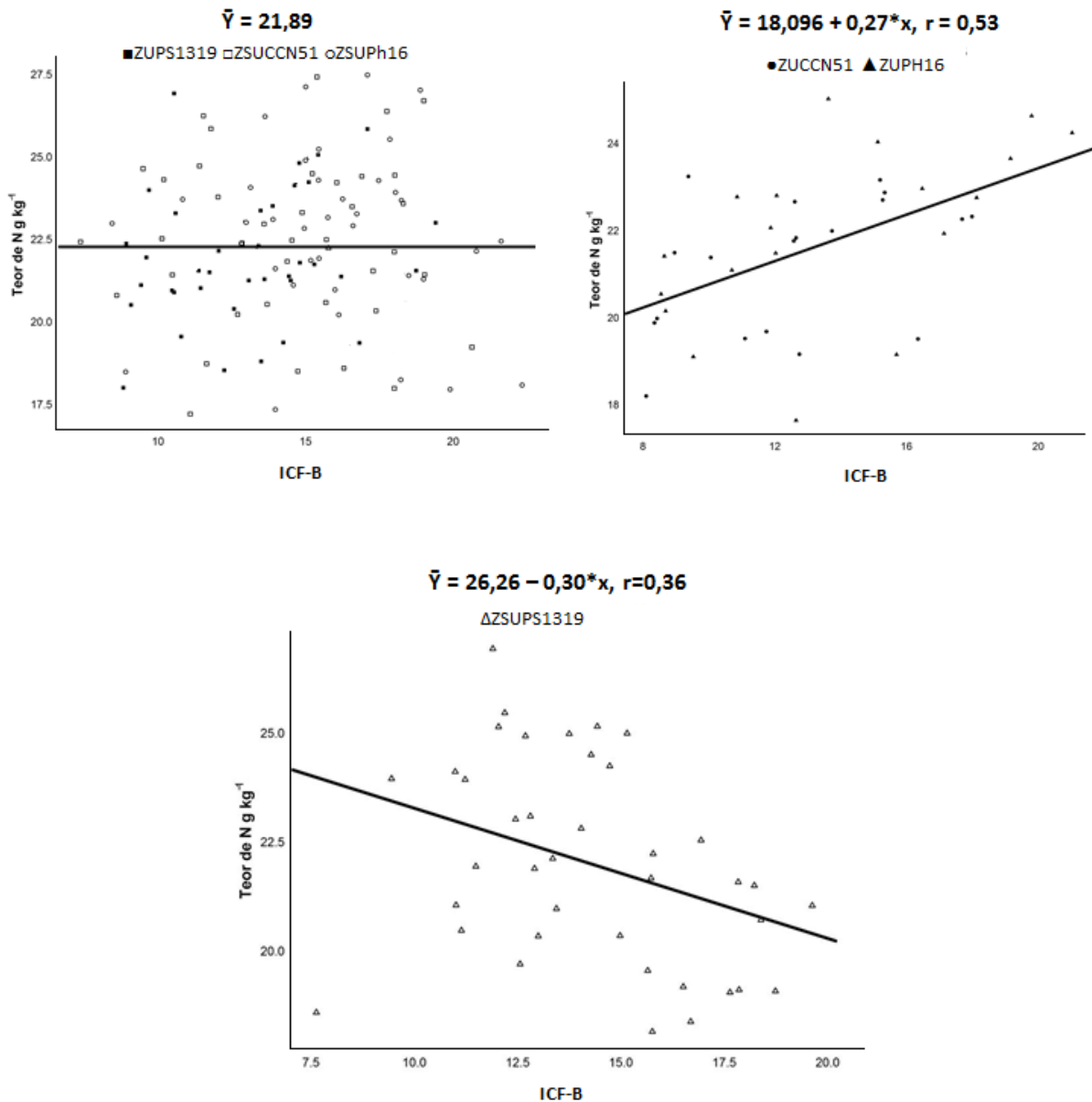


Figura 2.2 – Equações das análises de regressão mostrando a relação entre o ICF-B e teor foliar de N em cacauzeiros na ZU e ZSU para os três clones. * Significativo a 5 % de probabilidade pelo teste F.

A inclusão da MFE na análise de regressão linear múltipla possibilitou acréscimo no coeficiente de correlação múltiplo ($r=0,59$ e $0,57$, ICF-B e ICF-total, respectivamente) em relação ao coeficiente de correlação linear simples ($r=0,53$ ambos clones). A regressão linear múltipla (Tabela 2.5) mostra que a variável MFE foi significativa, indicando que a inclusão da mesma melhora significativamente a

capacidade preditiva do mesmo. Resultado semelhante foi observado por Van den Berg e Perkins (2004; apud Dantas, 2011).

Tabela 2.5 – Equações de regressão múltipla, ajustadas para estimativa do teor de N foliar de cacauzeiros, para os clones PH16 e CCN51, em função dos ICF-B, ICF-total e massa foliar específica (MFE), na zona úmida (ZU) do sul da Bahia

Variável	Equação de regressão	R
ICF-B	$\bar{Y} = 4,08 + 0,372^{**}\text{ICF-B} + 0,432^{*}\text{MFE} - 0,0036^{*}\text{MFE}^2$	0,59
ICF-total	$\bar{Y} = -3,08 + 0,182^{**}\text{ICF-total} + 0,509^{*}\text{MFE} - 0,0041^{*}\text{MFE}^2$	0,57

** e *, significativo a 1 e 5 % de probabilidade pelo teste F, respectivamente.
ns – não significativo.

2.4 CONCLUSÕES

- Para o teor foliar de N, não houve diferença estatística entre zonas climáticas, nem entre clones.
- Apesar de algumas correlações significativas, houve baixa relação entre os Índices de Clorofila obtidos pelo Clorofilog e o teor foliar de N, em cacauzeiros cultivados em sistemas agrossilvicultural.

2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARGENTA, G. et al. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.13, n.2, p.158-167. 2001.

BARBOSA FILHO, M. P. et al. Determinação da necessidade de adubação nitrogenada de cobertura no feijoeiro irrigado com auxílio do clorofilômetro portátil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, p. 1843-1848, 2008.

BRITO-ROCHA, E. **Métodos e modelos para estimativas da área foliar de espécies arbóreas da Mata Atlântica**. Dissertação (Mestrado em Botânica). Programa de Pós-graduação em Botânica, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, BA, 2013. 59p.

CANTARUTTI, R. B. et al. Avaliação da fertilidade do solo e recomendação de fertilizantes. In: NOVAIS, R. F. et al. **Fertilidade do solo**. Viçosa: SBCS, p. 770-845, 2007.

CARVALHO, M. A. F. et al. Utilização do clorofilômetro para racionalização da adubação nitrogenada nas culturas do arroz e do feijão. 2012. 14 p. (**Comunicado Técnico 205**).

COELHO, F. S. et al. Avaliação do estado nutricional do nitrogênio em batateira por meio de polifenóis e clorofila na folha. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, n. 4, p. 584-592, 2012.

