

## Notas Científicas

### Diagnose nutricional de nitrogênio em folhas de feijoeiro pela análise digital de imagens

Patrick Gesualdi Haim<sup>(1)</sup>, Bárbara Cavaleiro Zoffoli<sup>(1)</sup>, Everaldo Zonta<sup>(1)</sup> e Adelson Paulo Araújo<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Departamento de Solos, BR 465, Km 7, CEP 23890-000 Seropédica, RJ. E-mail: patrickhaim@yahoo.com, bazoffoli@hotmail.com, ezonta@ufrj.br, aparaujo@ufrj.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso da análise digital de imagens na diagnose nutricional de N no feijoeiro. Foram avaliados quatro tratamentos, em que se combinaram duas doses de N e de P aplicadas ao solo. Na emissão de vagens, determinou-se o índice de clorofila Falker, digitalizaram-se as imagens dos trifólios e determinou-se o teor foliar de N. Nas imagens, foi atribuída uma nota com o programa AFSOft, baseada na área ocupada por padrões de verde. O teor foliar de N correlacionou-se ao índice de clorofila Falker e à nota atribuída com o AFSOft, mas a correlação entre o índice de clorofila e a nota AFSOft foi superior.

Termos para indexação: *Phaseolus vulgaris*, AFSOft, fósforo, identificação de cores, índice de clorofila.

### Diagnosis of nitrogen nutrition in common bean leaves by digital image analysis

Abstract – The objective of this work was to evaluate the use of digital image analysis for the N nutritional diagnosis in common bean. Four treatments combining two levels of N and P applied to the soil were evaluated. At the pod setting stage, the Falker chlorophyll index was determined, the images of trifoliates were scanned, and leaf-N concentration was measured. In the images, a note with the software AFSOft was assigned based on the area occupied by green standards. Leaf-N content correlated to the Falker chlorophyll index and the AFSOft note, but the correlation between chlorophyll index and AFSOft note was higher.

Index terms: *Phaseolus vulgaris*, AFSOft, phosphorus, color identification, chlorophyll index.

O diagnóstico visual é um procedimento prático e rápido para se identificar a deficiência de N no feijoeiro, porém, sua precisão está condicionada à experiência do técnico. A concentração de nutrientes em folhas é bastante utilizada como indicador do estado nutricional das culturas; todavia, sua determinação demanda a padronização do tecido amostrado e do estado fisiológico da planta (Malavolta et al., 1997). Segundo Wortmann et al. (1992), as concentrações de nutrientes nos tecidos são afetadas por vários fatores, tais como idade da planta, taxa de crescimento da cultura, interação entre nutrientes e estresses ambientais associados a doenças e deficiência hídrica. Além disso, dificilmente os resultados são obtidos a tempo de serem utilizados no mesmo cultivo. Assim, procedimentos mais rápidos e práticos têm sido buscados para avaliação do estado nutricional das plantas. Esses procedimentos devem permitir a avaliação em condições de campo e tornar possível a correção de eventuais deficiências

nutricionais durante o mesmo ciclo de cultivo (Hurtado et al., 2011).

O clorofilômetro portátil proporciona leituras instantâneas não destrutivas de folhas e é uma alternativa para determinação do índice de clorofila nas folhas (Argenta et al., 2002). O clorofilômetro apresenta vantagens como a eliminação do envio de amostras para laboratório e já mostrou-se eficiente como instrumento indicador da necessidade de adubação nitrogenada em cobertura no feijoeiro (Silveira et al., 2003). No entanto, quando absorvido em excesso pelas plantas, o N acumula-se como nitrato e não se associa à molécula de clorofila, o que reduz a precisão do medidor de clorofila na estimação do teor foliar de N, em condições de consumo de luxo de N pelas plantas (Dwyer et al., 1995). A viabilidade de uso desse equipamento para diagnosticar a deficiência nutricional e a necessidade de adubação nitrogenada é tanto maior quanto mais contrastantes forem as condições de suprimento de

N, o que torna necessária a existência de parcelas de referência (Hurtado et al., 2009).

Uma alternativa mais simples e barata do que o clorofilômetro é a cartela de cores (“leaf color chart”, LCC), proposta para a cultura do arroz (International Rice Research Institute, 1996). O método LCC consiste de uma cartela com diferentes tonalidades da coloração verde, as quais correlacionam-se com o teor foliar de N, e tem como objetivo indicar a necessidade de adubação nitrogenada à cultura do arroz. Assim como para o clorofilômetro, a tonalidade da cor crítica na cartela de cores precisa ser determinada, para adequar o manejo das aplicações de N (Singh et al., 2002), e também é necessário avaliar a capacidade da cartela de cores de estimar o teor de N no tecido vegetal. Sen et al. (2011) encontraram correlação positiva entre os valores do clorofilômetro e de LCC, em três cultivares de arroz.

