

INFRAVERMELHO PRÓXIMO NA AVALIAÇÃO QUANTITATIVA FOLIAR

NEAR INFRARED IN THE QUANTITATIVE LEAF ASSESSMENT

José Antonio Martins¹, Vagner Sargentelli²

1- *Doutor em Ciências (Instituto de Química – UNICAMP); Cientista de Dados, Nanotimize Tecnologia S/A.* 2- *Doutor em Química (Instituto de Química, UNESP - Araraquara); Cientista Sênior, Nanotimize Tecnologia S/A.*

Contato: contato@nanotimize.com.br

33

RESUMO

É de conhecimento que a nutrição das plantas e os aspectos relacionados à mesma são importantes para a produtividade agrícola. A investigação de folhas de plantas pode fornecer informações importantes sobre nutrição, condição do solo e manejo integrado de pragas. O infravermelho próximo (NIR) vem sendo empregado para investigar componentes foliares há algumas décadas por ser uma técnica rápida, não destrutiva e não invasiva. Assim, o objetivo do presente artigo é abordar o estado da arte em que se encontra do uso do NIR na avaliação quantitativa foliar.

Palavras-chave: NIR. Folha. Análises Quantitativas.

ABSTRACT

It is known that plant nutrition and aspects related to it are important for agricultural productivity. The investigation of plant leaves can provide important information on nutrition, soil condition and integrated pest management. Near infrared (NIR) has been used to investigate leaf components for some decades as it is a fast, non-destructive and non-invasive technique. Thus, the objective of this article is to address the state of the art of using NIR in the quantitative leaf assessment.

Keywords: NIR. Leaf. Quantitative Analysis.

INTRODUÇÃO

O aumento da produtividade agrícola é imprescindível e não requer apenas o manejo do solo, o uso de pesticidas ou agentes biológicos para obter melhores safras, mas também a melhoria da qualidade das sementes e grãos e outros fatores intrínsecos. Os estudos de folhas de plantas *in vivo* fornecem informações importantes sobre nutrição, condição do solo e manejo integrado de pragas e podem ser utilizados para a obtenção de dados que viabilizem uma melhor

produtividade e, para tanto, o infravermelho próximo (NIR) é uma técnica muito útil (WANG, 2004).

O NIR é um tipo de espectroscopia vibracional que corresponde à faixa de comprimento de onda de 750 a 2500 nm (número de onda: 13300 a 4000 cm^{-1}). Os métodos analíticos resultantes do uso da região espectroscópica no NIR refletem suas características mais significativas, como: rápido (um minuto ou menos por amostra), não destrutivo, não invasivo, com alta penetração no feixe de radiação da sondagem, adequado para uso em linha, aplicação quase universal (qualquer molécula contendo ligações CH, NH, SH ou OH), com demandas mínimas de preparação de amostras. O principal avanço nas aplicações tecnológicas dessa técnica foi possível pelo desenvolvimento computacional e pela nova disciplina de quimiometria (PASQUINI, 2003; PASQUINI, 2018). A quimiometria envolve a aplicação de métodos estatísticos e matemáticos, bem como aqueles baseados na lógica matemática, à análise química, fornecendo as ferramentas para coletar informações e seu uso sábio (OTTO, 2017; BROWN, 2017). Outro avanço foi o uso da imagem hiperespectral (HSI). HSI é uma combinação de duas tecnologias consolidadas que incluem espectroscopia e imagem, em que uma imagem é adquirida ao longo dos comprimentos de onda na região do NIR para especificar o espectro completo de comprimento de onda de cada pixel do plano de imagem. As análises com NIR-HSI geram um grande conjunto de dados em uma superfície de amostra, conhecida como hipercubo. Esta estrutura pode ser compreendida como duas dimensões espaciais e uma dimensão espectral, contendo informações químicas e físicas da matriz (TIBOLA *et al.*, 2018). Recentemente reportamos o emprego do NIR-HSI no estudo de folhas de plantas (SARGENTELLI; MARTINS, 2020).

O NIR, sem o uso de HSI, vem sendo utilizado para investigar componentes foliares há algumas décadas. A seguir, apresenta-se uma abordagem de artigos científicos e, em seguida, de patentes, para fornecer uma visão do estado da arte em que se encontra o emprego do NIR em análise foliar. No texto que segue, optou-se, para maior clareza, por manter as siglas oriundas dos termos do idioma inglês.

ARTIGOS CIENTÍFICOS

No início da década de oitenta do século passado, foi publicado um artigo sobre o sensoriamento remoto do teor de água foliar empregando o NIR. No trabalho, um modelo de radiação foliar estocástica foi utilizado para prever a refletância espectral das folhas em função do teor de água foliar para uma folha de dicotiledóneas. As refletâncias espectrais simuladas foram analisadas para quantificar as diferenças de refletância entre diferentes espessuras de água

equivalentes. Os resultados resultaram na conclusão de que a região de 1,55-1,75 μm (1550-1750 nm) foi o intervalo de comprimento de onda mais adequado para a detecção remota da plataforma de satélite do estado da água da copa da planta na região de 0,7 a 2,5 μm (700-2500 nm) do espectro (TUCKER, 1980).

O teor de água continuou sendo objeto de pesquisas na época mencionada acima e, em outro artigo, a detecção do estresse hídrico de plantas por sensoriamento remoto foi proposta utilizando o NIR (0,7-1,3 μm – 700-1300 nm) e o infravermelho médio (MIR, 1,3-2,5 μm – 1300-2500 nm). O primeiro objetivo do trabalho foi testar a capacidade do índice de conteúdo de água da folha (LWCI) para determinar o conteúdo de água relativa da folha (RWC) de diferentes espécies com diferentes morfologias foliares. O segundo objetivo foi determinar como o índice de estresse de umidade (MSI) varia com o RWC e a espessura da água equivalente (EWT). Fatores de refletância a 0,82 μm e 1,6 μm (820 e 1600 nm) foram medidos em folhas, à medida que secaram em bancada de laboratório, das seguintes plantas: *Quercus agrifolia* (espécie perenifólia de carvalho), *Liquidambar styraciflua* (árvore monoica, decídua e muito ornamental), *Picea rubens* e *Picea pungens* (coníferas, um grupo de árvores e arbustos que produzem cones, os quais contêm suas sementes), e *Glycine max* (gênero botânico pertencente à família Fabaceae). RWC e EWT foram medidas simultaneamente com as medições de refletância. Os resultados mostraram que LWCI foi igual a RWC para as espécies testadas. No entanto, os resultados de uma análise de sensibilidade indicaram que as refletâncias a 1,6 μm (1600 nm) para dois RWC diferentes devem ser conhecidas para uma predição precisa de RWC desconhecida; assim, o LWCI não é prático para aplicações de campo. MSI foi correlacionado linearmente com RWC com cada espécie tendo uma equação de regressão diferente e log 10 EWT com dados de todas as espécies caindo na mesma linha de regressão. Como o EWT está correlacionado com o índice da área foliar, o MSI também deve estar correlacionado com o índice da área foliar. Supondo que a equação de regressão linear de MSI para EWT possa ser aplicada em copa, então a alteração mínima significativa de RWC que pode ser detectada é de 52%. Para a maioria das plantas, a variação natural na RWC do estresse hídrico é apenas de cerca de 20%, de modo que a conclusão dos autores foi que os índices derivados das refletâncias NIR e MIR não podem ser usados para controlar o estresse hídrico (HUNT; ROCK, 1989).

