

CARACTERIZAÇÃO ESPECTRAL DE FOLHAS EXTRAÍDAS DE CINCO DIFERENTES ESPÉCIES VEGETAIS

Paula Cristina Sousa Cardoso¹
Flávio Jorge Ponzoni²

¹UNITAU-Universidade de Taubaté
Praça Marcelino Monteiro, 63
12030-010 - Taubaté, SP, Brasil

²INPE-Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais
Caixa Postal 515, 12227-010 São José dos Campos, SP, Brasil
flavio@ltd.inpe.br

ABSTRACT: Some methodological aspects related to the spectral evaluation of detached leaves were presented through an experiment in which the spectral differences between the leaves of five species were evaluated. The averages of Hemispherical Reflectance Factors (Frs) of these leaves were determined considering 0.45 to 0.52 μm (band 1), 0.52 to 0.60 μm (band 2), 0.63 to 0.69 μm (band 3) and 0.76 to 0.90 μm (band 4) spectral ranges. The significant differences between the Frs in each band were estimated through analysis of variance. In the visible region the leaves of each specie were more similar than in the near infrared region. It was possible to characterize the Azaléa leaves comparing the Ameixa leaves in the band 2. In band 3, the Azaléa leaves were identified comparing the Ameixa, Hibisco and Bambú. Finally, in band 4, Hibisco leaves could be identified comparing Azaléa, Bambú and Ameixa leaves. Quaresmeira leaves were identified comparing the Bambú and Ameixa leaves. The minimum number of leaves to be measured in each band was also determined.

Key-words: Leaves reflectance, Remote sensing of vegetation, Radiometry in vegetation

1 Introdução

Técnicas de Sensoriamento Remoto vêm sendo utilizadas na caracterização espectral da cobertura vegetal em diversos níveis de abordagem. Estes níveis incluem o estudo de dosséis e/ou de folhas isoladas (extraídas ou não). Assim, a coleta de dados, pode ser realizada nos seguintes níveis: orbital, aéreo, de campo e de laboratório.

Na caracterização de folhas isoladas (extraídas), são considerados os fatores morfológicos e fisiológicos influentes na interação entre a radiação eletromagnética (REM) e a folha (Gausman et al, 1973). Essa caracterização espectral normalmente considera o intervalo espectral entre 0,4 μm à 2,6 μm , que pode ser dividido em regiões (bandas): Banda 1 - 0,45 μm à 0,52 μm , referente à região espectral do azul; Banda 2 - 0,52 μm à 0,60 μm , referente à região espectral do verde; Banda 3 - 0,63 μm à 0,69 μm , referente à região espectral do vermelho; Banda 4 - 0,76 μm à 1,1 μm , referente à região espectral do infravermelho próximo, e; Banda 5 - 1,3 μm à 2,6 μm , referente à região espectral do infravermelho médio.

A Figura 1.1, apresenta a curva de reflectância típica de uma folha verde sadia.

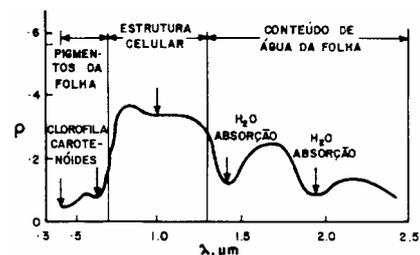


Fig. 1 Curva de Reflectância de uma folha verde sadia.
Fonte: Novo (1989).

Kumar (1972) mencionou que nas bandas 1, 2, e 3 (região do visível), os pigmentos existentes nas folhas dominam a reflectância espectral. Também citou que na região do infravermelho próximo, ocorre o espalhamento da REM no interior da folha. Gates (1965), mencionou que a reflectância espectral de folhas nesta região espectral é resultado da interação da REM incidente com a estrutura do mesófilo. Citou ainda que o espalhamento é também causado por estruturas internas da folha que possuem dimensões dos comprimentos de onda da REM.

Gausman *et al* (1973), citaram que a influência da maturação da folha na reflectância e transmitância é associada com a compactação da estrutura foliar interna.