COELHO, F. S. et al. Dose de nitrogênio associada à produtividade de batata e índices do estado de nitrogênio na folha. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 34, n. 04, p. 1175-1183, 2010.

COELHO, F. S. et al. Uso do clorofilômetro como indicador da necessidade de adubação nitrogenada em cobertura na batateira. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 4017- 4025, 2011.

- COSTA, K. A. P. et al. Doses e fontes de nitrogênio em pastagem de capim-marandu: II-Nutrição nitrogenada da planta. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, n. 4, p.1601-1607, 2008.
- DANTAS, P. A. S. **Relação entre fertilidade do solo e nutrição do cacaueteiro no sul da Bahia**. 2011. 91 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus.
- DANTAS, P. A. S. et al. Estimativa não destrutiva do teor foliar de nitrogênio em cacaueteiro utilizando clorofilômetro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 3, p. 669-677, 2012.
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Manual de Métodos de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes**. Embrapa Solos, Embrapa Informática Agropecuária, Brasília, 623 p., 2009.
- ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 3, n. 1, p. 39-45, 1991.
- FALKER AUTOMAÇÃO AGRÍCOLA LTDA. **Manual do medidor eletrônico de clorofila ClorofiLOG CFL 1030**, Porto Alegre, 2008. 4p.
- GODOY, L. J. G. et al. Índice relativo de clorofila e o estado nutricional em nitrogênio durante o ciclo do cafeeiro fertirrigado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 32, p. 217-226, 2008.
- GODOY, L. J. G. et al. Uso do clorofilômetro no manejo da adubação nitrogenada para milho em sucessão a pastagem de *Brachiaria decumbens*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 1, p. 38-44, 2007.
- GODOY, L. J. G. et al. Intensidade da cor verde e concentração de nitrogênio na lâmina foliar da grama Santo Agostinho como indicativos do estado nutricional em nitrogênio. In: SIGRA, 3, **Anais**. Botucatu, SP: UNESP/FCA, 2006. (CD-ROM).

GUIMARÃES, T. G. et al. Teores de clorofila determinados por medidor portátil e sua relação com formas de nitrogênio em folhas de tomateiro cultivado em dois tipos de solo. **Bragantia**, Campinas, v. 58, n. 1, p. 209-216, 1999.

IBARRA, L. et al. Growth and yield of muskmelon in response to plastic mulch and row covers. **Scientia Horticulturae**, Coah, v. 87, n. 1-2, p. 139-145, 2001.

LEAL, R. M. et al. Adubação nitrogenada na implantação e na formação de pomares de caramboleira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.8, p.1111-1119, 2007.

MANDARINO, E. P.; GOMES, A. R. S. Produtividade do cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.) cultivado em blocos monoclonais, no sul da Bahia, Brasil. Ilhéus: CEPLAC/CEPEC, 2009. 32p. (**Boletim Técnico nº 197**).

MARANHÃO, C. M. A. et al. Produção e composição químico-bromatológica de duas cultivares de Braquiária adubadas com nitrogênio e sua relação com o índice SPAD. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v. 31, n. 2, p.117-122, 2009.

MATTJE, V. M. et al. Evaluation of rice cultivars contrasting in doses of nitrogen in soils of irrigated lowland. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, Gurupi, v. 4, p. 126-133, 2013.

MERCADO-LUNA, A. et al. Nitrogen determination on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seedlings by color image analysis (RGB). **African Journal of Biotechnology**, Lagos, v. 9, n. 33, 2013.

MIELKE, M. S. et al. Use of a SPAD meter to estimate chlorophyll content in *Eugenia uniflora* L. leaves as affected by contrasting light environments and soil flooding. **Photosynthetica**, Praga, v. 48, n. 3, p. 332-338, 2010.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; SILVA JUNIOR, J. F. Resistência estomática, tensão de água no xilema e teor de clorofila em genótipos de gravioleira. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 58, n. 3, p. 491-495, 2001.

RAMBO, L. et al. Monitoramento do nitrogênio na planta e no solo para predição da adubação nitrogenada em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 3, p. 407-417, 2007.

REIS, A. R. et al. Diagnóstico da exigência do cafeeiro em nitrogênio pela utilização do medidor portátil de clorofila. **Bragantia**, Campinas, v.65, n.1, p.163-171, 2006.

SALLA, L. et al. Teores de clorofila em árvores tropicais determinados com o SPAD – 502. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, Supl. 2, p.159-161, 2007.

SCHEPERS, J. S. et al. Comparison of corn leaf nitrogen concentration and chlorophyll meter readings. **Communications in soil science and plant analysis**, New York, v.17-20 n.23, p.2173-2187, 1992.

SCHEPERS, J. S. et al. Transmittance and reflectance measurements of corn leaves from plants with different nitrogen and water supply. **Journal Plant Physiology**, Stuttgart, n.148, p.523-529, 1996.

SEI – Superintendência de estudos econômicos e sociais da Bahia. **Informações geoambientais**. Disponível em:

<http://www.sei.ba.gov.br/site/geoambientais/cartogramas/pdf/carto_tip_clim.pdf>

Acessado em 10 de novembro de 2015.

SILVA, D. V. **Métodos não destrutivos para estimativas de clorofilas como indicadores da qualidade de mudas de espécies florestal**. 2014. 62 p.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus.

SOUZA JÚNIOR, J.O. et al. Diagnose Foliar na Cultura do Cacau. In: Prado, R.M. (Ed.). **Nutrição de plantas: diagnose foliar em frutíferas**. Jaboticabal, SP: FUNEP, p. 443-476. 2012.

3. CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO DO USO DE IMAGEM DIGITAL PARA ESTIMAR TEORES DE NITROGÊNIO EM CACAU