Não obstante à publicação dos dois artigos anteriores, o interesse no NIR continuava, já buscando analisar outros componentes foliares. Assim, foi apresentado um método de ensaio fácil de constituintes de folhas de chá por NIR (SADA *et al.*, 1993) e descrito o emprego do NIR nas análises quantitativas e qualitativas de compostos básicos na folha de beterraba açucareira (*Beta vulgaris*) (MROCZYK; MICHALSKI, 1995). Neste trabalho, a aplicação do NIR em larga escala foi possível graças ao uso de computadores rápidos o que facilitou análises quantitativas e qualitativas. O NIR foi utilizado para estudar mudanças na composição química em folhas de beterraba açucareira sob a influência de

diversos fertilizantes. Os resultados obtidos mostraram que o NIR é uma ferramenta eficaz para prever proteínas, nitrogênio (N) e sacarídeos.

Unindo a detecção remota e o NIR, os limites teóricos para a estimativa do índice de área foliar (LAI) foram publicados. Inicialmente, menciona-se que o LAI de um dossel de planta (que é um parâmetro ambiental importante exigido por várias aplicações) seria muito interessante poder ser estimado com base em dados de sensoriamento remoto por satélite na faixa espectral óptica. No entanto, LAI afeta a propagação da luz em um dossel de plantas (e, portanto, seu fator de refletância mensurável) exclusivamente através de uma condição de limite da equação de transferência de radiação. O LAI pode ser recuperável de forma precisa e confiável apenas quando o dossel é opticamente fino o suficiente para permitir uma iluminação significativa do solo subjacente e quando as propriedades ópticas do solo são tais que o campo de radiação emergente desse nível é suficientemente diferente daquilo que seria exibido por um dossel mais profundo. Assim, foram investigadas e documentadas, com a ajuda de estudos de simulação, as combinações de condições radiativas (propriedades do solo e da planta) necessárias para a recuperação confiável e precisa do LAI com base em dados de reflexão de detecção remota adquiridos acima do dossel nas regiões espectrais vermelhas e infravermelhas. Os resultados do trabalho mostraram a recuperação do LAI a partir de dados de detecção remota, no entanto, somente em situações ideais (GOBRON; PINTY; VERSTRAETE, 1997). Já as características estruturais das folhas, obtidas por refletância no NIR, foi objeto de estudo. A relação entre a refletância no NIR a 800 nm das folhas e as características estruturais das folhas conhecidas por afetar a fotossíntese foi investigada em 48 espécies de angiospermas alpinas. Este comprimento de onda foi selecionado para discriminar os efeitos da estrutura da folha *versus* o conteúdo químico ou de água na refletância da folha. Um modelo quantitativo foi construído correlacionando o NIR com características estruturais da folha para seis espécies e, em seguida, validado usando todas as 48 espécies. Entre as características estruturais testadas no modelo de refletância foram a densidade do tricoma foliar, a presença ou ausência de bicorreção foliar e uma cutícula espessa da folha ($> 1 \mu\text{m}$), a espessura da folha, a proporção de mesofila paliçada e a espessura mesofílica esponjosa (PM/SM), a proporção do mesofílio ocupado pelos espaços de ar intercelular (% IAS) e a proporção da área de superfície das células do mesofila exposta ao IAS (A_{mes}) por unidade de área da superfície da folha (A) ou A_{mes}/A . A análise por regressão multilinear mostrou que o NIR medido estava altamente correlacionado com A_{mes}/A , a bicorreção da folha e a presença de uma cutícula espessa da folha ($r = 0,93$). Em contraste, as correlações entre NIR e densidade de tricomas foliares, espessura foliar, relação PM/SM ou % IAS foram relativamente fracas ($r < 0,25$). Um modelo que incorpora A_{mes}/A , a bicorreção da folha e a espessura da cutícula foi predito por NIR com precisão para 48 espécies ($r = 0,43$; $P < 0,01$) e pode ser útil para ligar dados detectados remotamente à estrutura e função da planta (SLATON; HUNT; SMITH, 2001).