Daughtry e Biehl (1982) e Ponzoni e Inoue (1991) citaram a importância da adoção de uma metodologia

para armazenamento de folhas extraídas, com o objetivo de promover o retardamento do processo de deterioração das folhas, o qual acarreta alterações em suas reflectâncias.

O objetivo deste trabalho é salientar, através de um exemplo experimental, destinado à avaliação de diferenças entre Fatores de Reflectância (Frs) de folhas extraídas de cinco diferentes espécies vegetais, a importância do conhecimento da variação natural da curva de reflectância entre folhas de mesma espécie e entre as espécies.

2 Material e métodos

2.1 Coleta e armazenamento das folhas

Foram identificadas cinco espécies vegetais que apresentavam folhas com dimensões compatíveis (largura da folha maior ou igual à 1,5 cm) com aquelas referentes ao instrumento (esfera integradora) utilizado nas medições radiométricas, e cujos indivíduos localizavam-se no “Campus” do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE) e ainda o mais próximo possível do Laboratório de Radiometria (LARAD), com o objetivo de minimizar o tempo entre a coleta das folhas e as medições radiométricas.

Cinco folhas de cada espécie foram extraídas da porção média dos caules, com o intuito de uniformizar possíveis diferenças entre as suas idades. A medida que as folhas eram extraídas, estas eram imediatamente acondicionadas em sacos plásticos translúcidos contendo um pedaço de algodão úmido e, em seguida, os sacos eram dispostos numa geladeira de isopor. As espécies selecionadas foram:

Tibouchina fothergillae Cogn (Quaresmeira)

Hibiscus moscheutos L (Hibisco)

Eriobotrya japonica Lindl (Ameixa)

Bambusa vulgaris Schrad (Bambú)

Rhododendron indicum Siv (Azaléa)

2.2 Das medições radiométricas e processamento dos dados

As medições radiométricas foram realizadas utilizando-se um espectrorradiômetro, SPECTRON SE-590, dotado de uma unidade detetora sensível à amplitude espectral compreendida entre 0,4 µm à 1,1 µm, e uma esfera integradora LICOR 1800.

Foram medidas as radiâncias das faces ventrais das cinco folhas de cada uma das espécies. Estas medições foram intercaladas com aquelas referentes às radiâncias de uma placa padrão da própria esfera integradora para posterior determinação dos fatores de reflectância.

Uma vez coletados e armazenados em um microcomputador, estes dados foram submetidos ao processamento das funções existentes no programa ESPECTRO, desenvolvido pela equipe do

LARAD/INPE. O processamento visou a determinação dos fatores de reflectância e a transformação dos resultados em arquivos de dados compatíveis com planilhas eletrônicas. Uma vez nestas planilhas, foram determinados os fatores de reflectância médios para cada espécie, os quais foram oriundos da média aritmética dos cinco fatores determinados para as cinco folhas. Destes fatores foram determinadas médias aritméticas nas primeiras quatro bandas espectrais definidas anteriormente.

Foram determinados os desvios padrão para cada uma destas médias, para cada espécie, e ainda entre as espécies. Os resultados foram dispostos na forma gráfica para análise e aqueles referentes à banda 4, foram analisados levando-se em consideração os dados referentes à morfologia interna das folhas.

2.2.1 Análise de variância

Foi realizada a análise de variância para as médias de cada banda espectral, considerando um experimento inteiramente casualizado. O objetivo era identificar se existiam diferenças significativas entre as reflectâncias de cada espécie, para cada banda.

O valor tabelado do de F foi identificado considerando um nível de 5% de probabilidade, 4 graus de liberdade para tratamento (Espécie) e 20 graus de liberdade para o Resíduo. Tendo ocorrido um valor de F calculado significativo à este nível de probabilidade, foi aplicado o teste de “Tukey” (também a 5% de probabilidade) para identificar as diferenças significativas entre as médias.