RESUMO

A reflectância das folhas pode ser alternativa para estimar a teor de nitrogênio (N) na planta, devido à relação entre o teor de clorofila e o de N no tecido foliar. O uso da imagem digital para avaliar o estado nutricional de N vem sendo testado para algumas culturas. As imagens formadas nas telas dos computadores, normalmente, utilizam o sistema RGB para a definição de cores. Nesse sistema, cada tom de cor é definido por três canais: R (vermelho), G (verde) e B (azul). Partindo do princípio de que a deficiência de N leva à redução na intensidade da coloração verde das folhas, estas medidas podem ser utilizadas para monitorar o teor de N. O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso da imagem digital para predizer o status nutricional de N em cacauzeiros. Foram selecionadas 20 propriedades rurais no sul da Bahia, que possuem lavoura cacauzeira em sistema agrossilvicultural e sem irrigação. Dentre as propriedades rurais que foram selecionadas, 10 estavam em zona úmida (ZU) e 10 em zona úmida a subúmida, denominada aqui apenas de zona subúmida (ZSU). Os materiais genéticos selecionados para trabalho foram os clones PH16, CCN51 e PS1319. Em cada propriedade, quatro plantas de cada clone, com idade superior a cinco anos, foram selecionadas em situações edáficas e topográficas distintas. No período de janeiro a maio foram coletadas quatro folhas sadias por planta (terceira folha a partir do ápice de um ramo amadurecido, sem lançamentos). As folhas foram cortadas transversalmente em três partes, sendo o ápice e a base descartados e a porção da central, face adaxial, escaneada no máximo oito horas após a coleta. As imagens digitais foram analisadas no software Image J, obtendo-se a área do fragmento foliar e; em duas áreas delimitadas, localizadas na porção central dos lados opostos da nervura central, determinaram-se os valores red (R), green (G) e blue (B). A partir destes índices, médias de duas leituras por folha e de quatro folhas por planta, foram calculados os índices RGB sugeridos por diferentes autores e resumidas no trabalho de Riccardi et al. (2014): R, G, B, $(R-B)/(R+B)$, $G/(R+G+B)$, $R/(R+G+B)$, G/R , $R+G+B$, $R-B$, $R+B$ e $R+G$. Determinou-se também a massa foliar específica, obtida pela divisão da massa pela área do fragmento foliar. O teor foliar de N foi submetido à análise de variância, para avaliar possíveis diferenças entre região climática e clone. Fez-se também análise de correlação linear simples de Pearson e posteriormente análise de regressão simples e múltipla, sendo os modelos de regressão semelhantes, por região e clone, comparados entre si pelo intervalo de confiança dos coeficientes da regressão. Nas condições deste estudo, não houve boas correlações entre índices RGB e o teor foliar de N em cacauzeiro cultivados em sistemas agrossilvicultural no sul da Bahia; sugerindo que, para estas condições, o método da análise de imagem digital possui baixa capacidade preditiva do estado nutricional de N. As correlações obtidas entre os índices RGB e os teores de N foram superiores na zona úmida quando comparadas com a zona subúmida, principalmente para os clones PH16 e CCN51.

Palavras-chave: Diagnóstico nutricional, *Theobroma cacao*, pigmentos fotossintéticos, índices RGB.

3. CHAPTER 2 – IMAGE USE REVIEW DIGITAL TO ESTIMATE OF NITROGEN CONTENT IN COCOA

ABSTRACT

The reflectance of the sheets can be an alternative for estimating the nitrogen content (N) in the plant, due to the relationship between the content of chlorophyll and N in leaf tissue. The use of digital imaging to assess the nutritional status of N has been tested for some crops. The images formed on computer screens normally use RGB for color definition. In this system, each color tone is defined by three channels: R (red), G (green) and B (blue). Assuming that N deficiency leads to reduction in the intensity of the green color of the leaves, these measures can be used to monitor the content of N. The objective of this study was to evaluate the use of digital imaging to predict the nutritional status of N in cocoa. 20 farms were selected in the south of Bahia, who own cocoa plantation in agroforestry system and without irrigation. Among the farms that were selected, 10 were in humid zone (ZU) and 10 in the sub-humid and humid, called here only sub-humid zone (ZSU). The selected genetic material to work are the PH16, CCN51 and PS1319 clones. In each property, four plants of each clone, over the age of five years were selected in different soil and topographical conditions. In the period from January to May were collected four healthy leaves per plant (third leaf from the apex of a mature branch without releases). The leaves were sliced into three parts, with the apex and the base discarded and the central portion, adaxial face, scanned a maximum of eight hours of collection, using the HP Scanjet 2400 scanner. Digital images were analyzed with the software Image J yielding area and the leaf fragment; in two areas delimited by a rectangle of 8.84 by 0.91 cm, located on opposite sides of the central portion of the center rib, the red values were determined red (R), green (G) and blue (B), which correspond to the amounts of red, green and blue light reflected by the image. From these figures, averaging two readings per sheet and four leaves per plant, we calculated indexes RGB suggested by various authors and summarized in working Riccardi et al. (2014): R, G, B, $(R-B)/(R+B)$, $G/(R+G+B)$, $R/(R+G+B)$, G/R , $R+G+B$, $R-B$, $R+B$ and $R+G$. Also determined it is specific leaf mass, obtained by dividing the mass area of the leaf fragment. The foliar N was subjected to analysis of variance to assess possible differences between climate and region clone. It is also made analysis of simple linear correlation of Pearson, up to 5 % significance by t test; and then simple regression analysis and multiple 5 % probability, and the similar regression models, by region and clone, compared with each other by the confidence interval of the coefficients of regression. In our study, there was no good correlations between indexes RGB and leaf nitrogen content in cocoa grown in agroforestry systems in southern Bahia; suggesting that, for these conditions, the method of digital image analysis has low predictive ability of the nutritional status of N. The correlations between the indexes RGB and N contents were higher in humid zone compared with the sub-humid zone, especially for the PH16 and CCN51 clones.

Keywords: Nutritional diagnosis, *Theobroma cacao*, photosynthetic pigments, RGB index.

3.1 INTRODUÇÃO

Entre os diversos nutrientes utilizados na agricultura, o nitrogênio (N) é o que desperta maiores atenções por parte de produtores e de pesquisadores em todo o mundo. Nas condições dos países em desenvolvimento esse interesse decorre do custo relativamente elevado dos fertilizantes nitrogenados e do potencial de resposta das culturas (SENA JUNIOR et al., 2007).

Buscando otimizar a tomada de decisão em relação à recomendação de adubação nitrogenada, há incentivo a pesquisas visando o estudo de métodos alternativos de avaliar o estado nutricional de N em plantas, de forma rápida e com menos custo para o produtor. Schröder (2000), apud Sena Junior et al. (2007), afirma que o N deve ser utilizado com cuidado para maximizar o retorno econômico, reduzir a susceptibilidade da cultura a pragas e doenças, melhorar a qualidade da cultura, poupar energia e proteger o meio ambiente.

A intensidade da cor verde da folha pode ser alternativa para estimar o teor de N na planta, devido à relação entre o teor de clorofila e o de N no tecido foliar. A manipulação das imagens digitais, por meio de programas editores de imagem, fornece índices que expressam a cor verde da planta, podendo correlacionar-se positivamente com o teor de N na folha (BACKES et al., 2010; LIMA et al., 2012).

De acordo com Godinho et al. (2008), as imagens formadas nas telas dos computadores, normalmente, utilizam o sistema RGB para a definição de cores. Neste sistema, cada tom de cor é definido por três canais: R (vermelho), G (verde) e B (azul), cada canal possui valores que variam de 0 a 255, permitindo uma combinação de 2563 tonalidades em cada pixel, refletindo cores diferentes de acordo com a combinação desses três canais. Partindo do princípio de que a deficiência de N leva à redução na intensidade da coloração verde das folhas, estas medidas podem ser utilizadas para monitorar o teor deste nutriente.

No entanto para que os índices obtidos por este método sejam utilizados de forma correta eles precisam estar calibrados de acordo com a cultura que será estudada. O uso da imagem digital para avaliar o estado nutricional de N vem sendo testado para algumas culturas como algodão, forrageiras, eucalipto, entre outras, apresentando correlações significativas entre o teor foliar de N e os índices RGB (BACKES et al., 2010; ROSSATO et al., 2012; ROCHA et al., 2013).