A determinação de lignina, holocelulose e extrativos de solventes orgânicos em folhas frescas, lixo e material orgânico no chão da floresta usando espectroscopia de reflexão no NIR foram reportadas. Os autores relataram os resultados de um estudo sobre os espectros de refletância no NIR de vários estágios foliares de fresco a senescente e a folha em decomposição. Foi verificado que uma ampla característica de absorvência aumentou na região de 1100 a 1400 nm com o avanço da senescência da folha e da decomposição da folha, concomitantemente com uma diminuição na região ao longo de 1440 nm durante o processo de decomposição e senescência. Essas diferenças de espectro mostraram as mudanças nos constituintes da folha em termos de grau de senescência e de decomposição. Uma comparação da regressão linear múltipla entre os espectros de refletância no NIR e análises químicas próximas mostrou que a espectroscopia de refletância no NIR atingiu um certo nível de precisão útil. Os autores consideraram que a espectroscopia de refletância no NIR tem potencial para prever o conteúdo de frações de carbono (C) em materiais vegetais e que esse método pode ser útil devido à determinação mais rápida das frações de C e sua capacidade de aumentar significativamente o número de amostras que podem ser coletadas e medidas (ONO; HIRAIDE; AMARI, 2003). A quantificação de glucosinolatos em folhas de colza (*Brassica napus*) foi realizada por NIR, empregando, concomitantemente, a quimiometria. No estudo, os espectros no NIR e a quimiometria foram utilizados para desenvolver modelos preditivos para medir glucosinolatos nas folhas de colza. Foi avaliado o potencial do NIR para rastreio do conteúdo total de glucosinolato (t-GSL) e também a gluconapina alifática (GNA), glucobrassicinapina (GBN), progoitrina (PRO), glucoalissina (GAL) e indol glucosinolato glucobrassicina (GBS). *Brassica napus* é cultivada tanto para forragem quanto para consumo humano. Na Galiza (noroeste da Espanha) é altamente apreciada pela nutrição humana e tem o nome comum de "nabicol". Uma coleção de 36 populações locais de nabicol foi analisada por NIR para composição de glucosinolato. Os valores de referência para os glucosinolatos foram obtidos por cromatografia líquida de alta performance nas amostras de folhas e regredidas contra diferentes transformações espectrais por regressão por mínimos quadrados parciais modificados (MPLS). Os coeficientes de determinação (R^2) na validação mostrados pelas equações para t-GSL, GNA, GBN, PRO, GAL e GBS foram, respectivamente, 0,88, 0,73, 0,81, 0,78, 0,37 e 0,41. O desvio padrão para o erro padrão da taxa de validação foi para estes constituintes, da seguinte forma: t-GSL, 2,96; GNA, 1,94; GBN, 2,31; PRO, 2,11; GAL, 1,27 e GBS, 1,29. Os resultados mostraram que as equações desenvolvidas para os glucosinolatos totais, bem como para a gluconapina, a glucobrassicinapina e a progoitrina, podem ser utilizadas para rastrear esses compostos nas folhas desta espécie. Além disso, as equações de glucoalissina e glucobrassicina obtidas podem ser usadas para identificar essas amostras com conteúdo baixo e alto. A partir do estudo dos pesos MPLS dos três primeiros termos das diferentes equações, pôde-se concluir que alguns dos principais

componentes celulares, como proteína e celulose, participaram muito na modelagem das equações para os glucosinolatos (FONT *et al.*, 2005).

É de conhecimento que o diagnóstico automático das doenças das plantas é importante para o gerenciamento das mesmas, para a preservação ambiental e para a produtividade agrícola. Com isto em mente, alguns autores empregaram o NIR na detecção do danos causados por *Leucoptera coffeella* (bicho mineiro) nas folhas de tomate (*Solanum lycopersicum*). Os objetivos do estudo foram: caracterizar os espectros de reflexão de folhas de tomate danificadas pelo bicho mineiro e determinar quais os comprimentos de onda que mais responderam ao dano causado pela praga. O dano nas folhas de tomate foi classificado em cinco escalas com base nos níveis de gravidade exibidos nas superfícies das folhas. Um parâmetro espectral de sensibilidade de refletância foi usado para encontrar os comprimentos de onda ótimos para determinar e avaliar o nível de danos. Os resultados mostraram diferenças claras na refletância espectral de diferentes níveis de infestação. A refletância espectral diminuiu significativamente com o aumento do nível de gravidade nos comprimentos de onda curtos no NIR 800-1100 nm, mas mudanças para bandas individuais de 1450 e 1900 nm onde a refletância espectral aumenta com o nível de gravidade crescente. Os parâmetros espectrais, como a refletância de um único comprimento de onda, a área do pico e o índice da banda de água, foram utilizados para discriminar o nível de gravidade da infestação. Os resultados indicaram que as bandas em 1450 e 1900 nm, modeladas com o nível de gravidade, proporcionaram o maior coeficiente de correlação (XU *et al.*, 2007). Foi descrito um trabalho envolvendo a análise espectral no NIR (com a combinação das bandas em 1050 e 1250 nm) para se determinar o índice de área da folha em pomares cítricos. Os autores concluíram que a metodologia empregada pode ser considerada uma ferramenta valiosa para extrair com mais precisão os parâmetros bioquímicos foliares. Ao implementar a ferramenta em índices existentes relacionados com clorofila, o desempenho para estimar o teor de clorofila da folha a partir de dados espectrais de nível de copa de cítricos e pêssegos foi aumentado. Além disso, o trabalho também propôs um fator de correção para permitir a aplicação da metodologia em campos com fortes variações de teor de água (DELALIEUX *et al.*, 2008). Outro trabalho envolvendo a determinação do teor de água foliar a partir do índice de água foliar obtido por refletância das folhas no visível e no NIR, no âmbito de bancada, foi apresentado. Os autores concluíram que a espessura das folhas não foi independente do teor relativo de água das folhas, mas pareceu diminuir substancialmente como resultado da desidratação foliar (SEELIG *et al.*, 2008).

Pode ser constatado, do exposto anteriormente, que o potencial da água na folha é um parâmetro amplamente utilizado para descrever o estado hídrico e a dinâmica do estresse hídrico de culturas de interesse agrícola. Nessas culturas está incluída, também, a videira (*Vitis vinifera*). Um dos métodos correntes para determinação do potencial da água na folha é a câmara de pressão, que é complexa, sujeita a erros operacionais, possuindo limitações no preparo da

amostra ligado ao tempo/temperatura. As limitações citadas dificultam amostragens intensivas requeridas para subsidiar estratégias de manejo mais avançadas em cultivos comerciais, como vinhedos. Portanto, há carência de instrumentação que ofereça maior rapidez de leitura, precisão e confiabilidade para a determinação do potencial da água na folha. Tendo isto por consideração, alguns autores determinaram o potencial da água das folhas de uva com base no NIR. Um espectrofotômetro "portátil", operando na faixa do NIR, com análise multivariada, foi usado para a modelagem e simulação do potencial da água na folha de videira. Para videira de campo, a absorção mais intensiva e significativa da folha ocorre na faixa entre 1440 e 1950 nm e acima de 2200 nm. Análise multivariada espectral referenciada contra medições da câmara de pressão evidenciou coeficientes de correlação de 0,87 a 0,95, claramente demonstrando que esta tecnologia pode proporcionar maior velocidade de aquisição e determinações razoáveis para dados de potencial da água na folha, em campo (SANTOS; KAYE, 2009).