Adicionalmente, os resultados da análise de variância foram utilizados para a determinação do número mínimo de folhas necessárias para assegurar confiabilidade estatística às caracterizações. Para tanto, foi utilizada a fórmula proposta por Gomes (1978), a qual foi aplicada para os resultados de cada uma das bandas espectrais consideradas:

$$r = \frac{q^2 s^2 F_{\text{tab}}}{d^2}$$

onde: r = número de folhas;

q = amplitude total estudentizada;

s = estimativa do desvio padrão dos fatores de reflectância (ANOVA);

F_{tab} = valor tabelado de F para 5% de probabilidade;

d = diferença mínima que deverá ser comprovada.

Os valores de q foram definidos em tabelas, considerando 5 tratamentos (espécies), 20 graus de liberdade para resíduo e o nível de 5% de probabilidade. Os valores de F_{tab} foram definidos também em tabelas, considerando 4 graus de liberdade para tratamentos, 20 graus de liberdade para o resíduo e 5% de probabilidade.

O valor considerado de *s* foi aquele determinado nos quadros das análises de variância e os valores de *d* foram definidos arbitrariamente levando em consideração os valores de *s*.

Como os valores de *q* e *F* são dependentes do número de graus de liberdade do resíduo, o número de folhas determinado em uma primeira iteração era considerado na estimativa de um novo grau de liberdade do resíduo, que então era utilizado para a definição, via tabelas, de novos valores para *q* e *F*. Procederam-se novas iterações, até que o número de folhas convergia para um valor único.

2.3 Morfologia interna das folhas

As folhas foram encaminhadas para o Laboratório de Botânica, no departamento de Biologia da Universidade de Taubaté (UNITAU), aonde foram realizados cortes transversais.

Foram realizados cortes nas porções medianas do limbo foliar, os quais foram colocados em pedaços de isopor, onde sofreram cortes finos e inseridos em água destilada, para que não ocorresse perda de água das estruturas foliar. Esses cortes passaram pelo processo de descoloração com hipoclorito de sódio. Após este processo, os cortes foram colocados na safranina, para ocorrer a coloração avermelhada dos tecidos foliares. Após a coloração, os cortes foram banhados em solução de álcool 50%, álcool 100%, álcool xilol e xilol, com o objetivo de promover sua desidratação. Posteriormente estes cortes foram fixos em lâminas com uma quantidade pequena de bálsamo do Canadá e secos em estufa. Os cortes foram observados em microscópio óptico simples, resultando em desenhos à mão livre.

3 Resultados e discussão

A Figura 3.1 apresenta o gráfico das médias dos fatores de reflectância para cada espécie e entre as espécies (Entre), nas bandas 1, 2, 3 e 4, definidas anteriormente.

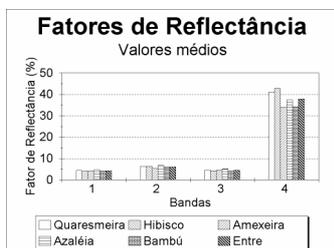


Fig. 3.1 Médias dos fatores de reflectância para cada espécie e entre as espécies nas bandas 1, 2, 3 e 4

Verificou-se que nas bandas referentes à região do visível (bandas 1, 2 e 3), as diferenças absolutas entre os fatores de reflectância das espécies foram pequenas, quando comparadas com estas mesmas diferenças verificadas na banda do infravermelho próximo (banda

4). Este resultado concordou com aqueles alcançados por Gausman et al (1973), Ponzoni e Disperati (1995) e Silva e Ponzoni (no prelo). Tabela 3.1, mostra a análise de variância para os valores médios de reflectância, para a Banda 1.

Tabela 3.1 Análise de variância para os valores médios de reflectância para Banda 1.

BANDA 1					
F.V.	GL	SQ	QM	s	F
Espécie	4	1,391457	0,347864	0,59	2,58 ns
Resíduo	20	2,699138	0,134957		
Total	24	4,090595			

ns: Não significativo a 5% de probabilidade.

Na Banda 1, não houve diferenças significativas entre as médias dos fatores de reflectância entre as folhas das cinco espécies citadas. A Tabela 3.2, mostra o quadro da análise de variância para os valores médios de reflectância, para a Banda 2

Tabela 3.2 Análise de variância para os valores médios de reflectância para Banda 2.