Na cacauicultura, até o momento, não há estudos relacionados ao emprego desse método de análise. Por esse motivo, o objetivo desse estudo foi avaliar o uso da imagem digital para prever o status nutricional de N em cacauzeiros.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionadas 20 propriedades rurais no sul da Bahia, em 16 municípios (Tabela 3.1), que possuem lavoura cacauzeira em sistema agrossilvicultural e sem irrigação. Dentre as propriedades rurais que foram selecionadas, dez estavam em zona úmida (ZU) e dez em zona úmida a subúmida, denominada neste texto apenas de zona subúmida (ZSU) (SEI, 2015).

A ZU não possui estação seca definida e se enquadra em sete tipos climáticos segundo Thornthwaite: B4r A', B3r A', B2r A', B2r B', B1r A', B1r' A' e B1w A'. A ZSU possui um a dois meses de seca e se enquadra em quatro tipos climáticos: C2d A', C2d' A', C2d B' e C2w A' (SEI, 2015).

Tabela 3.1 - Municípios e número de propriedades, por zona climática do sul da Bahia, onde este trabalho foi desenvolvido.

Zona climática úmida (ZU)		Zona climática subúmida (ZSU)	
Município	Nº de propriedades	Município	Nº de propriedades
Uruçuca	1	Ipiaú	3
Teolândia	1	Itagibá	2
Itamarí	1	Ibirataia	2
Piraí do Norte	1	Barra do Rocha	1
Ibirapitanga	1	Itagi	1
Gandu	1	Gongogi	1
Wenceslau Guimarães	1		
Ubatã	1		
Uma	1		
Ilhéus	1		

Os materiais genéticos selecionados para trabalho foram os clones PH16, CCN51 e PS1319, por serem clones bastante difundidos na região, além de terem boa produtividade e tolerância a vassoura de bruxa (MANDARINO e GOMES, 2009). Em cada propriedade foram selecionadas quatro plantas de cada clone, com idade superior a cinco anos, em situações edáficas e topográficas distintas, buscando-se

atingir maior variedade de solo possível. No período de janeiro a maio de 2015 foram coletadas quatro folhas sadias por planta, uma em cada quadrante, na meia altura da copa da planta (terceira folha a partir do ápice de um ramo amadurecido, sem lançamentos) (SOUZA JÚNIOR et al., 2012).

As folhas foram cortadas transversalmente em três partes, sendo o ápice e a base descartados e a porção da central, face adaxial, escaneada em no máximo oito horas após a coleta, utilizando o scanner HP scanjet 2400. O método de análise de imagens obtidas por scanner de mesa é considerado mais preciso, sendo utilizado como referência por vários autores (LOPES et al., 2007; CUNHA et al., 2010; LUCENA et al., 2011).

As imagens digitais foram salvas no formato TIFF (100 dpi) e analisadas no software Image J (<http://rsb.info.nih.gov/ij/download.html>), obtendo-se a área do fragmento foliar. Ainda com auxílio do software, delimitaram-se duas áreas retangulares de 8,84 por 0,91 cm, localizadas na porção central dos lados opostos da nervura central e determinaram-se os valores red (R), green (G) e blue (B), os quais correspondem, respectivamente, as quantidades de luz vermelha, verde e azul refletidas pela imagem. A partir destes índices, médias das duas leituras por folha e de quatro folhas por planta, calculou-se os índices RGB sugeridos por diferentes autores e resumidos no trabalho de Riccardi et al. (2014): $(R-B)/(R+B)$, $G/(R+G+B)$, $R/(R+G+B)$, G/R , $R+G+B$, $R-B$, $R+B$ e $R+G$.

Determinou-se também a massa foliar específica (MFE), obtida pela divisão da massa pela área do fragmento foliar. O teor foliar de N foi submetido à análise de variância, para avaliar possíveis diferenças entre região climática e clone. Fez-se também análise de correlação linear simples de Pearson, a até 5 % de significância pelo teste t; e posteriormente análise de regressão simples e múltipla a 5 % de probabilidade, sendo os modelos de regressão semelhantes, por região e clone, comparados entre si pelo intervalo de confiança dos coeficientes da regressão.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De modo geral, as correlações obtidas entre os índices RGB e os teores de N foram superiores na ZU quando comparadas com a ZSU (Tabela 3.3), principalmente para os clones PH16 e CCN51, sendo a maioria dessas correlações

negativas para todos os clones, indicando que essas variáveis são inversamente proporcionais, quando uma variável aumenta a outra diminui. Silva (2014) observou que um menor teor de clorofila, conseqüentemente menor teor de N, já que este faz parte da molécula de clorofila, faz com que as espécies apresentem uma menor absorção da radiação luminosa na região do espectro entre 500 nm e 650 nm, portanto uma maior reflectância, dessa forma são obtidos maiores valores de índices RGB visto que eles são medidos baseados na reflectância da folha. Para estes dois clones na ZU, os índices que obtiveram melhores correlações com os teores de N foram: R, G, R+G, R-B e R+G+B.

Na ZSU os clones PH16 e CCN51 apresentaram geralmente correlações não significativas. Comportamento semelhante ao observado para o clone PS1319, em ambas zonas climáticas, mostrando baixo relacionamento entre as variáveis analisadas, com exceção para o índice G/R que apresentou boa correlação com o teor de N na ZSU nos clones PS1319 e CCN51.

O modelo de regressão selecionado para predição do teor de N pelos índices RGB na ZU para os clones CCN51 e PH16 foi o linear (Figuras 3.1B, 3.2B, 3.3B, 3.4B, 3.5B, 3.6B). A predição do teor de N pelo índice G/R, apresentou comportamento diferente entre zonas e entre clones quando comparado aos outros índices, para ele foi selecionado o modelo regressão linear na ZSU para todos os clones (Figura 3.7A) e para os clones PS1319 e PH16 na ZU (Figura 3.7B). Ao analisar o intervalo de confiança do intercepto (β_0) e do coeficiente angular (β_1) dos modelos dos clones PH16 e CCN51 na ZU com os índices R, G, R+G, R+B, R-B e R+G+B), verificou-se sobreposição dos mesmos indicando que ambos poderiam ser expressos como um único modelo (Figura 3.1B, 3.2B, 3.3B, 3.4B, 3.5B e 3.6B), o mesmo ocorreu com os clones PS1319 e PH16 na ZU (Figura 3.7B) e com todos os clones na ZSU (Figura 3.7A) para o índice G/R, porém os modelos, apesar de significativos, apresentaram baixa capacidade preditiva, visto que o coeficiente de correlação foi baixo (Figura 3.1B, 3.2B, 3.3B, 3.4B, 3.5B, 3.6B, 3.7A e 3.7B).