Como mencionado, há também esforço em monitorar doenças e pragas agrícolas. A folha de Fiji é uma das doenças de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum*) mais graves da Austrália, representando um problema significativo em quase metade da área total em produção. Com foco nesta doença, o NIR foi empregado para a previsão de avaliação de doenças para folha de Fiji em clones de cana-de-açúcar na Austrália. O artigo demonstra como medições inferenciais ou métodos indiretos que utilizam metodologia quimiométrica e NIR podem ser usados para prever o desempenho clonal da cana-de-açúcar. A classificação tradicional de clones de cana-de-açúcar para resistência/susceptibilidade é difícil e dispendiosa devido à natureza dos métodos baseados em campo e níveis variáveis de infecção dos ensaios. Assim, o objetivo principal do trabalho foi investigar o potencial do NIR como meio alternativo para classificar os clones da medição direta do espectro da folha de cana-de-açúcar e examinar sua capacidade de prever com sucesso classificações de resistência tradicionais usando um modelo de calibração baseado em um método quimiométrico, como regressão por mínimos quadrados parciais (PLS). Um estudo de microscopia eletrônica de varredura (SEM) do substrato da folha foi realizado para elucidar a natureza do local da amostra no NIR. Além disso, um estudo no NIR de amostras de folhas de cana-de-açúcar liofilizadas resolveu as bandas O-H sobrepostas no espectro no NIR devido à interação água/celulose. Observou-se uma diminuição significativa da intensidade espectral entre 5205 e 5393 cm^{-1} (1921 e 1854 nm) e também uma diminuição semelhante na tonalidade de alongamento de OH (7114 cm^{-1}) (1405 nm) com uma mudança de acompanhamento para números inferiores. A modelagem PLS baseada em classificações tradicionais como variável dependente e os espectros no NIR correspondentes mostraram resultados satisfatórios com valores de erro padrão de validação (SEV) e erro padrão de predição (SEP) sendo 0,98 ($R^2 = 0,97$) e 1,20 ($R^2 = 0,88$), respectivamente (PURCELL *et al.*, 2009).

Foi apresentado um trabalho usando um sistema de imagem digital à prova de intempéries para prever o LAI de arroz. O sistema de imagem digital à prova de intempéries para a banda no NIR (820-900 nm) foi posicionado a 12 m acima do campo de arroz. Durante as estações dos anos de 2008 e 2009, o sistema registrou imagens automaticamente em intervalos de 10 minutos ao longo do dia. As correções radiométricas para as imagens no NIR utilizaram um sensor de irradiação solar e calibrações anteriores para calcular os fatores de refletância calculados diariamente (DARF) de 09:00 às 15:00 JST (hora padrão do Japão). Nas equações derivadas empiricamente para prever o LAI usando os valores DARF do ano de 2008 no NIR, os cossenos de ângulos entre as direções da vista e as direções da linha de plantação e entre a visão e as direções do meridiano foram verificados com os dados do ano de 2009 em conjunto. Os resultados indicaram que as imagens radiométricas no NIR derivadas usando um sistema de observação de ponto fixo podem prever com precisão o LAI, e as equações de regressão linear múltiplas simples desenvolvidas para um determinado ano podem ser usadas no ano seguinte sem recalibração *in situ* (SHIBAYAMA *et al.*, 2011). Os mesmos autores, também preocupados com a cultura de arroz, apresentaram um trabalho semelhante ao descrito acima, no qual a estimativa do verde da folha de arroz (SPAD), usando observações contínuas de ponto fixo de imagens digitais visíveis na região do vermelho e no NIR, foi proposta. No trabalho, um sistema de câmera dupla de banda estreita demonstrou uma nova técnica de detecção de curto alcance para acompanhar sazonalmente as tendências no verde da folha em arrozais. Um sistema de imagem digital à prova de intempéries para a banda vermelha visível (vermelho, 620-650 nm) e no NIR (820-900 nm) foi posicionado também a 12 m acima do campo de arroz. Durante as estações de produção de arroz nos anos de 2009 e 2010, o sistema registrou automaticamente imagens em intervalos de 10 minutos ao longo do dia. As correções radiométricas para as imagens utilizaram sensores de irradiação solar e calibração prévia para calcular os fatores de refletância calculados diariamente (DARF) de 09:00 às 15:00 JST. Os valores de DARF na região do visível no vermelho (DARF-RED) e no NIR (DARF-NIR) foram transformados para fornecer um índice de vegetação de diferença normalizada diária (DA-NDVI). O DA-NDVI aumentou mais rapidamente no período de crescimento vegetativo e atingiu um patamar assintótico antes do DARF-NIR. Do transplante para a colheita, os valores de verde da folha (aferidos pelo índice SPAD) foram medidos para a parte central das folhas mais altas dos copos direcionados semanalmente com um medidor de clorofila. Foi desenvolvido um índice de folha verde (LGI), a proporção de DA-NDVI para DARF-NIR e um método de cálculo simples para reduzir o efeito de fundo para a área. A área modificada do LGI seguiu a tendência sazonal no valor SPAD; seu padrão foi inerentemente diferente dos padrões de qualquer um dos três parâmetros originais: DARF-RED, DARF-NIR ou DA-NDVI. Ao longo das estações de arroz em dois anos, uma equação de regressão para estimar os valores de SPAD usando o LGI, a radiação solar diária, o cosseno de ângulo entre a visão e as direções do meridiano e o cosseno do ângulo do zênite solar foi

desenvolvida. Os autores concluíram que a concentração de N por planta seca teve uma relação próxima dos valores de SPAD estimados (SHIBAYAMA *et al.*, 2012).