BANDA 2					
F.V.	GL	SQ	QM	s	F
Espécie	4	5,884667	1,471167	1,21	4,41*
Resíduo	20	6,670774	0,333539		
Total	24	12,55544	1,804705		
$\Delta=1,09251$					

* Significativo a 5% de probabilidade.

Seguiu-se a aplicação do teste de Tukey à 5% de probabilidade considerando o contraste entre médias dados pelo valor de Δ , resultando na seguinte diferenciação entre médias:

Médias	Espécies
6,7618 a	Azaléia
6,3940 a b	Hibisco
6,3486 a b	Quaresmeira
5,8344 a b	Bambú
5,3726 b	Ameixa

Na Banda 2, somente foi identificada diferença significativa entre os valores médios dos fatores de reflectância entre as folhas das espécies Azaléia e Ameixa.

A Tabela 3.3, mostra a análise de variância para os valores médios de reflectância, para a Banda 3.

Tabela 3.3 Análise de variância para os valores médios de reflectância para Banda 3.

BANDA 3					
F.V.	GL	SQ	QM	s	F
Espécie	4	2,674441	0,66861	0,82	7,88*
Resíduo	20	1,69658	0,084829		
Total	24	4,371021	0,753439		
$\Delta=0,55096$					

* Significativo a 5% de probabilidade.

Da mesma forma como efetuado para a banda 2, seguiu-se a aplicação do teste de Tukey à 5% de

probabilidade (valor de Δ), resultando na seguinte deferenciação entre as médias:

Médias	Espécies
5,0744 a	Azaléa
4,5246 a b	Quaresmeira
4,4772 b	Ameixa
4,1956 b	Hibisco
4,1654 b	Bambú

Observou-se que a Azaléa apresentou valor médio do fator de reflectância significativamente diferente daqueles apresentados pela Ameixa, pelo Hibisco e pelo Bambú. Nas bandas 1, 2 e 3, a reflectância espectral é dominada pelos pigmentos existentes nas folhas, como citou Kumar (1972). Das espécies consideradas aqui, a Azaléa apresentou valores de reflectância significativamente diferentes da maioria das espécies na principal banda de absorção da clorofila (banda 3), o que poderia indicar que esta apresenta uma composição de pigmentos diferente daquela apresentada pelas demais espécies, que nesta região espectral (visível) não puderam ser caracterizadas.

A Tabela 3.4, mostra a análise de variância para os valores médios de reflectância, para a Banda 4. Tabela 3.4 Análise de variância para os valores médios de reflectância para Banda 4.

BANDA 4					
F. V.	GL	SQ	QM	s	F
Espécie	4	326,8737	81,71843	9,04	10,41*
Resíduo	20	156,9273	7,846365		
Total	24	483,801	89,56479		

* Significativo a 5% de probabilidade.

Seguiu-se a aplicação do teste de Tukey a 5% de probabilidade (valor de Δ), resultando na diferenciação entre médias apresentada a seguir.

Médias	Espécies
42,891 a	Hibisco
41,1906 a b	Quaresmeira
37,4514 b c	Azaléa
34,2076 c	Bambú
33,9242 c	Ameixa

Observou-se que a espécie Hibisco apresentou valores médios de fatores de reflectância significativamente diferentes daqueles apresentados pelas espécies Azaléa, Bambú e Ameixa. Esses valores médios da espécie Quaresmeira apresentaram diferença significativa entre aqueles referentes às espécies Bambú e Ameixa. A Figura 3.2 apresenta gráficos destas mesmas médias, acompanhadas de seus desvios padrão.

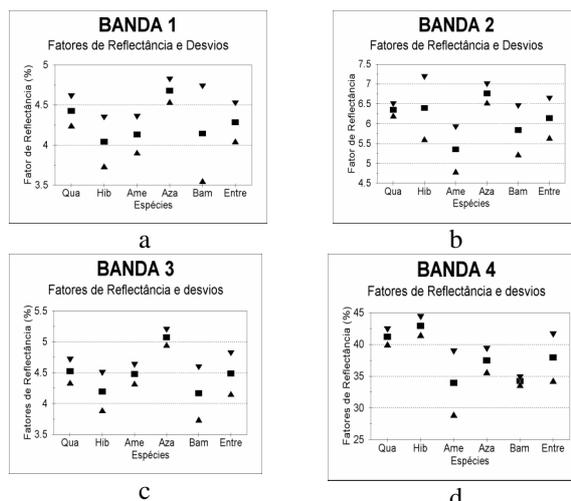


Fig. 3.2 Médias dos Fatores de Reflectância e respectivos Desvios padrão para as Bandas 1, 2, 3 e 4.

