

Estimativa da área foliar em diferentes estados fenológicos baseada em descritores alométricos de rosas de corte cv 'Red Naomi'

P. M. Costa^{1,4}, I. Poças^{3,4}, S. Alves², M. Pereira¹, S.M.P. Carvalho^{1,5} e M. Cunha^{1,4*}

¹ Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Rua do Campo Alegre s.n., 4169-007 Porto, Portugal

² FlorAlves, Rua da Igreja, 1321, 4485-079 Vila do Conde, Portugal

³ Centro de Engenharia dos Biosistemas, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal

⁴ Geo-Space Sciences Research Center, Rua do Campo Alegre s.n., 4169-007 Porto, Portugal.

⁵ CBQF - Centro de Biotecnologia e Química Fina – Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa/Porto, Rua Dr. António Bernardino Almeida, 4200-072 Porto, Portugal

*Autor correspondente: mcunha@mail.icav.up.pt

Resumo

Existem disponíveis na literatura vários modelos para estimar a área foliar (AF), mas de um modo geral estes foram desenvolvidos para uma fase específica do ciclo cultural (geralmente a colheita). Este estudo teve como objetivo estimar a AF da rosa de corte cv 'Red Naomi' cultivada em sistema sem solo recorrendo a medições alométricas não-destrutivas em diferentes fases fenológicas. Para tal, foi desenvolvido um modelo estatístico baseado na técnica de “regressão múltipla passo a passo” e considerando os seguintes descritores: comprimento da folha (CF), largura da folha (LF), posição da folha (PF), número de folíolos (NF) e diferentes combinações destes descritores. O modelo desenvolvido, com base em 176 folhas a partir de 20 hastes colhidas em diferentes estados fenológicos, explicou 92% da variabilidade da AF ($R^2 = 0.92$; $n = 176$; $p < 0.000$). Este modelo inclui como parâmetros a posição numérica relativa da folha na haste (PRFn), $\ln(CF*LF)$ e NF sendo a diferença média absoluta entre a AF observada e a estimada inferior a 11 %. Conclui-se que o modelo obtido apresenta um elevado rigor e fiabilidade na estimativa da AF em situações muito diversas da fenologia da cultura.

Palavras-chave: alometria, área foliar, medições não-destrutivas, modelação, *Rosa hybrida*.

Abstract

A number of models for estimating leaf area (LA) are available in the literature, but these were frequently developed for a specific phase of the production (generally the harvest). This study aimed at estimating the LA in different phenological stages using non-destructive allometric measurements of cut rose cv 'Red Naomi' grown in soilless system. A statistical model was developed based on the following allometric measures: leaf length (LL), leaf width (LW), leaf position (LP), number of leaflets (NL) and different combinations of these parameters. The estimated model based on 176 leaves obtained from 20 stalks harvested at different developmental stages explained 92% of the LA variance ($R^2 = 0.92$, $n = 176$, $p < 0.000$). This model includes the numerical position of the leaf on the stem (PRFn), $\ln(LL*LW)$ and NL as parameters, and the mean absolute difference between measured and estimated LA was less than 11%. It is

concluded that the obtained model shows a high accuracy and reliability in the LA estimation in very diverse situations of crop phenology.

Keywords: allometry, *Rosa hybrida*, leaf area, non-destructive measurement, modelling.

INTRODUÇÃO

A área foliar (AF) é um parâmetro determinante em muitos processos de natureza fisiológica e agronómica, nomeadamente ao nível da fotossíntese, transpiração, do uso de água e nutrientes e da produtividade (Pandey and Singh 2011; Gao et al., 2012). Diversos modelos têm sido propostos para estimar a AF, baseando-se em medições diretas (geralmente destrutivas) ou indiretas das plantas. Estes modelos incluem o desenho, a fotografia digital, o processamento de imagens, a análise planimétrica e gravimétrica de folhas, colhidas direta ou indiretamente, ou a obtenção de modelos matemáticos baseados em medidas alométricas (Breda, 2003; Jonckheere et al., 2004; Cristofori et al., 2007; Can et al., 2012).

Apesar dos métodos diretos serem mais precisos, são contudo extremamente morosos, o equipamento necessário para a sua realização é muitas vezes dispendioso e acarretam por vezes constrangimentos na sua operacionalização, o que limita a sua aplicação (Jonckheere et al., 2004). Estes são também na sua maioria métodos destrutivos, não permitindo medições sucessivas da mesma folha e limitando por vezes a realização de outras medições ou experiências (Rouphael et al., 2010). São contudo importantes enquanto métodos de calibração dos métodos indiretos de medição da AF. Como método de referência na obtenção da AF destacam-se os planímetros portáteis de digitalização, como o LI-3000 (e.g. Licor, NE, USA) (Jonckheere et al., 2004).