Além da utilização do NIR para a quantificação não destrutiva de componentes foliares em plantas anteriormente citadas, alguns dos autores do parágrafo precedente também empregaram esta técnica para analisar flavonoides. O trabalho trata da determinação do teor total de flavonoides na folha fresca de *Ginkgo biloba* com diferentes cores usando o NIR. *Ginkgo biloba* (de origem chinesa) é uma árvore considerada um fóssil vivo, pois existia já no tempo dos dinossauros, há mais de 150 milhões de anos. É símbolo de paz e longevidade por ter sobrevivido às explosões atômicas no Japão. O conteúdo total de flavonoides é frequentemente considerado um índice de qualidade importante da folha de *G. biloba*. Foi investigada a viabilidade de usar espectros no NIR na faixa de comprimento de onda de 10000-4000 cm^{-1} (1000-2500 nm) para determinação rápida e não destrutiva do conteúdo total de flavonoides na folha de *G. biloba*. Cento e vinte folhas frescas de *G. biloba* em diferentes cores (verde, verde-amarelado e amarelo) foram utilizadas para aquisição de espectros e determinação total de flavonoides. Os modelos PLS, regressão por mínimos quadrados parciais do intervalo (iPLS) e os mínimos quadrados parciais de intervalo por sinergia (SiPLS) foram utilizados para desenvolver modelos de calibração para o conteúdo total de flavonoides em folhas de duas cores (verde-amarelada e amarela) e três cores (verde, verde-amarelado e amarelo), respectivamente. O nível de conteúdo total de flavonoides para folhas verdes, verde-amareladas e amarelas foi em ordem crescente. Duas regiões de comprimento de onda características 5840-6090 cm^{-1} (1712-1642 nm) e 6620-6880 cm^{-1} (1510-1453 nm), que correspondiam às absorções de dois anéis aromáticos na estrutura básica de flavonoides, foram selecionadas por SiPLS. O modelo SiPLS ideal para o conteúdo total de flavonoides nas folhas de duas cores teve melhor desempenho do que os modelos PLS e iPLS. Os autores concluíram que o NIR tem potencial significativo na determinação não destrutiva do teor total de flavonoides na folha fresca de *G. biloba* (SHI *et al.*, 2012). (Semelhante estudo, e conclusões análogas, foram mais recentemente reportados (ZHAO *et al.*, 2018)). Também foi descrita a aplicação do NIR para a determinação rápida da atividade antioxidante do extrato de folha de bambu (*Bambusa vulgaris*), sendo que três índices de atividade antioxidante foram analisados. O artigo menciona que foi a primeira vez que a seleção da variável espectral foi utilizada para determinar a atividade antioxidante (WU *et al.*, 2012). Foi desenvolvido um sistema por NIR para análise de N foliar em milho (*Zea mays*) e soja (*Glycine max*). Os resultados obtidos por NIR, comparados aos obtidos pelo método clássico (Kjeldahl), apresentaram confiabilidade aceitável (SANTOS; SANTOS; KORNDÖRFER, 2012). Já uma estimativa da concentração de N em folha de oliveira (*Olea europaea*) usando refletância espectral visível e NIR (VIS-NIR) foi proposta. No trabalho, a espectroscopia no VIS-NIR foi estudada como ferramenta para

fertilização eficiente em pomares de oliveira. As amostras de folhas de oliveira foram retiradas de pomares que foram fertilizados com uma ampla gama de níveis de N. Folhas de solo secas, folhas frescas e folhas intactas foram testadas. As concentrações de N das mesmas amostras foram medidas analiticamente como referência para as análises espectrais, que foram realizadas por PLS. O melhor modelo preditivo para amostras completas em temporada e entre as estações (160 amostras de três estações, tomadas em 18 dias separados) foi obtida usando folhas completamente secas ($R^2 = 0,91$). A classificação em três níveis de N foi avaliada e uma precisão global de 0,83 foi encontrada. As folhas intactas renderam correlações não suficientes. Os resultados mostraram que a desidratação foliar melhora significativamente o desempenho do modelo e que a espectroscopia no VIS-NIR pode ser usada para a tomada de decisões nos procedimentos de fertilização (ROTBART *et al.*, 2013). A espectroscopia no VIS-NIR e a quimiometria foram empregadas para determinar os níveis de elemento traço, ferro e zinco, em folhas de arroz. Foram investigados dois métodos de seleção de comprimento de onda sensível (SW) combinados com espectroscopia no VIS-NIR. Um total de 90 amostras foram preparadas para os conjuntos de calibração ($n = 70$) e validação ($n = 20$). Os modelos de calibração usando SWs selecionados por análise de variáveis latentes (LVA) e análise de componentes independentes (ICA) foram desenvolvidos e a regressão não linear de uma máquina vetorial de suporte de mínimos quadrados (LS-SVM) foi construída. Nos modelos não-lineares, seis SWs selecionados pela ICA podem fornecer o modelo ICA-LS-SVM ideal quando comparado com o LV-LS-SVM. Os valores de R^2 , da raiz quadrada da soma quadrática dos erros de predição (RMSEP) e da polarização por ICA-LS-SVM foram 0,6189, 20,6510 ppm e -12,1549 ppm, respectivamente, para Fe e 0,6731, 5,5919 ppm e 1,5232 ppm, respectivamente, para zinco. Os resultados globais indicaram que a ICA é uma maneira poderosa para a seleção de SWs e a espectroscopia no VIS-NIR combinada com ICA-LS-SVM é muito eficiente em termos de determinação precisa de oligoelementos na folha de arroz (SHAO; HE, 2013). Uma análise regressiva sobre conteúdo de N em folha e refletância no NIR foi reportada. O trabalho propôs um método de avaliação do teor de N em folhas de chá empregando refletância no NIR e a monitorização da fazenda de chá com câmera de infravermelho acoplada a um helicóptero. Através de experiências e análises regressivas, verificou-se que o método proposto e o sistema de monitoramento são adequados (ARAI *et al.*, 2013).

Outro aspecto de uso do NIR envolveu a discriminação de espécies de plantas através da análise foliar. O uso combinado de instrumentos de alta tecnologia e técnicas apropriadas para discriminar espécies arbóreas é necessário para melhorar o sistema de inventário de biodiversidade em países tropicais. O NIR com Transformadas de Fourier (FT-NIR) em folhas parece ser uma ferramenta promissora para a discriminação de espécies de plantas. Foi com esse propósito que alguns autores investigaram a assinatura espectral em que