Analisando a Figura 3.2a, observa-se que os desvios padrão apresentados pelas espécies Hibisco e Bambú foram superiores ao desvio padrão determinado entre as folhas das espécies. Isso indicou que para a Banda 1, as cinco folhas medidas radiometricamente apresentaram-se mais heterogêneas entre si do que entre as folhas das espécies, o que foi comprovado estatisticamente, com o teste de F. Para a Banda 2 (Figura 3.2b) o resultado foi semelhante, incluindo a espécie Ameixa. Nestas duas bandas (Banda 1 e 2), os intervalos dos desvios padrão em torno das médias apresentaram sempre superposição, com um pequeno destaque para a espécie Azaléa. Para a Banda 3 (Figura 3.2c), somente o intervalo da espécie Bambú foi superior ao intervalo dos desvios entre as espécies, e aquele referente à espécie Azaléa não apresentou superposição com todos os demais, indicando que esta banda espectral poderia ser utilizada para caracterizar esta espécie, em relação às demais aqui consideradas. Uma análise mais conclusiva a respeito destes resultados para as bandas do visível, deveria incluir dados referentes à pigmentação e à atividades fotossintética das folhas, uma vez que a reflectância nesta região espectral é função destes parâmetros (Kumar, 1972).

Para a Banda 4 (Figura 3.2d), observou-se que somente a espécie Ameixa apresentou um intervalo superior àquele referente às folhas entre as espécies. Em relação aos demais gráficos desta Figura 3.2, aquele referente à banda 4 apresentou uma distribuição dos valores médios das espécies ligeiramente diferente. No teste das médias essa diferenciação pode ser constatada no ordenamento destes valores médios. Isso comprovou a influência de diferentes fatores sobre a reflectância das folhas, considerando a região do visível e do infravermelho próximo (pigmentos e estrutura interna, respectivamente).

Uma vez que a reflectância de folhas na região espectral referente ao infravermelho próximo é função de suas estruturas internas, estes resultados foram comparados com aqueles referentes aos cortes

transversais das folhas de cada espécie. A Figura 3.3 apresenta os cortes transversais das folhas das espécies consideradas.