Torna-se portanto imperativo a utilização de métodos de medição da AF que sejam não destrutivos e ao mesmo tempo rápidos, de fácil operacionalização, exatos e não dispendiosos. Uma abordagem através do desenvolvimento de modelos matemáticos baseados na correlação entre medidas biométricas da planta e a área das suas folhas pode constituir uma boa alternativa. Esta metodologia foi já aplicada a diferentes culturas hortícolas como o tomate e pepino (Blanco and Folegatti 2003), o pimento (De Swart et al., 2004), a fruteiras como a avelã (Cristofori et al., 2007) e a ornamentais como os antúrios, (Modenese et al., 2008). Apesar da enorme importância económica da roseira (*Rosa hybrida* L.) enquanto ornamental de referência (Rouphael et al., 2010; Gao et al., 2012) os métodos para estimar a AF apresentam ainda grandes limitações. Para esta cultura são de destacar os modelos relativos ao cálculo da área das suas folhas (Katsoulas et al., 2002; Gao et al., 2012), folíolos (Rouphael et al., 2010) e hastes (Suay et al., 2003), recorrendo a medidas alométricas como o comprimento e a largura das folhas ou folíolos, o número de folíolos, ou a altura da haste, permitindo este último uma obtenção mais expedita da AF da roseira. Contudo, a maioria dos modelos referidos foram desenvolvidos tendo em conta apenas um estado fenológico, geralmente o da colheita, o que limita a sua utilização ao longo do ciclo cultural. O desenvolvimento de modelos de previsão da AF capazes de acomodar diferentes estados de desenvolvimento das culturas é muito importante porque permite a sua aplicação em qualquer fase do ciclo cultural para suportar práticas culturais de grande importância agronómica, económica e ambiental como a gestão das necessidades hídricas das culturas e a parametrização das doses de aplicação de produtos fitofarmacêuticos, onde a AF constitui um importante parâmetro.

Este estudo teve como objetivo desenvolver uma metodologia não destrutiva de determinação da AF para a cultivar ‘Red Naomi’ baseada num modelo matemático dinâmico que seja capaz de acomodar as diferenças nas folhas ao longo do desenvolvimento da planta. O modelo preditor é baseado em medidas biométricas das folhas que podem ser obtidas de forma não destrutiva.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado numa estufa de vidro comercial do tipo ‘venlo’ (Floralves, Vila do Conde – Portugal; orientação Norte -Sul) com uma área aproximada de 1 ha. Trata-se de uma estufa dedicada à produção de rosas de corte (*Rosa hybrida* L.) em fibra de coco, com cerca de 30% da área ocupada com a cultivar ‘Red Naomi’. As plantas foram transplantadas em 2011 com uma densidade de 8 plantas por m². A cultura foi regada por um sistema fechado gota-a-gota com uma solução nutritiva padrão para rosas de corte, sendo reutilizada após desinfeção com lâmpada UV. Os valores limite para a condutividade elétrica e para o pH foram 1,5 dS m⁻¹ e 5,4, respetivamente. A cultura foi conduzida seguindo as práticas culturais padrão, recorrendo ao sistema de dobragem das hastes, e apresentando uma produção contínua ao longo de todo o ano.

A recolha de dados realizou-se entre meados de março e início de maio de 2014. O modelo baseou-se num total de 176 folhas obtidas a partir de 20 hastes, em diferentes estados de desenvolvimento. Foram consideradas as folhas abertas com um mínimo de 3 folíolos. As medidas alométricas obtidas foram: o comprimento da folha (CF; i.e. distância entre a extremidade do folíolo terminal e o ponto de interseção da folha no caule); a largura da folha (LF; i.e. distância entre as extremidades do primeiro par de folíolos laterais abaixo do folíolo terminal); a posição numérica da folha na haste (PFn; i.e. posição da folha numerada da base para o topo da haste); a posição numérica relativa da folha na haste (PRFn; obtida através da divisão da posição numérica da folha pelo número total de folhas da haste, sendo este valor multiplicado por 100); a posição da folha em altura na haste (PFa; i.e. distância entre a base da haste e o ponto de inserção da folha na mesma); a posição relativa da folha na haste (PRFa; obtida através da divisão da posição em altura da folha na haste pela altura da última folha na haste, sendo este valor multiplicado por 100); o número de folíolos (NF); área total dos folíolos de cada folha (AF); o comprimento dos entre-nós (DE); e algumas derivadas biométricas ($\sqrt{CF*LF}$, $CF*LF$, $1/CF$, $\ln(CF*LF)$, \sqrt{CF} , $\ln CF$, CF^2).