As técnicas de processamento digital de imagens apresentam grande potencial para a obtenção de índices que expressem a cor verde da planta (Karcher & Richardson, 2003). O AFSOft é um programa de análise de imagens digitais para análise foliar, que utiliza técnicas de inteligência artificial para classificar os padrões encontrados nas folhas, por meio de redes neurais supervisionadas – um tipo de construção que simula o cérebro humano (Jorge & Silva, 2009). Inicialmente, é necessário que um especialista estipule os padrões de cores que deseja reconhecer nas imagens. Posteriormente, as imagens digitais são analisadas individualmente, com a identificação e mensuração das imagens classificadas com as respectivas percentagens de cada padrão de cor. O AFSOft possui licença gratuita de utilização (Jorge & Silva, 2009).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso da análise digital de imagens na diagnose nutricional de N no tecido foliar do feijoeiro.

O experimento foi realizado em casa de vegetação, no Departamento de Solos da UFRRJ, entre setembro e novembro de 2009, em delineamento de blocos ao acaso, com quatro repetições, em arranjo fatorial 2x2x3, no total de 48 vasos, tendo-se combinado duas doses de P (20 e 100 mg kg<sup>-1</sup> de P) e de N (30 e 60 mg kg<sup>-1</sup> de N), aplicadas ao solo, e três cultivares de feijoeiro (Iraí, ICA Pijao e Carioca).

O substrato utilizado foi o solo do horizonte A de um Argissolo Vermelho-Amarelo, peneirado em malha de 4 mm. A análise do solo, realizada segundo os procedimentos de Claessen (1997),

apresentou os seguintes resultados: pH em água, 4,9; Na, 0,012 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Ca, 2,0 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Mg, 1,4 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; H, 2,6 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; Al, 0,5 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; soma de bases, 3,42 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; V, 52%; C orgânico, 5,3 g kg<sup>-1</sup>; P disponível, 4 mg L<sup>-1</sup>; K, 5 mg L<sup>-1</sup>; argila, 260 g kg<sup>-1</sup>; areia, 700 g kg<sup>-1</sup>; e silte, 40 g kg<sup>-1</sup>.

Em cada vaso, foram colocados 11 kg de solo e 7 g de CaCO<sub>3</sub> (necessários para elevar o pH do solo a 5,5), e o material de cada solo foi homogeneizado. Quinze dias após a calagem, o solo de cada vaso foi adubado com: 10 mg kg<sup>-1</sup> de Mg, como MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 2 mg kg<sup>-1</sup> de Cu, como CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O; 1 mg kg<sup>-1</sup> de Zn, como ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,05 mg kg<sup>-1</sup> de B, como H<sub>2</sub>BO<sub>3</sub>; 0,2 mg kg<sup>-1</sup> de Mo, como Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O. As doses de P de cada tratamento foram 20 e 100 mg kg<sup>-1</sup>, como KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, e as doses de plantio de N de cada tratamento foram 30 e 60 mg kg<sup>-1</sup>, como (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Nos vasos com menor quantidade de P, foram aplicados 101 mg kg<sup>-1</sup> de K, como KCl, para igualar o K aplicado via adubo fosfatado. Foram semeadas seis sementes por vaso, com posterior desbaste para três plantas por vaso.

A coleta de dados foi efetuada aos 29, 33 e 34 dias após emergência, no estádio R6 (emissão de vagens), para as cultivares Iraí, ICA Pijao e Carioca, respectivamente. Nas datas da coleta, entre 8 e 9 h da manhã, foram realizadas leituras com o medidor eletrônico do índice de clorofila (ClorofiLOG CFL 1030 Falker, Porto Alegre, RS, Brasil). As leituras foram efetuadas na segunda folha trifoliada completamente desenvolvida, em duas plantas por vaso. A parte aérea foi separada em folhas primárias, e o primeiro, segundo e demais trifólios foram contados a partir do colo da planta.

As folhas do segundo trifólio, onde foram realizadas as leituras com o clorofilômetro, foram digitalizadas em scanner (HP 5490c Hewlett-Packard Brasil Ltda., São Paulo, SP, Brasil), com resolução de 200 dpi e quantização “true color” (16,7 milhões de cores), e os arquivos foram salvos com formato BMP (bitmap, Microsoft Windows). Após essa etapa, essas folhas foram secas em estufa, moídas e submetidas à digestão sulfúrica, para determinação do teor de N pelo método semimicro Kjeldahl (Malavolta et al., 1997).