Tabela 3.3 – Correlação linear de Pearson entre os teores foliares de N e índices RGB, para três clones de cacauzeiros, em duas zonas climáticas, do sul da Bahia: zona úmida (ZU) e zona subúmida (ZSU)

	PH16		PS1319		CCN51		Todos os clones		
	ZU	ZSU	ZU	ZSU	ZU	ZSU	ZU	ZSU	ZU+ZSU
R	-0,45**	-0,23 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,67**	-0,14 ^{ns}	-0,39**	-0,13 ^{ns}	-0,25**
G	-0,46**	-0,12 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	0,23 ^{ns}	-0,58**	-0,02 ^{ns}	-0,38**	0,00 ^{ns}	-0,17**
B	-0,20 ^{ns}	-0,04 ^{ns}	-0,12 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	-0,44**	0,03 ^{ns}	-0,20*	-0,02 ^{ns}	-0,07 ^{ns}
R + G	-0,46*	-0,16 ^{ns}	-0,17 ^{ns}	0,14 ^{ns}	-0,63**	-0,07 ^{ns}	-0,39**	-0,05 ^{ns}	-0,21**
R + B	-0,36*	-0,42**	-0,16 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	-0,61**	-0,20 ^{ns}	-0,33 ^{ns}	-0,23**	-0,19**
R + G + B	-0,41**	-0,24 ^{ns}	-0,16 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	-0,61**	-0,08 ^{ns}	-0,36**	-0,08 ^{ns}	-0,19**
R – B	0,43**	-0,11 ^{ns}	-0,15 ^{ns}	0,06 ^{ns}	-0,58**	0,10 ^{ns}	0,37**	0,07 ^{ns}	-0,23**
G/R	-0,13 ^{ns}	0,30*	0,11 ^{ns}	0,50**	0,37**	-0,48**	0,16 ^{ns}	0,40**	0,25**
R/(R + G + B)	-0,29*	-0,18 ^{ns}	-0,11 ^{ns}	-0,13 ^{ns}	-0,47**	-0,23 ^{ns}	-0,27**	-0,19*	-0,25**
G/(R + G + B)	-0,19 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,34*	0,05 ^{ns}	-0,06 ^{ns}	-0,10 ^{ns}	0,10 ^{ns}	-0,02 ^{ns}
(R - B)/ (R + B)	-0,16 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	-0,08 ^{ns}	0,08 ^{ns}	-0,36*	-0,09 ^{ns}	-0,14 ^{ns}	-0,05 ^{ns}	-0,07 ^{ns}

** Significativo a 1 % de probabilidade pelo teste t.

* Significativo a 5 % de probabilidade pelo teste t.

ns – não significativo.

As figuras 3.1A, 3.2A, 3.3A, 3.4A, 3.5A, 3.6A mostram que não houve relação ($\bar{Y} = 21,89$) entre teor de N e os índices RGB para todos os clones na ZSU ($H_0: \beta_0 = 0$, rejeitou-se H_0) e para o clone PS1319 na ZU, com exceção para o índice G/R, onde não houve relação com teor de N apenas para o clone CCN51 na ZU ($\bar{Y} = 21,61$), ou seja, a análise da imagem digital não foi capaz de prever teores de N na situação apresentada. Fatores como ampla época de coleta, de janeiro a maio, podem ter influenciado no resultado, com início no verão e término no outono, havendo diferença na incidência luminosa entre essas estações, e essa incidência influenciar o teor de clorofila (ENGEL; POGGIANI, 1991), pigmento responsável pela cor verde da planta e ligados a teores de N.

A diferença de precipitação entre as zonas pode também ter influenciado no resultado obtido. Estudos realizados por Souza et al. (2002) com lima ácida 'Tahiti' mostram que o estresse hídrico pode ter efeito na radiação interceptada e refletida pela planta, naquele estudo o déficit hídrico reduziu a radiação interceptada, e aumentou a radiação refletida pelas árvores.

Diferente do aqui observado, Tewari et al. (2013), ao desenvolver modelos de regressão entre vários recursos de imagem e teor de N em planta verificou que os valores previstos de N foram linearmente correlacionados com os índices da imagem

($R^2 = 0,95$), mostrando que o teor de N na planta de arroz pode ser estimado com sucesso usando a imagem digital.

Riccardi et al. (2014), ao aplicar o uso da imagem digital para prever teores de clorofila em amaranto e quinoa, partindo do pressuposto que o teor de clorofila possui boa correlação com teores de N (SANT'ANA et al., 2010; MERCADO-LUNA et al., 2010), obteve altas correlações ($R^2 = 0,96$ e $0,97$, respectivamente), principalmente ao se tratar dos índices R e G.

As baixas correlações encontradas neste estudo sugerem que o método de análise da imagem digital pode não ser adequado para estimar teores foliares de N no cacaueteiro cultivado em sistema agroflorestal. Estudo feito por Vibhute e Bodhe (2013), ao contrário do ocorrido neste trabalho, concluíram que a análise da imagem digital pode ser útil para estimar exigências de N na produção de uvas em fase inicial, assim como Lima et al. (2012) mostraram que o uso de índices obtidos com a análise da imagem digital podem ser utilizados como ferramenta para auxiliar a recomendação da adubação nitrogenada para a cultura da grama-bermuda.

Ao fazer a análise de regressão múltipla, incluindo a MFE pode-se observar que houve acréscimo, mesmo que pequeno, nos coeficientes de correlação ($r=0,63$, $0,59$ e $0,62$, para os índices R, G e R+G respectivamente) (Tabela 3.4). Mostrou que a variável MFE foi significativa para os índices R, G e R+G, no indicando que a inclusão da mesma melhora significativamente a capacidade preditiva do método.

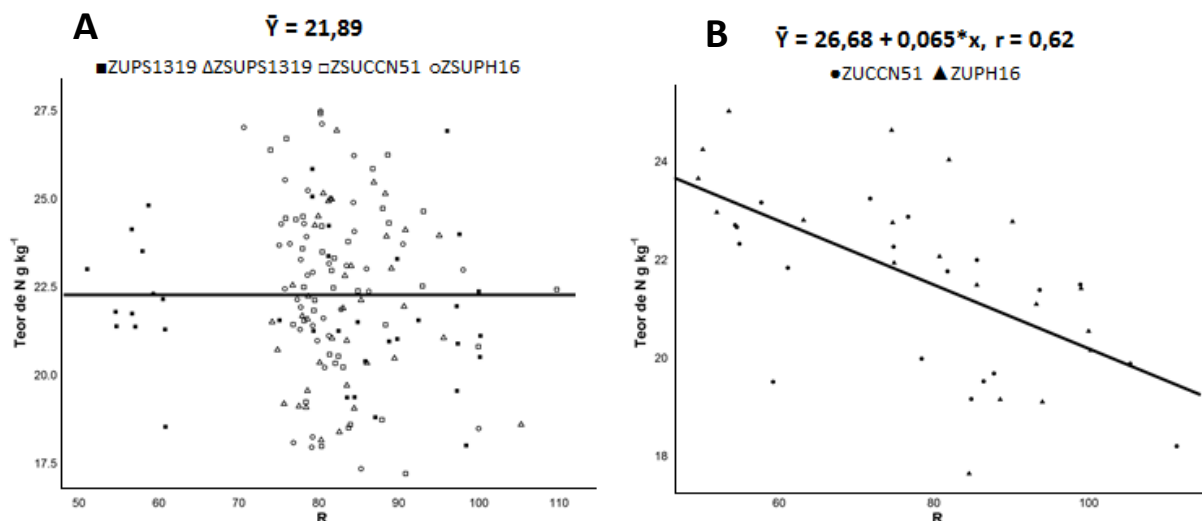


Figura 3.1 – Relação entre o índice R e o teor de N nas ZU, ZSU e entre clones. * Significativo a 5 % de probabilidade.