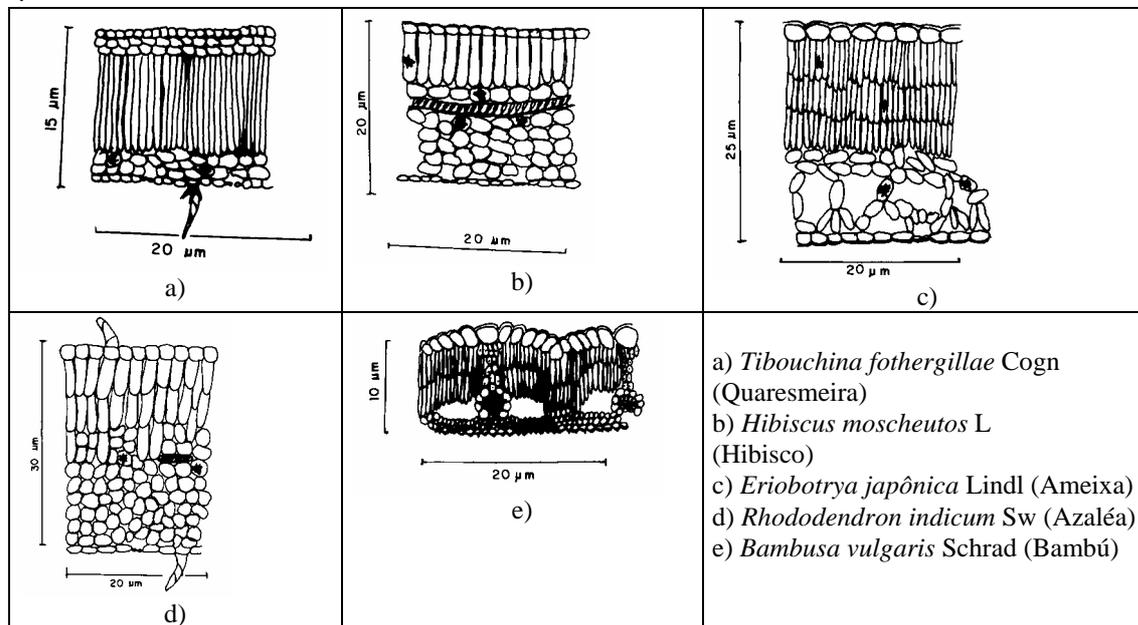


Fig. 3.3 Cortes transversais das folhas das cinco espécies consideradas.

No Hibisco verificou-se uma epiderme superior e inferior, com células relativamente pequenas. O parênquima paliçádico possuía apenas uma camada de células pouco alongadas e um parênquima lacunoso com várias camadas de células arredondadas, tendo um mesófilo compacto. Na Quaresmeira, as células que formam a epiderme superior e inferior eram pequenas e recoberta em diferentes pontos por tricomas. Abaixo da epiderme superior, existiam duas camadas de células que formavam a hipoderme. As células que compunham o parênquima paliçádico eram longas e as do parênquima lacunoso eram bem unidas, formando um mesófilo compacto. A Azaléa apresentava as células da epiderme grandes e recobertas, em diferentes pontos, por tricomas. Possuía três camadas de parênquima paliçádico pouco alongado e frouxas entre si, e o parênquima lacunoso, com muitas células frouxas, formando um mesófilo razoavelmente frouxo. O Bambú possuía células da epiderme superior maior do que da epiderme inferior e com tricomas em diferentes pontos na epiderme inferior. Possuía ainda duas camadas de células curtas que formavam o parênquima paliçádico, com espaços entre as duas camadas de células pequenas e unidas formando um parênquima lacunoso, constituindo um mesófilo compacto. A Ameixa, possuía as células que compunham a epiderme superior maior do que as da epiderme inferior. Possuía ainda três camadas de células alongadas e unidas formando um

parênquima paliçádico compacto e um parênquima lacunoso formado por células grandes e com espaços entre si.

Esperava-se portanto, que essas diferenças morfológicas fossem retratadas nos fatores de reflectância médios da banda 4. Analisando então a Figura 4.2d, pode-se concluir que o Hibisco e a Quaresmeira apresentam as estruturas internas mais frouxas do que as demais espécies, e o Bambú e a Ameixa, as mais compactas. Observando a Figura 4.3, verifica-se que as folhas de Hibisco apresentaram um parênquima paliçádico formado por células mais alongadas e maiores, dispostas de uma forma menos compacta do que o mesmo tecido das espécies Bambú e Ameixa. As folhas da Quaresmeira também possuíam um parênquima paliçádico compacto, porém suas epidermes foram as únicas a apresentarem três camadas de células cujas formas eram arredondadas e com a ocorrência de espaços intercelulares ocupados por ar. Este tecido pode ter sido o responsável por maior espalhamento da REM indicente nesta região espectral. Estas caracterizações foram realizadas considerando cinco folhas de cada uma das espécies, número de folhas este que foi definido arbitrariamente e que pode não assegurar confiabilidade aos resultados alcançados. Como exemplo, pode ser mencionado o caso das folhas da Ameixa, que na banda 4 apresentaram um intervalo em torno de seu valor médio de fator de reflectância,