Com o programa AFSOft, foram determinados seis padrões de cor verde nas folhas (Tabela 1). Depois de definidos os padrões, as imagens foram classificadas quanto à área e à proporção de área ocupadas por cada padrão. A cada padrão de cor foi atribuída uma escala, que variou de 0 a 5, em que quanto mais verde o padrão maior o valor na escala. A proporção de ocorrência

de cada padrão de cor foi multiplicada pela escala respectiva, o que forneceu uma nota de cada padrão. A nota AFSoft de cada planta foi obtida pelo somatório das notas de cada padrão. As notas foram determinadas para o segundo trifólio das três plantas de cada vaso, tendo-se obtido uma nota média por vaso. Os dados referentes ao índice de clorofila Falker, à nota AFSoft e ao teor foliar de N foram submetidos à análise de correlação simples de Pearson.

Foram identificadas correlações significativas entre o índice de clorofila Falker e o teor de N na folha para a cultivar ICA Pijao e para o conjunto de dados das cultivares avaliadas (Tabela 2). Isto indica que, à medida que aumenta o teor de N nas folhas, aumenta proporcionalmente o teor de clorofila. Soratto et al. (2004) também verificaram correlações significativas entre a leitura de clorofila e o teor foliar de N em

feijoeiro sob diferentes doses de N, em sistemas de preparo convencional e de semeadura direta. Para as cultivares Carioca e Iraí, a correlação entre o índice de clorofila Falker e o teor de N na folha não foi significativa. Silveira et al. (2003) verificaram valores de leitura de clorofilômetro superiores na cultivar Pérola, em comparação com a cultivar Jalo Precoce, em plantas de mesma idade, o que mostra a existência de diferenças genotípicas para este parâmetro. Dessa forma, além da disponibilidade de N, o fator cultivar pode influenciar o teor de clorofila da planta, pois as folhas de uma dada cultivar tendem a apresentar diferenças morfofisiológicas em características como espessura, conteúdo de pigmentos e estrutura interna, que podem influenciar as propriedades espectrais das folhas (Minotti et al., 1994). Silveira et al. (2003) e Barbosa Filho et al. (2009) relataram a viabilidade de

**Tabela 1.** Padrão de cores e nota AFSoft, atribuída de acordo com a área ocupada por cada padrão de cores, em uma folha de feijoeiro cultivar ICA Pijao, no estágio de emissão de vagens.

Padrão de cores	Área ocupada por cada padrão (cm <sup>2</sup> )	Proporção de ocorrência	Escala	Nota de cada padrão	Nota AFSoft da planta
Um	0,312	0,00042	0	0	2,47
Dois	17,134	0,02307	1	0,023073	
Três	363,683	0,48973	2	0,979478	
Quatro	351,071	0,47275	3	1,418266	
Cinco	10,314	0,01388	4	0,055556	
Seis	0,092	0,00012	5	0,000619	
Total	742,606				

**Tabela 2.** Equações e coeficientes de correlação de Pearson entre os parâmetros analisados em folhas de três cultivares de feijoeiro (Iraí, Carioca e ICA Pijao) e o conjunto de dados de todas as cultivares<sup>(1)</sup>.

Variável independente x	Variável dependente y	Cultivar	Equação	Correlação (r)
Teor de N na folha	Índice relativo de clorofila	Iraí	$y = 35,45 + 0,102x$	0,153 <sup>ns</sup>
		Carioca	$y = 29,34 + 0,334x$	0,357 <sup>ns</sup>
		ICA Pijao	$y = 19,68 + 0,702x$	0,797***
		Cultivares	$y = 27,58 + 0,386x$	0,474**
Teor de N na folha	Nota AFSoft	Iraí	$y = 3,37 + 0,040x$	0,502*
		Carioca	$y = 2,14 + 0,079x$	0,474 <sup>ns</sup>
		ICA Pijao	$y = -0,39 + 0,185x$	0,860***
		Cultivares	$y = 1,52 + 0,105x$	0,652***
Índice relativo de clorofila	Nota AFSoft	Iraí	$y = 1,20 + 0,082x$	0,686**
		Carioca	$y = -0,01 + 0,104x$	0,581*
		ICA Pijao	$y = -4,28 + 0,224x$	0,920**
		Cultivares	$y = -1,82 + 0,156x$	0,784***

<sup>(1)</sup>Valores mensurados no segundo trifólio expandido, no estágio de emissão de vagens, em plantas cultivadas em quatro diferentes tratamentos, com a combinação de 30 e 60 mg N kg<sup>-1</sup> e 20 e 100 mg P kg<sup>-1</sup> aplicadas ao solo. <sup>ns</sup>Não significativo. \*, \*\* e \*\*\*Significativo a 5, 1 e 0,1%, respectivamente, pelo teste t.

uso do índice de clorofila como indicativo do estado nutricional de N, nas cultivares de feijoeiro Pérola e Jalo Precoce.