foram discriminadas espécies de plantas estreitamente relacionadas na Amazônia com FT-NIR de folha. No estudo, demonstrou-se um excelente desempenho do FT-NIR, extraído de folhas inteiras secas, para discriminar espécies estreitamente relacionadas de *Eschweilera* e *Corythophora*, Lecythidaceae, um dos principais componentes das florestas amazônicas. Foram obtidos 36 leituras espectrais, a partir das superfícies adaxial e abaxial de folhas secas, para 159 espécimes representando 10 espécies. Cada espectro consistiu em 1557 valores de absorvância FT-NIR. Compararam-se a taxa de identificação correta da amostra (árvore individual) com espécies para diferentes conjuntos de dados e modelos discriminantes, em que o espectro individual consistiu em combinações diferentes quanto ao número de variáveis (todos e selecionados por etapas), número diferente de leituras por espécime (adaxial, abaxial e selecionados aleatoriamente) e modelos discriminantes (validação cruzada e validação do conjunto de testes). Os melhores resultados indicaram 99,4% da identificação correta da amostra quando usou-se a média de todas as 36 leituras espectrais por amostra e variáveis selecionadas por etapas. A taxa mais baixa foi em média 96,6% quando uma única leitura espectral foi usada por árvore individual (amostrada aleatoriamente em mais de 100 repetições). Em geral, a taxa de discriminação correta das espécies foi sempre alta e insensível à seleção de variáveis, aos diferentes conjuntos de dados e aos dois principais modelos de validação usados. Essas especificações espectrais de espécies (SSS) forneceram melhores resultados do que a codificação atual de ácido desoxirribonucleico (DNA) para identificação de plantas em florestas tropicais, e representa uma técnica de amostragem rápida e de baixo custo. Os autores argumentaram que, embora sejam necessários mais testes para avaliar o potencial da espectroscopia FT-NIR para a identificação da planta em escalas geográficas e filogenéticas mais amplas, os resultados apresentados no trabalho indicaram que o SSS extraído de espécimes de herbário pode ser uma referência poderosa para identificar espécimes, mesmo quando não possui estruturas reprodutivas, de interesse particular para o inventário e gerenciamento florestal (DURGANTE *et al.*, 2013). O potencial da espectroscopia VIS-NIR no estudo de folhas de algodões (*Gossypium hirsutum*) também foi apresentado. Isto porque a existência de materiais não lilados (ou lixo botânico) dentro de fardos comerciais de algodão degrada seu valor de mercado, requer um processo de limpeza adicional e compromete a qualidade do produto acabado. Para enfrentar o desafio de avaliar o conteúdo do lixo, várias abordagens foram colocadas em prática. No estudo, os espectros no VIS-NIR foram adquiridos para explorar o potencial de discriminação de amostras de algodão com várias categorias de folhas. Modelos de classificação de sete classes em diferentes regiões espectrais foram desenvolvidos para otimizar a eficiência de identificação. Os resultados indicaram que o uso do modelo na região no NIR 1105-1700 nm poderia atingir uma separação aceitável de ~ 95,0%, com uma identificação correta de 89,9% no conjunto de validação e um sucesso de 100% no conjunto de calibração (LIU; FOULK, 2013). Passando do algodão para o trigo (*Triticum* spp.), no trigo, o teor de N durante o período de

enchimento de grãos (GFP) desempenha um papel fundamental na manutenção da atividade fotossintética e na determinação da quantidade de N disponível para o teor de proteína de grãos (GPC). Assim, foi monitorado a cinética de reabsorção de N por NIR durante o enchimento de grãos em trigo duro (*Triticum turgidum*) em diferentes condições de disponibilidade de N. Foi documentada a reabsorção de N em plantas de trigo duro em um nível não limitativo de N no ano de 2010 e em dois níveis diferentes de adubação nitrogenada no ano de 2011. Durante a GFP, monitoraram as mudanças no teor de N nas folhas por um método não destrutivo baseado no NIR. Os conjuntos de dados foram modelados para cada planta; os parâmetros foram extraídos e analisados para determinar qual a origem da variação (genótipo e/ou disponibilidade de N) predominante. A alta disponibilidade de N após colheita retardou o início da reabsorção N (t_0) e houve uma forte correlação negativa entre t_0 e a duração da reabsorção. A reabsorção de N foi associada a melhores componentes de rendimento de grãos. Uma alta proporção da variação do rendimento de grãos por espiga e GPC foi explicada por regressão linear múltipla, combinando a largura da folha da bandeira e parâmetros dinâmicos de N sob a disponibilidade de N não limitativa. Os autores concluíram que a correlação negativa entre rendimento e GPC pode resultar do início da reabsorção de N durante o enchimento de grãos, potencialmente aumentando o rendimento, se atrasado, ou aumentando o GPC se ocorrer cedo (VILMIUS *et al.*, 2013).

Também foi reportada a determinação, utilizando a microscopia no NIR, do teor de N e C do pó de folha de tomate. Os autores argumentaram que o microscópio no NIR (NIRM) foi desenvolvido como uma técnica rápida para prever a composição química dos alimentos, reduzir custos analíticos, tempo e facilitar a preparação da amostra. No estudo, o NIRM foi avaliado como uma alternativa à análise química clássica para determinar o teor de N e C de pequenas amostras de pó de folha de tomate. Os espectros no NIR foram obtidos por NIRM para amostras de folhas independentes coletadas em 216 plantas cultivadas sob seis níveis diferentes de N. A partir destes, foram selecionadas 30 amostras de calibração e 30 amostras de validação que abrangem a faixa espectral de todo o conjunto e os seus teores de N e C foram determinados por um método de referência. O modelo de calibração obtido para o teor de N mostrou-se excelente, com um coeficiente de determinação na calibração (R^2_c) superior a 0,9 e uma relação desempenho/desvio (RPD_c) superior a 3. Indicadores estatísticos de predição usando a validação também foram muito elevados (valores $R^2_p > 0,90$). No entanto, o modelo de calibração obtido para o teor de C foi muito menos satisfatório ($R^2_c < 0,50$). A conclusão principal foi que o NIRM aparece como uma ferramenta promissora e adequada para uma determinação rápida, não destrutiva e confiável do teor de N de pequenas amostras de pó de folha de tomate (LEQUEUE; DRAYE; BAETEN, 2016).

O teor de água foliar é uma constante preocupação por parte dos pesquisadores pois é um dos parâmetros fisiológicos mais comuns que limitam a eficiência da fotossíntese e da produtividade da biomassa nas plantas.