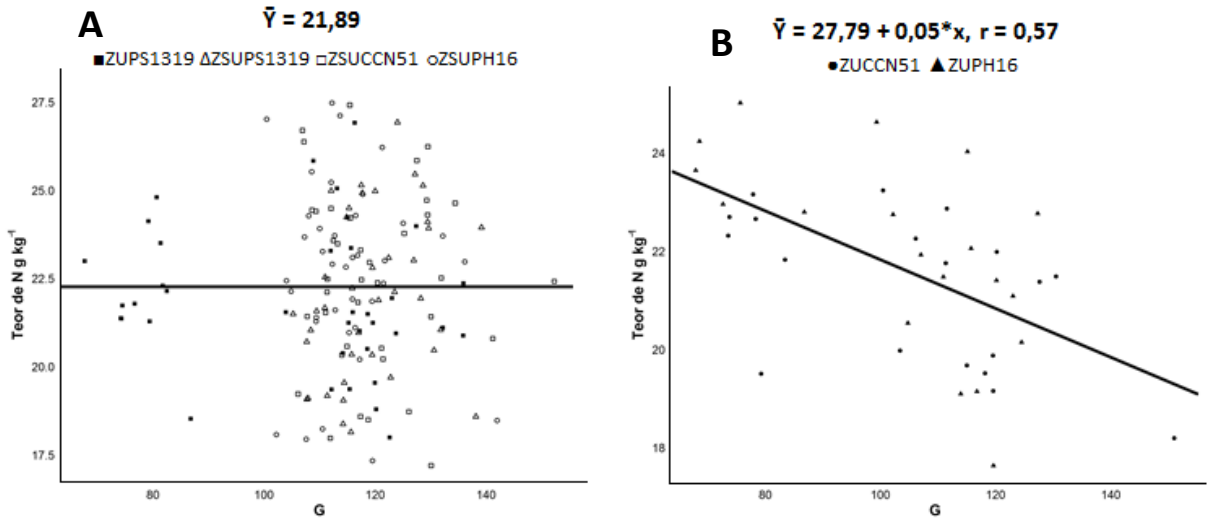


Figura 3.2 – Relação entre o índice G e o teor de N nas ZU, ZSU e entre clones. * Significativo a 5 % de probabilidade.

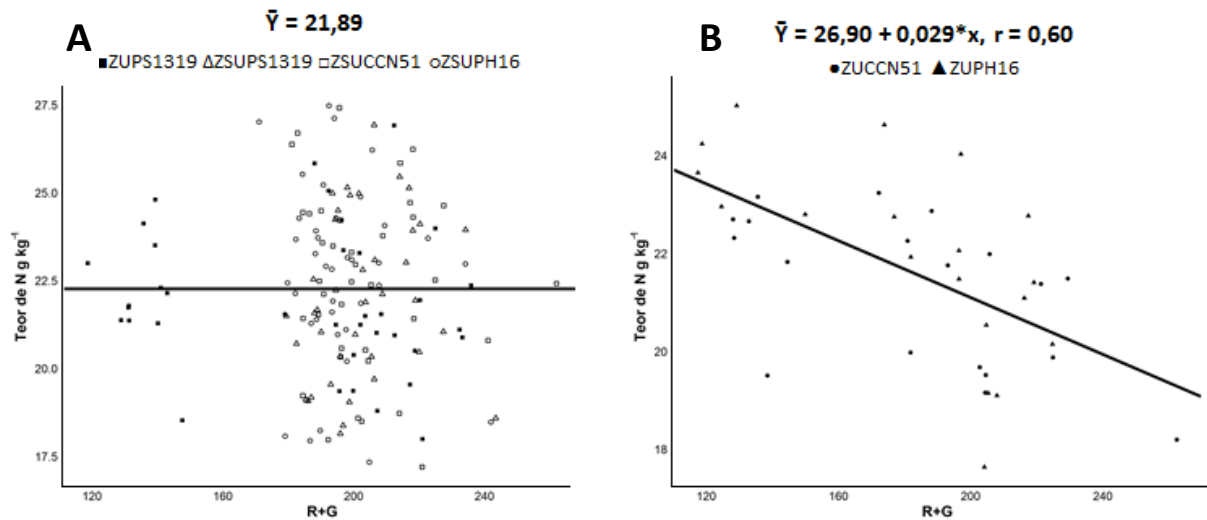


Figura 3.3 – Relação entre o índice R+G e o teor de N nas ZU, ZSU e entre clones. * Significativo a 5 % de probabilidade.

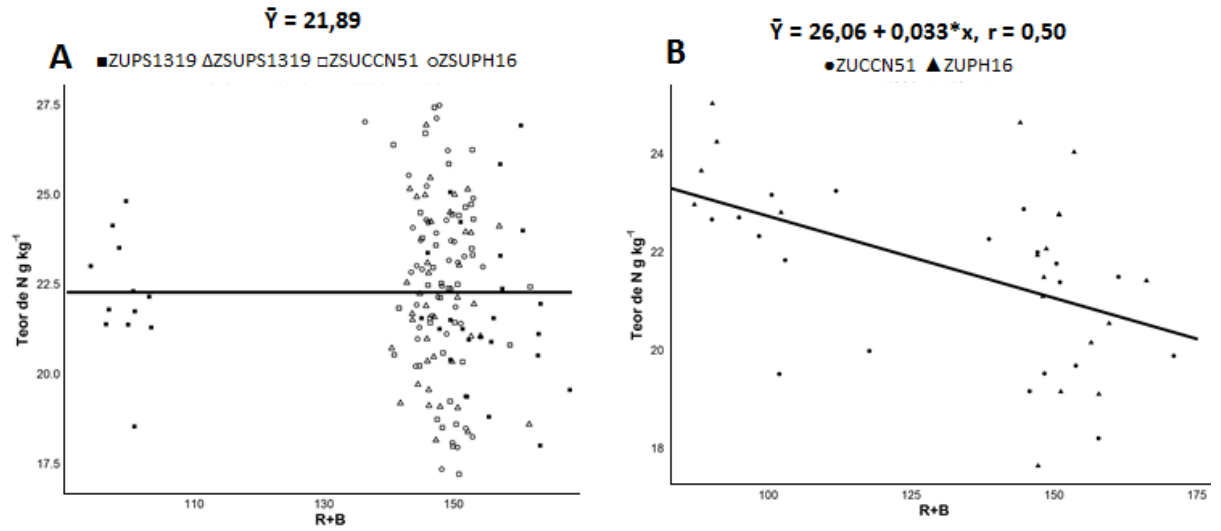


Figura 3.4 – Relação entre o índice R+B e o teor de N nas ZU, ZSU e entre clones. * Significativo a 5 % de probabilidade.