mais amplo do que aquele determinado entre estes mesmo valores médios das folhas das diferentes espécies (vide Figura 4.2d), o que leva a concluir que existiu, entre as folhas da Ameixa, maior variação entre suas estruturas internas do que entre as estruturas internas das folhas das diferentes espécies. Talvez um outro lote de folhas implicaria em um resultado diferente daquele encontrado aqui. Desta forma procedeu-se a determinação do número mínimo de folhas a serem medidas radiométricamente para cada banda espectral: a) banda 1: foram realizadas 2 iterações, partindo de 5 folhas, atingindo 50 folhas na primeira iteração e **34** folhas na segunda; b) banda 2: foram realizadas 4 iterações, partindo de 5 folhas, atingindo 33 folhas na primeira iteração, 23 folhas na segunda, 25 na terceira e **25** folhas na quarta; c) banda 3: foram realizadas 2 iterações, partindo de 5 folhas, atingindo 138 folhas na primeira iteração e **95** folhas na segunda; d) banda 4: foram realizadas 2 iterações, partindo de 5 folhas, atingindo 42 folhas na primeira iteração e **29** folhas na segunda.

Observa-se que os maiores números de folhas foram determinados nas regiões espectrais nas quais as distâncias entre os valores médios dos fatores de reflectância foram menores.

4 Conclusões

Na região do visível as folhas das espécies foram mais semelhantes entre si, em termos absolutos, do que na região do infravermelho. A única caracterização espectral possível entre as folhas das espécies aqui consideradas foi verificada entre as espécies Azaléa e Ameixa (banda 2) e Azaléa e as espécies Ameixa, Hibisco e Bambú (banda 3), conforme pode ser observado nos resultados das análises de variância. Em termos de pigmentação as folhas da espécie Azaléa apresentaram diferença significativa em relação às folhas das espécies mencionadas.

Na região do infravermelho próximo, as caracterizações espectrais possíveis seriam entre a espécie Hibisco e as espécies Azaléa, Bambú e Ameixa e ainda entre a Quaresmeira e as espécies Bambú e Ameixa. Esta região espectral apresentou um relativo maior número de possibilidades de caracterização, em relação à região do visível.

Os resultados aqui apresentados indicaram que a caracterização espectral de folhas realizada na amplitude espectral considerada e através de bandas, não permitiu uma diferenciação satisfatória entre as folhas das espécies. Os números mínimos de folhas a serem considerados para garantir confiabilidade ao teste estatístico implicariam em um maior tempo da operação das medições radiométricas, e conseqüentemente, uma maior capacidade de armazenamento de energia do equipamento utilizado nestas medições. Além disso, há

de se considerar que ocorrem alterações morfológicas e fisiológicas nas folhas após a extração da planta-mãe que exercem influência em suas propriedades espectrais.

Referências Bibliográfica

- Daughtry, C. S. T.; Biehl, L. L.. **Changes in Spectral Properties of Detached Leaves**. West Lafayette, Indiana 47906. 21 p. 1984.
- Gates, D. M.; Keegan, H. J.; Schelter, J. C.; Weidner, V. R.. **Spectral properties of plants**. Applied optics. Vol. 4(1): 11-20. 1965.
- Gausman, H. W.; Allen, W. A.; Wiegand, C.L.; Escobar, D. E.; Rodriguez, R. R., Richardson, A. J. **The leaf mesophylls of twenty crops, their light spectra, and optical and geometrical parameters**. Technical Bulletin 1465. U. S. Dept. of agriculture. 59p., 1973.
- Gomes, F. P.. **Estatística experimental**. Universidade Estadual de São Paulo-USP. Piracicaba. 430p. 1978.
- Kumar, R.. **Radiation from plants-reflection and emission: A review**. Lafayette, Indiana. Purdue University. 18p., 1972.
- Novo, E.M.L.. **Sensoriamento Remoto: princípios e aplicações**. São Paulo, Ed. Edgard Blücher. 308p., 1989.
- Ponzoni, F. J.; Inoue, M. T. **Reflectância espectral de folhas "ex-situ": uma abordagem metodológica**. São José dos Campos. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. 11p., 1991.
- Silva, E. L .S.; Ponzoni, F.J. Comparação entre a reflectância hemisférica de folhas e a reflectância bidirecional de um dossel. Submetido à **Revista Árvore** (Sociedade de Investigações Florestais) (no prelo).