Sofisticados métodos de medida vêm sendo testados, inclusive utilizando dados de satélites. Assim, foi reportada a viabilidade de estimar o teor de água foliar usando índices espectrais das bandas no NIR e no infravermelho usando dados do satélite WorldView-3 da DigitalGlobe. Este satélite comercial de alta resolução tem 8 bandas na região do comprimento de onda infravermelho de ondas curtas (SWIR), que pode ser capaz de estimar o teor de água no dossel a uma resolução espacial de 3,7 m. O WorldView-3 também possui 8 bandas multiespectrais com resolução de 1,24 m com duas bandas no NIR. As funções de resposta espectral relativa para WorldView-3 foram fornecidas pela DigitalGlobe, Inc. e as refletâncias de banda foram determinadas para espectros de refletância de simulações de modelo PROSPECT e dados de folhas de milho, gramíneas (Poaceae) e árvores. (PROSPECT é um modelo de propriedades ópticas foliar amplamente utilizado que considera a folha como uma pilha de placas elementares de absorção e difusão de N). Para medições laboratoriais, a extensão do teor de água foliar foi prolongada, incluindo secagem de folhas e pilhas de folhas de milho, soja, carvalhos (*Quercus*) e bordos (*Acer*). As correlações entre o teor de água foliar e os índices espectrais das simulações de modelos sugeriram que os índices utilizando a banda SWIR 1 (comprimento de onda central 1210 nm) apresentavam baixa variabilidade em relação ao teor de água foliar e também baixa sensibilidade. Outros índices usando a banda SWIR 5 (2165 nm) tiveram a maior sensibilidade, mas também apresentaram alta variabilidade causada por diferentes valores do parâmetro da estrutura da folha em PROSPECT. Os índices utilizando as bandas SWIR 2, 3 e 4 (1570, 1660 e 1730 nm, respectivamente) apresentaram altas correlações e variabilidade intermediária do parâmetro da estrutura da folha. Os índices espectrais calculados a partir dos dados da folha apresentaram os mesmos padrões gerais que as simulações de variação e sensibilidade. No entanto, os índices que utilizam a banda SWIR 1 apresentaram baixas correlações e as melhores correlações foram de índices que utilizaram as bandas SWIR 2, 3 e 4. Os índices espectrais de milho, gramíneas, culturas herbáceas e ervas daninhas tiveram respostas semelhantes ao teor de água foliar; as folhas das árvores apresentaram valores de índice mais elevados e saturadas em menores teor de água foliar. A largura especificada da banda NIR 2 (860-1040 nm) sobrepõe o recurso de absorção de água a 970 nm. Contudo, a diferença normalizada da banda NIR 1 e 2 foi insensível ao conteúdo de água, porque a resposta espectral da banda 2 no NIR foi mais pesada para comprimentos de onda inferiores a 930 nm. A conclusão final foi que a alta resolução espacial dos dados SWIR do WorldView-3 poderá ajudar a analisar como a variação entre as espécies de plantas e os grupos funcionais afeta as respostas espectrais às diferenças no teor de água do dossel (HUNT; DAUGHTRY; LI, 2016).

Quando se se trata de plantações, outro fator relevante é a toxicidade, pois isto acarreta, por exemplo, perda de produtividade agrícola. Logo a quantificação de elementos tóxicos em folhas também merece atenção, e o NIR vem sendo empregado para tal finalidade. Como exemplo cita-se o trabalho em que foi

apresentada a determinação de conteúdo de cloreto em folhas de caqui (*Diospyros kaki*) usando o NIR. O diagnóstico precoce de toxicidade específica do cloreto em árvores de caqui requer a determinação confiável e rápida do teor de cloreto em folhas, que geralmente é realizado por meio de uma análise úmida pesada, dispendiosa e demorada. No estudo, uma metodologia foi desenvolvida como uma alternativa para determinar o cloreto em folhas de caqui usando o NIR em combinação com técnicas de calibração multivariada. Com base em um conjunto de dados de treinamento de 134 amostras, um modelo preditivo foi desenvolvido a partir de dados espectrais no NIR. Para modelagem, utilizou-se o PLS. O melhor modelo foi obtido com a primeira derivada da absorvância aparente e usando apenas 10 componentes principais. Na validação externa subsequente realizada com 35 dados externos, este modelo atingiu raiz quadrada da somatória quadrática dos erros (RMSE) = 0,16% e razão entre erro padrão de desempenho e desvio padrão (RPD) = 3,6, com erro padrão de 0,026% e viés de -0,05%. A partir desses resultados, o modelo baseado no NIR pode ser usado para acelerar a determinação laboratorial de cloreto em folhas de caqui com apenas uma pequena perda de precisão. A interação intermolecular entre os íons cloreto e as ligações peptídicas nas proteínas da folha através da ligação de hidrogênio, isto é, N-H...Cl, explica a capacidade de determinações de cloreto com base nos espectros no NIR (PAZ *et al.*, 2016). Foi descrita a determinação do conteúdo de água foliar utilizando-se VIS-NIR e acalibração multivariada. No estudo, explorou-se a relação entre o teor de água foliar e os espectros de refletância difusa em *Miscanthus* (gênero botânico pertencente à família Poaceae), em que foram desenvolvidas três calibrações multivariadas, incluindo PLS, regressão da máquina vetorial de suporte aos mínimos quadrados (LSSVR) e rede neural de função radial (RBF-NN) para os modelos de determinação do conteúdo de água foliar. Os modelos não-lineares, incluindo RBF-LSSVR e RBF-NN, apresentaram maior precisão do que os modelos PLS e LSSVR. Além disso, 75 comprimentos de onda sensíveis foram identificados para estarem intimamente associados ao conteúdo de água foliar. Os modelos RBF-LSSVR e RBF-NN para prever o teor de água foliar, com base em 75 comprimentos de onda característicos, obtiveram coeficientes de determinação elevados de 0,9838 e 0,9899, respectivamente. Os resultados indicaram que os modelos não-lineares foram mais precisos do que os modelos lineares usando ambos os intervalos de comprimento de onda. Esses resultados demonstraram que a espectroscopia VIS-NIR combinada com RBF-LSSVR ou RBF-NN é uma ferramenta útil e não destrutiva para determinações do teor de água foliar em *Miscanthus* (JIN *et al.*, 2017).

Um trabalho sobre a avaliação não destrutiva da concentração de N por espectroscopia no VIS-NIR no campo em pomar de pera (*Pyrus communis*) foi reportado. Um experimento de campo de dois anos foi realizado em um pomar de peras comerciais com cinco taxas de aplicação de N: 0 (N0), 165 (N1), 330 (N2), 660 (N3) e 990 (N4) kg de N por hectare. As folhas da parte média da partida do ano foram selecionadas primeiro para a medição espectral e, em seguida, a

determinação da concentração de N no laboratório aos 50 e 80 dias após a floração total (DAB). Foram comparados três métodos de medição espectral no campo (fibra nua de 25° sob condições solares, fundo preto anexado à sonda da planta e fundo branco anexado à sonda da planta). Também foram investigados os desempenhos de modelagem de quatro técnicas quimiométricas (regressão por componentes principais, PCR, PLS, regressão multilinear passo a passo, SMLR, e redes neurais com aplicação de propagação reversa, BPNN) e três índices de vegetação (índice espectral diferencial, diferença normalizada índice espectral e índice espectral de razão). Devido à baixa correlação de refletância obtida pelo método de campo de visão de 25°, toda a modelagem foi realizada em dois conjuntos de dados espectrais - ambos adquiridos por uma sonda de planta. Os resultados mostraram que a melhor precisão de modelagem e predição foi encontrada pelo modelo PLS e os espectros medidos com um fundo preto. Os subconjuntos de calibração separados aleatoriamente ($n = 1000$) e a validação ($n = 420$) do modelo resultaram em altos valores de R^2 de 0,86 e 0,85, respectivamente, bem como um baixo erro médio relativo ($< 6\%$). Além disso, um maior valor de R^2 entre a concentração de N e o rendimento da fruta foi encontrado em 50 amostras de DAB em 2015 ($R^2 = 0,77$) e em 2014 ($R^2 = 0,59$). Os autores sugeriram que a concentração de N na folha pode ser determinada em 50 DAB por espectroscopia no VIS-NIR com um limiar ao redor de 24-27 g/kg (WANG *et al.*, 2017).