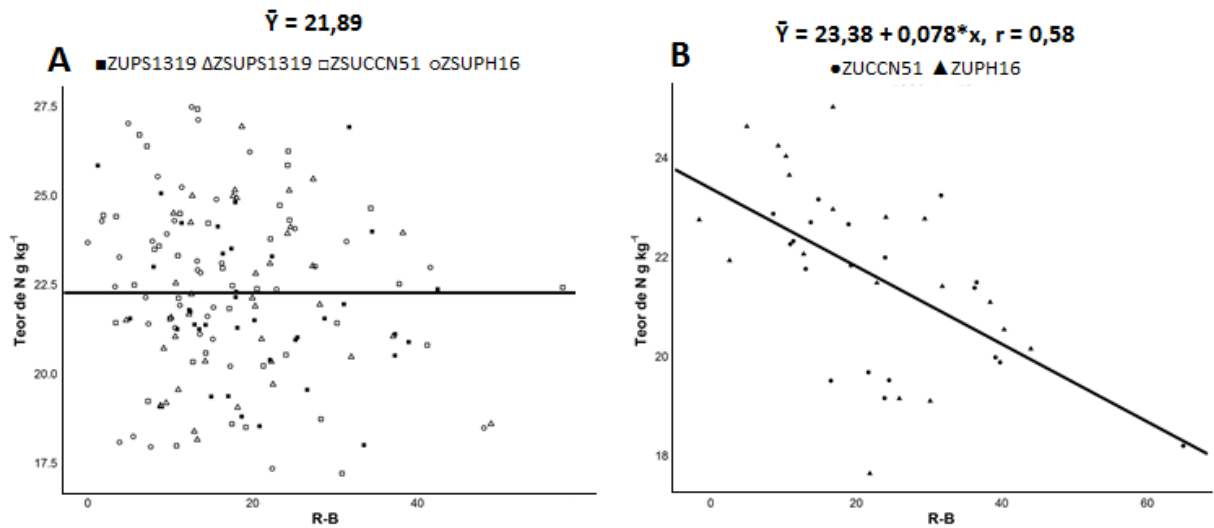


Figura 3.5 – Relação entre o índice R-B e o teor de N nas ZU, ZSU e entre clones. * Significativo a 5 % de probabilidade.

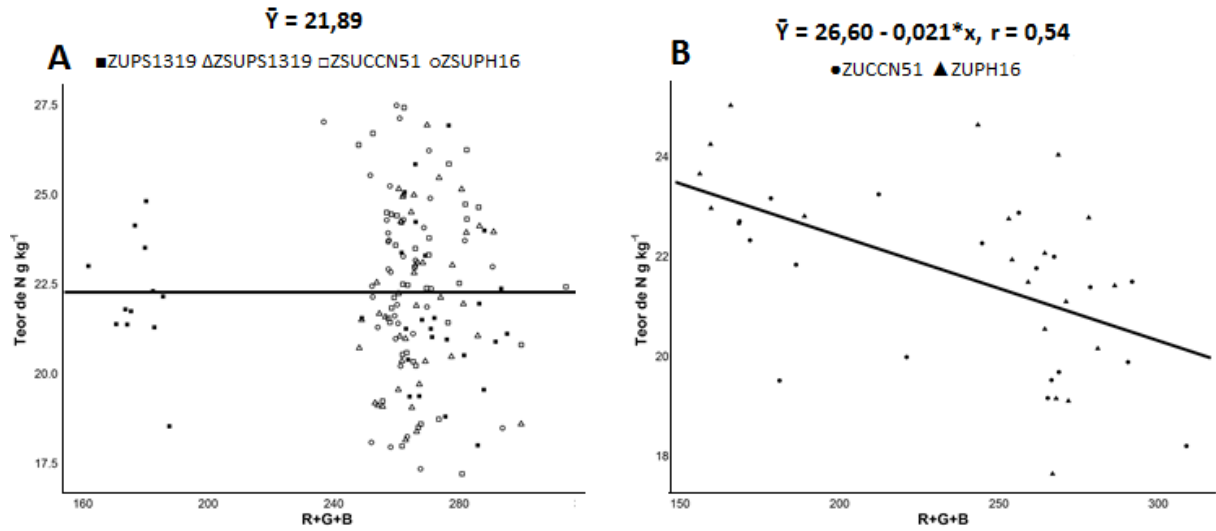


Figura 3.6 – Relação entre o índice R+B+G e o teor de N nas ZU, ZSU e entre clones. * Significativo a 5 % de probabilidade.