A correlação entre o teor de N nas folhas e a nota atribuída com o programa AFSOFT somente não foi significativa para a cultivar Carioca (Tabela 2). No caso das correlações entre o índice de clorofila e as notas atribuídas com o programa AFSOFT, elas foram significativas para as três cultivares estudadas e para o conjunto de dados das cultivares. As correlações entre o índice de clorofila e a nota AFSOFT foram superiores às observadas entre esses métodos e o teor de N nas folhas, pois estes baseiam-se no mesmo princípio de mensurar a intensidade da cor verde emitida pelas folhas. A relação verificada entre a nota AFSOFT e o teor foliar de N evidencia que a análise digital de imagens pode estimar adequadamente o grau de esverdeamento das folhas de feijoeiro, ou seja, pode substituir a determinação do teor de N na folha no início dos estádios reprodutivos.

Os resultados obtidos no presente trabalho mostram o potencial de uso do programa AFSOFT, para estimar o teor de N das plantas de feijão no estágio de emissão de vagens. Entretanto, para o uso do programa como instrumento de monitoramento da adubação nitrogenada, ainda há necessidade de se determinar os valores críticos para relacionar as respostas à adubação nitrogenada com as leituras do AFSOFT. Além disso, o programa exige interpretação do avaliador na escolha dos padrões de cores, ou seja, está sujeito a variações nos resultados obtidos em razão dos padrões escolhidos.

## Referências

- ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F. da; MIELNICZUK, J.; BORTOLINI, C.G. Parâmetros de planta como indicadores do nível de nitrogênio na cultura do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, p.519-527, 2002.
- BARBOSA FILHO, M.P.; COBUCCI, T.; MENDES, P.N. Época de aplicação de nitrogênio no feijoeiro irrigado monitorada com auxílio de sensor portátil. **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, p.425-431, 2009.
- CLAESSEN, M.E.C. (Org.). **Manual de métodos de análise de solo**. 2.ed. rev. atual. Rio de Janeiro: Embrapa-CNPq, 1997. 212p.
- DWYER, L.M.; ANDERSON, A.M.; MA, B.L. Quantifying the nonlinearity in chlorophyll meter response to corn leaf nitrogen concentration. **Canadian Journal of Plant Science**, v.75, p.179-182, 1995.
- HURTADO, S.M.C.; RESENDE, A.V. de; SILVA, C.A.; CORAZZA, E.J.; SHIRATSUCHI, L.S. Clorofilômetro no ajuste da adubação nitrogenada em cobertura para o milho de alta produtividade. **Ciência Rural**, v.41, p.1011-1017, 2011.
- HURTADO, S.M.C.; RESENDE, A.V. de; SILVA, C.A.; CORAZZA, E.J.; SHIRATSUCHI, L.S. Variação espacial da resposta do milho à adubação nitrogenada de cobertura em lavoura no Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, p.300-309, 2009.
- INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE. **Use of leaf color chart (LCC) for N management in rice**. Manila: IRRI, 1996. (IRRI. Brief 2).
- JORGE, L.A. de C.; SILVA, D.J. da C.B. **AFSOFT: manual de utilização**. São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2009. 20p.
- KARCHER, D.E.; RICHARDSON, M.D. Quantifying turfgrass color using digital image analysis. **Crop Science**, v.43, p.943-951, 2003.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. de. **Avaliação do estado nutricional das plantas**. Piracicaba: Potafos, 1997. 319p.
- MINOTTI, P.L.; HALSETH, D.E.; SIECZKA, J.B. Field chlorophyll measurements to assess the nitrogen status of potato varieties. **HortScience**, v.29, p.1497-1500, 1994.
- SEN, A.; SRIVASTAVA, V.K.; SINGH, M.K.; SINGH, R.K.; KUMAR, S. Leaf colour chart vis-à-vis nitrogen management in different rice genotypes. **American Journal of Plant Sciences**, v.2, p.223-236, 2011.
- SILVEIRA, P.M. da; BRAZ, A.J.B.P.; DIDONET, A.D. Uso do clorofilômetro como indicador da necessidade de adubação nitrogenada em cobertura no feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.1083-1087, 2003.
- SINGH, B.; SINGH, Y.; LADHA, J.K.; BRONSON, K.F.; BALASUBRAMANIAN, V.; SINGH, J.; KHIND, C.S. Chlorophyll meter- and leaf color chart-based nitrogen management for rice and wheat in Northwestern India. **Agronomy Journal**, v.94 p.821-829, 2002.
- SORATTO, R.P.; CARVALHO, M.A.C. de; ARF, O. Teor de clorofila e produtividade do feijoeiro em razão da adubação nitrogenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.895-901, 2004.
- WORTMANN, C.S.; KISAKYE, J.; EDJE, O.T. The diagnosis and recommendation integrated system for dry bean: determination and validation of norms. **Journal of Plant Nutrition**, v.15, p.2369-2379, 1992.