A AF foi determinada por um método não destrutivo baseado em imagens digitais das folhas e posterior processamento através do programa Photoshop CS6.

As imagens das folhas foram efetuadas com placas de suporte brancas, cobertas por um acrílico transparente para tornar a folha plana. As placas possuíam uma escala graduada e quatro marcas em cada canto de modo a formarem um paralelogramo com os ângulos retos. As marcações, em combinação com a grelha da máquina fotográfica, permitiram a obtenção de imagens com um maior paralelismo relativamente à placa de suporte, conferindo desta forma maior rigor à medição. O processamento das imagens, feito através do programa Photoshop CS6, incluiu três passos principais: i) a atribuição do número de píxeis a 1 cm (com base na escala graduada); ii) seleção da zona da imagem cuja área se pretendeu calcular e iii) obtenção da área da zona selecionada. O rigor destas medições foi aferido em 36 folhas nas quais se fizeram medições simultâneas da AF com imagens digitais e com um medidor de área foliar portátil AM350 (ADC BioScientific Ltd., Hoddesdon, UK).

Para a obtenção do modelo alométrico para a estimativa da AF, procedeu-se a transformações da variável dependente (\sqrt{AF} , $\ln AF$ e $\ln AF_{relativa}$) de modo a garantir a linearização do modelo e a homogeneidade da variância dos seus resíduos. A variável dependente AF e as suas transformadas foram estimadas em função das diferentes medições alométricas e das suas derivadas. A variável dependente selecionada foi o $\ln AF$.

Para o desenvolvimento do modelo recorreu-se à técnica de “regressão múltipla passo a passo” que permite, para cada etapa de cálculo, avaliar o nível de significância de cada uma das variáveis exógenas na variável endógena. O diagnóstico de colinearidade foi verificado através do fator de inflação da variância (VIF), considerando não existir colinearidade quando $VIF < 10$. As variáveis selecionadas pelo método *stepwise* com $VIF > 10$ foram retiradas uma a uma do modelo. A avaliação da qualidade do ajustamento do modelo foi feita com base nos seguintes indicadores: coeficiente de determinação ajustado (R_{adj}^2), a **raiz quadrada do erro** médio quadrático (RMSE) e o desvio médio absoluto (MAD).

A validação do modelo foi posteriormente efetuada numa amostra independente constituída por 24 folhas, provenientes de três hastes.

RESULTADOS

A Figura 1 apresenta a comparação da AF obtida através do método destrutivo (AM350) e não destrutivo (Photoshop). Os resultados obtidos pelo método não destrutivo apresentam uma forte correlação com os valores obtidos pelo método destrutivo ($R^2 = 95\%$). As diferenças na determinação da AF entre estes processos são sempre inferiores a 18% sendo o desvio médio de 5,7 %.

Na amostra utilizada para a construção do modelo matemático, a AF variou entre 7,5-111,8 cm^2 , CF entre 4,7-18,9 cm, LF entre 3,8-12,2 cm, cujos coeficientes de variação são 21%, 23% e 12% respetivamente, NF de 3 a 7 e a posição da folha na haste de 1 a 15. A Tabela 1 apresenta a estimativa dos parâmetros do modelo e respetivos testes de diagnóstico de ajustamento. O modelo selecionado, baseado nos parâmetros $PRFn$, $\ln(CF*LF)$ e NF, explicou 92% ($R^2 = 0,92$; $n = 176$, $p < 0,000$) da variabilidade da área foliar para diferentes estados de desenvolvimento das folhas. Os valores do VIF são muito inferiores a 10 pelo que podemos concluir que não existe colinearidade entre as variáveis selecionadas.

A Figura 2 indica a relação entre os valores de AF observados e os valores estimados pelo modelo. O declive da reta de identidade é próximo de 1 sendo o coeficiente de determinação de 92% o que nos permite afirmar que o modelo apresenta elevada precisão e rigor na determinação da AF (Fig. 2A). A diferença relativa entre a AF observada e a modelada foi inferior a 11 % e em apenas em 6% dos casos os desvios foram superiores a 25% (Fig. 2B). Os parâmetros de validação de regressão estimados, com dados independentes provenientes de 24 folhas, e os respetivos testes de adequação foram semelhantes aos obtidos para a estimativa do modelo.