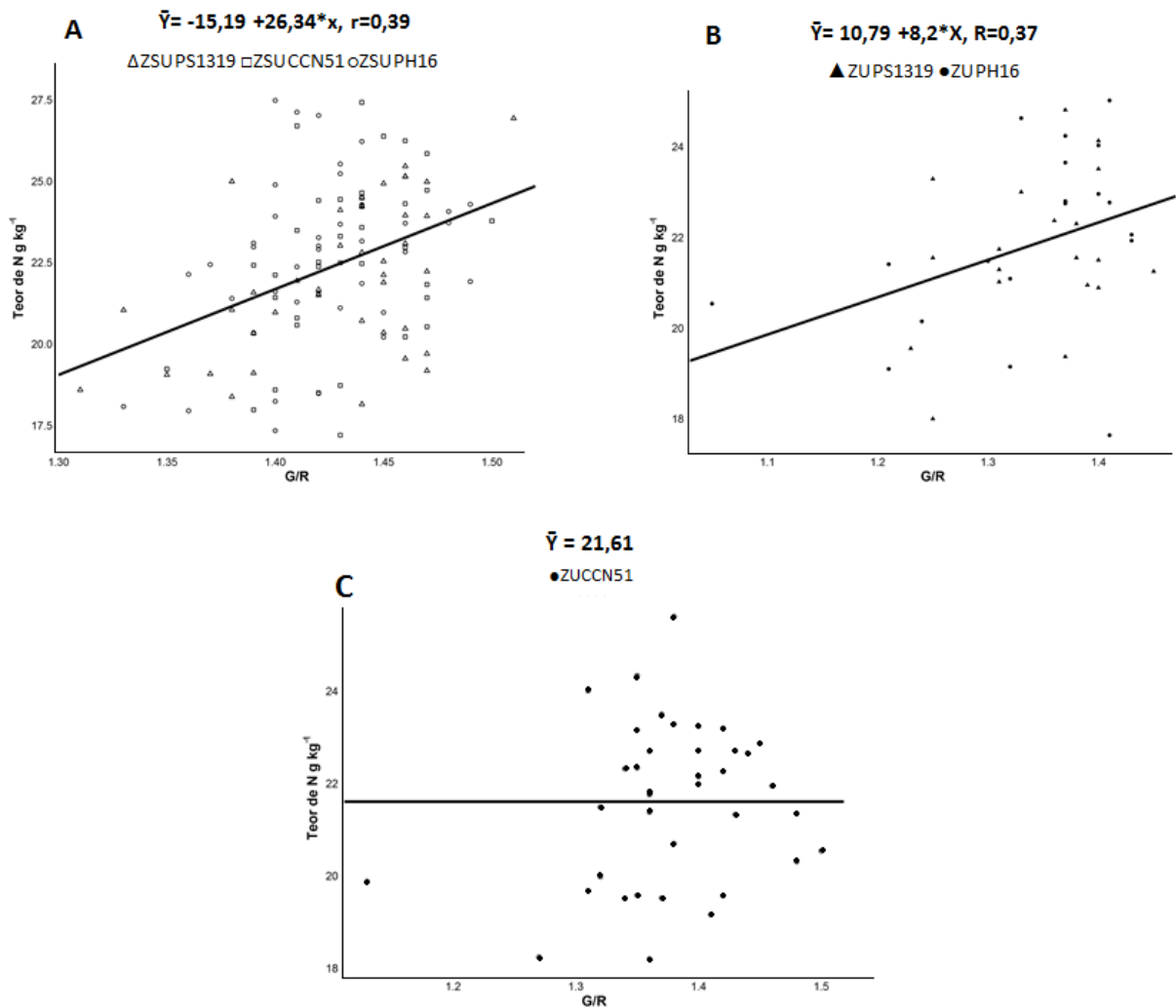


Figura 3.7 – Relação entre o índice G/R e o teor de N nas ZU, ZSU e entre clones. * Significativo a 5 % de probabilidade.

Tabela 3.4 – Equações de regressão linear múltipla, ajustadas para estimativa do teor de N foliar de cacauzeiros, clones PH16 e CCN51, em função dos índices RGB e massa foliar específica (MFE), na zona úmida (ZU) do sul da Bahia

Variáveis	Equação de regressão	R
R	$\bar{Y} = 54,42 - 0,378^{**}R - 0,398^{**} MFE$	0,63
G	$\bar{Y} = 54,55 - 0,276^{**}G - 0,398^{**} MFE$	0,59
R + G	$\bar{Y} = 57,13 - 0,171^{**}R+G - 0,435^{**} MFE$	0,62

** significativo a 1 % de probabilidade pelo teste F.

ns – não significativo.

3.4 CONCLUSÕES

- Nas condições deste estudo, não houve altas correlações entre índices RGB e o teor foliar de N em cacauzeiro cultivados em sistemas agrossilvicultural no sul da Bahia; sugerindo que, para estas condições, o método da análise de imagem digital possui baixa capacidade preditiva do estado nutricional de N.
- As correlações obtidas entre os índices RGB e os teores de N foram superiores na zona úmida, quando comparadas com a zona subúmida, principalmente para os clones PH16 e CCN51.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BACKES, C. et al. Estado nutricional em nitrogênio da grama esmeralda avaliado por meio de teor foliar, clorofilômetro e imagem digital, em área adubada com lodo de esgoto. **Bragantia, Campinas**, v. 69, n. 3, p. 661-668, 2010.
- CUNHA, J. L. X. L. et al. Comparação de métodos de área foliar em *Chrysobalanus icaco* L. **Agropecuária Ciência no Semiárido**, Patos, v. 6, n. 3, p. 22-27, 2010.
- ENGEL, V. L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 3, n. 1, p. 39-45, 1991.
- GODINHO, M. S. et al. Classificação de refrigerantes através de análise de imagens e análise de componentes principais (PCA). **Quim. Nova**, v. 31, n. 6, p. 1485-1489, 2008.
- LIMA, C. P. et al. Uso de índices de reflectância das folhas para avaliar o nível de nitrogênio em grama-bermuda. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 9, 2012.
- LOPES, S. B. et al. Estimativa da área foliar de meloeiro em estádios fenológicos por fotos digitais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 4, p. 1153-1156, 2007.
- LUCENA, R. R. M. et al. Medição de área foliar de aceroleira. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 24, n. 2, p. 4045, 2011.
- MERCADO-LUNA, A. et al. Nitrogen determination on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) seedlings by color image analysis (RGB). **African Journal of Biotechnology**, Lagos, v. 9, n. 33, 2013.
- RICCARDI, M. et al. Non-destructive evaluation of chlorophyll content in quinoa and amaranth leaves by simple and multiple regression analysis of RGB image components. **Photosynthesis research**, v. 120, n. 3, p. 263-272, 2014.

ROCHA, J. H. T. et al. Concentração de nutrientes e intensidade de cor verde em miniestacas de eucalipto. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 6, p. 1848-1856, 2013.

ROSSATO, O. B. et al. Sensores de reflectância e fluorescência na avaliação de teores de nitrogênio, produção de biomassa e produtividade do algodoeiro.

Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 47, n. 8, p. 1133-1141, 2012.

SANT'ANA, E. V. P. et al. Adubação nitrogenada na produtividade, leitura SPAD e teor de nitrogênio em folhas de feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 40, n. 4, p. 491-496, 2010.

SCHRODER, J. J. et al. Does the crop or the soil indicate how to save nitrogen in maize production? Reviewing the state of the art. **Field crops research**, Amsterdam, n. 66, p.151-164, 2000.

SEI – Superintendência de estudos econômicos e sociais da Bahia. **Informações geoambientais**. Disponível em:

<http://www.sei.ba.gov.br/site/geoambientais/cartogramas/pdf/carto_tip_clim.pdf>

Acessado em 10 de novembro de 2015.

SENA JÚNIOR, D. G. et al. Influência do solo na identificação de doses de nitrogênio em trigo utilizando classificadores multivariados com base em imagens digitais. In: XIII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 2007, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: INPE, 2007. p. 385-392.

SOUZA, M. J. H. de et al. Déficit hídrico e radiação interceptada e refletida pela limeira ácida "Tahiti". In: XII Congresso Brasileiro de Meteorologia, 2002, Foz de Iguaçu. **Anais...** CD ROM.

SOUZA JÚNIOR, J.O. et al. Diagnose Foliar na Cultura do Cacau. In: Prado, R.M. (Ed.). **Diagnose de plantas: diagnose foliar em frutíferas**. p. 443-476. 2012.

VALLE, R. R. M. Ciência, tecnologia e manejo do cacau. Brasília, DF: MAPA, 2012. p. 688.

TEWARI, V. K. et al. Estimation of plant nitrogen content using digital image processing. **Agricultural Engineering International: CIGR Journal**, Kyoto, v. 15, n. 2, p. 78-86, 2013.

VIBHUTE, A.; BODHE, K. Color image processing approach for nitrogen estimation of vineyard. **International Journal of Agricultural Science and Research**, Chennai, v. 3, n. 3, p. 189-195, 2013.