DISCUSSÃO

Neste artigo descrevemos como a área das folhas de rosa de corte pode ser estimada a partir de medições não-destrutivas de fácil aquisição. O produto entre o comprimento e a largura da folha revelou-se uma importante variável do modelo preditor. Este resultado está de acordo com outros modelos de previsão da AF desenvolvidos para culturas como a videira (Montero et al., 2000) ou o pimento (De

Swart et al., 2004). Segundo De Swart et al. (2004) a forma da folha depende da sua posição na haste, pelo que a inclusão da posição individual da folha pode levar a estimativas da AF mais rigorosas. Este facto foi comprovado neste estudo pela seleção da variável posição numérica relativa da folha na haste (PRFn) para o modelo de previsão da AF.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos vão ao encontro de outros estudos relativos à rosa de corte, não apenas a nível das variáveis selecionadas mas também da fiabilidade do modelo obtido ($R^2 = 0,92$). Todavia, os estudos anteriores foram geralmente desenvolvidos para uma fase específica do ciclo de produção (geralmente a colheita) apresentando uma aplicabilidade limitada. O modelo apresentado revelou ser adequado para acomodar a variação inerente às diferentes fases do ciclo da cultura para a cultivar em estudo. Este facto assume particular relevância pois a sua aplicação permite o acompanhamento contínuo do crescimento e expansão foliar das plantas. A precisão e operacionalidade do modelo desenvolvido para a obtenção da AF, justifica o seu uso em estudos de eco-fisiológicos, modelos de simulação do desenvolvimento, bem como para apoiar práticas culturais em rosas de corte das quais se destaca a gestão da rega particularmente em sistema de cultura hidropónica.

Agradecimentos

Trabalho parcialmente financiado pelos fundos europeus de desenvolvimento regional (FEDER), programa COMPETE e fundos nacionais da FCT-Fundação para a Ciência e a Tecnologia, projeto FCT EXPL/AGR-PRO/1559/2012, nomeadamente pela bolsa atribuída à primeira autora.

Referências

- Blanco, F. F. and M. V. Folegatti (2003). A new method for estimating the leaf area index of cucumber and tomato plants. *Horticultura Brasileira* **21**(4): 666-669.
- Breda, N. J. J. (2003). Ground-based measurements of leaf area index: a review of methods, instruments and current controversies. *Journal of Experimental Botany* **54**(392): 2403-2417.
- Can, M., O. Gursoy, B. Akcesme and F. B. Akcesme (2012). Leaf Area Assessment By Image Analysis. *Southeast Europe Journal of Soft Computing* **1**(2):8-10
- Cristofori, V., Y. Rouphael, E. Gyves and C. Bignami (2007). A simple model for estimating leaf area of hazelnut from linear measurements. *Scientia Horticulturae* **113**(2): 221-225.
- De Swart, E. A. M., R. Groenwold, H. J. Kanne, P. Stam, L. F. M. Marcelis and R. E. Voorrips (2004). Non-destructive estimation of leaf area for different plant ages and accessions of *Capsicum annuum* L. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* **79**(5): 764-770.
- Gao, M., G. Van der Heijden, J. Vos, B. A. Eveleens and L. F. M. Marcelis (2012). Estimation of leaf area for large scale phenotyping and modeling of rose genotypes. *Scientia Horticulturae* **138**: 227-234.
- Jonckheere, I., S. Fleck, K. Nackaerts, B. Muys, P. Coppin, M. Weiss and F. Baret (2004). Review of methods for in situ leaf area index determination - Part I. Theories, sensors and hemispherical photography. *Agricultural and Forest Meteorology* **121**(1-2): 19-35.

- Katsoulas, N., A. Baille and C. Kittas (2002). Influence of leaf area index on canopy energy partitioning and greenhouse cooling requirements. *Biosystems Engineering* **83**(3): 349-359.
- Modenese-Gorla da Silva, S. H., J. D. Lima, H. Bendini, E. S. Nomura and W. Moraes (2008). Estimating leaf area in anthurium with regression functions. *Ciencia Rural* **38**(1): 243-246.
- Montero, F.J., de Juan, J.A., Cuesta, A., Brasa, A., (2000). Nondestructive methods to estimate leaf area in *Vitis vinifera* L. *HortScience* **35**, 696– 698.
- Pandey, S. K. and H. Singh (2011). A Simple, Cost-Effective Method for Leaf Area Estimation. *Journal of Botany* Vol. 2011: 1-6.
- Rouphael, Y., A. H. Mouneimne, A. Ismail, E. Mendoza-De Gyves, C. M. Rivera and G. Colla (2010). Modeling individual leaf area of rose (*Rosa hybrida* L.) based on leaf length and width measurement. *Photosynthetica* **48**(1): 9-15.
- Suay, R., P. F. Martinez, D. Roca, M. Martinez, J. M. Herrero and C. Ramos (2003). Measurement and estimation of transpiration of a soilless rose crop and application to irrigation management. *Acta Horticulturae* 614: 625-630.

Tabela 1. Estatísticas dos parâmetros, teste de ajustamento e de diagnóstico do modelo de estimativa da área foliar*

Variáveis selecionadas ^a	Parâmetros $\beta \pm SE$	Testes de ajustamento e diagnósticos					Validação do modelo	
		R^2 (p)	SE	VIF	MA D	RM SE	MAD _v	RMS E _v
Constante	-1,283 ± 0,112							
PRFn	0,002 ± 0,000	0,92		1,43				
ln (CF*LF)	0,964 ± 0,026	($p < 0,000$)	0,14	5	2,96	0,14	2,52	0,13
NF	0,069 ± 0,009		4	1,23				
				7				
				1,39				
				5				

*Variáveis selecionadas com recurso ao método *stepwise* ($p < 0,05$) e ao valor de VIF das variáveis. As seguintes variáveis não foram consideradas estatisticamente significativas, pelo método *stepwise*: CF, LF, PFn, $\sqrt{(CF*LF)}$, $CF*LF$, $1/CF$, \sqrt{CF} , CF^2 , PFa, DE, PRFa.

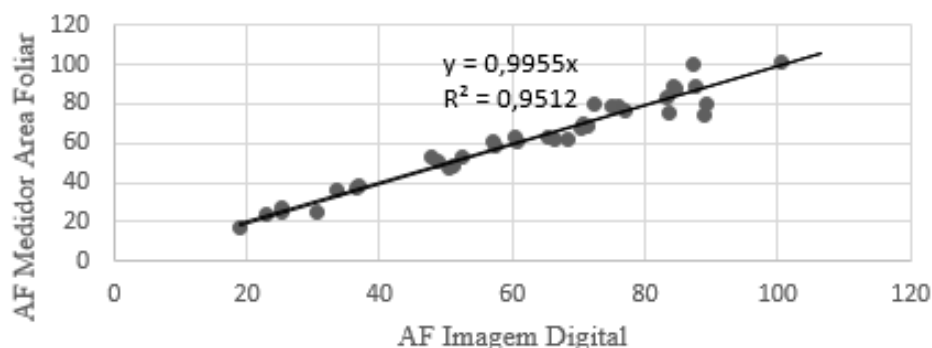


Figura 1. Comparação da área foliar (AF) obtida através do método destrutivo (Medidor de AF, AM350; ADC BioScientific) e método não destrutivo (Imagem digital tratada em Photoshop).

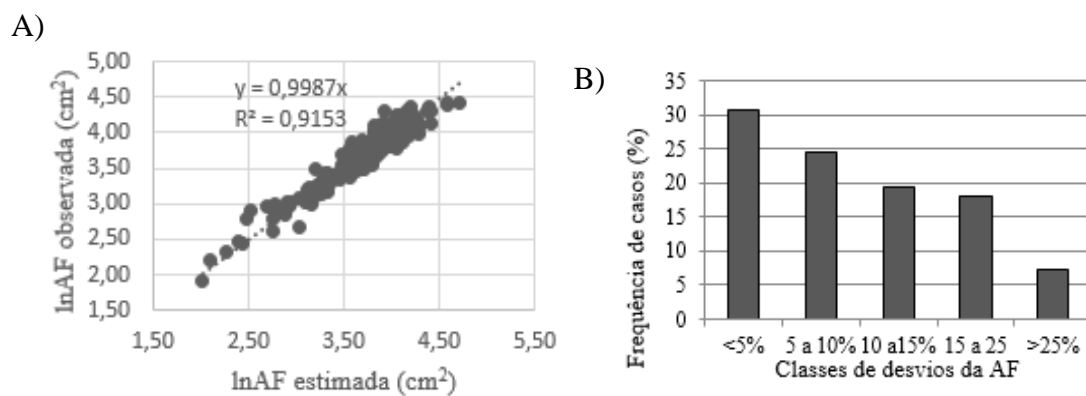


Figura 2. Comparação entre os valores observados e os valores estimados de área foliar (AF) através de: (A) regressão linear com retade identidade e (B) frequência de classes de desvios.