Os ensaios de carboidratos são comumente usados nas culturas e pesquisa de plantas para entender a forma como os carboidratos são alocados (por exemplo, dentro de videira) e avaliar sua influência na fisiologia e fenologia da planta. A concentração total de carboidratos não estruturais (TNC) é normalmente avaliada por métodos de química úmida que são demorados e dispendiosos, especialmente quando se estuda a dinâmica de carboidratos ao longo das estações. O estudo coletou os espectros no NIR do tronco de videiras e dos tecidos foliares, mediu a concentração de TNC das mesmas amostras usando um método químico úmido e comparou os resultados usando análise de dados multivariados para desenvolver um procedimento rápido para a estimativa da concentração de TNC em tecidos de videiras. Os resultados mostraram que o NIR pode ser usado para prever a concentração de amido e TNC em troncos e tecidos foliares liofilizados e secos. Além disso, demonstrou-se que um modelo universal robusto pode ser aplicado à predição do TNC em folhas e troncos. Portanto, o método pode ser usado como uma ferramenta prática para uma triagem rápida da concentração de TNC para alta avaliação temporal e espacial de tecidos de videira em determinados estádios fenológicos. As principais vantagens desta técnica em relação aos métodos tradicionais são a rapidez e o protocolo de facilidade de uso na análise de rotina, o que permite uma redução considerável dos custos e do tempo (DE BEI *et al.*, 2017). Também em videiras, outro estudo foi realizado com o objetivo de testar a efetividade potencial de dois dispositivos ópticos portáteis (espectrofotômetros VIS-NIR e NIR) para a avaliação

rápida e não destrutiva do *status* da água das suas folhas. O trabalho também propôs uma metodologia de seleção de variáveis para determinar um conjunto de variáveis candidatas para a previsão do potencial hídrico (Ψ , MPa) relacionado ao *status* da água nas folhas em vista de um dispositivo óptico simplificado. Os modelos PLS mostraram, na validação, valores de R entre 0,67 e 0,77 para modelos provenientes de espectros VIS-NIR, e os valores de R variaram de 0,77 a 0,85 para a região no NIR. O desempenho geral dos modelos de regressão linear múltipla (MLR) de comprimentos de onda selecionados foi um pouco pior que o dos modelos PLS. Em relação à faixa no NIR, os modelos aceitáveis de MLR foram obtidos apenas com 14 variáveis efetivas ($R = 0,63-0,69$). Os autores afirmaram que para atender à demanda do mercado por dispositivos ópticos portáteis e caminhar em direção à tendência de miniaturização e baixo custo dos dispositivos, os comprimentos de onda individuais podem ser úteis para o design de um sistema portátil simplificado e de baixo custo, fornecendo informações úteis para uma melhor programação de irrigação (GIOVENZANA *et al.*, 2018).

É de conhecimento que os sistemas de veículos aéreos não tripulados (UAV) abrem novas possibilidades para caracterizar efetivamente a variabilidade nos sistemas de cultivo com alta resolução espacial e temporal. Em um estudo, o UAV com uma câmera VIS-NIR de baixo custo avaliou a variabilidade espacial na biomassa da forragem (BM) e no LAI em um campo de azevém italiano (*Lolium multiflorum*). Utilizando modelos de MLR, foram obtidos altos coeficientes de determinação e baixos valores de RMSE entre os valores observados e os previstos de BM. Foi verificado que os modelos MLR recuperaram com sucesso as distribuições espaciais de alta resolução da forragem BM e LAI das ortofotos. Os autores concluíram que o método proposto pode efetivamente caracterizar variações de campos espaciais e avaliar o crescimento de forragens para otimizar o manejo das culturas forrageiras em nível de campo (FAN *et al.*, 2018).

Mais recentemente, também em videiras, foi avaliado o uso do NIR e quimiometria no diagnóstico nutricional. No trabalho, os espectros no NIR foram adquiridos de amostras secas de lâminas de folhas, pecíolos e bagas. A espectroscopia no NIR pôde determinar o estado de macronutrientes (fósforo, potássio, cálcio e magnésio) e micronutrientes (manganês, ferro, cobre, zinco e boro). A quantidade de cada nutriente nas videiras foi determinada pela análise das lâminas das folhas ou pecíolos. Todavia, os autores argumentaram que o método impede a detecção em tempo real de deficiências nutricionais (por exemplo, deficiência de boro na floração). Assim, sugerem que a espectroscopia de refletância no NIR juntamente com a quimiometria possam ser utilizadas para uma análise em tempo real de macro / micronutrientes em videiras (CUQ *et al.*, 2020).

PATENTES

Botrytis cinerea é um fungo que ataca diversas espécies vegetais e em diversas fases de desenvolvimento e produz, como sintoma típico, o denominado "mofo cinzento". Assim, com o objetivo de diagnosticar mofo cinzento da folha de planta, foi patenteado um método empregando o VIS-NIR e quimiometria. Os autores afirmaram que a invenção resolve problemas técnicos envolvendo o diagnóstico, em tempo real, da doença (YONG; DI; LEI, 2007). Já com o objetivo de comparar folhas de tabaco (*Nicotiana tabacum*), foi patenteada uma invenção referente a um método de busca de folhas de tabaco similares, baseado no NIR das folhas de tabaco (conhecidas e não conhecidas). Os espectros no NIR das amostras de folhas de tabaco alvo foram obtidos e os cálculos de análise de componentes principais (PCA) realizados e se repetiu o procedimento para folhas de tabaco desconhecido, comparando-se os resultados para identificar as similaridades existentes entre as espécies (JIANXIN *et al.*, 2008).

Como mencionado anteriormente, a quantificação do teor de água foliar vem recebendo atenção dos pesquisadores nos últimos anos. Isso passa necessariamente por ter que se construir instrumentos eficazes para se medir o teor de água. Com esse propósito, foi depositada uma patente que trata da elaboração de um dispositivo de detecção não destrutivo para determinar o teor de água da folha de plantas empregando o NIR. O dispositivo de detecção não destrutivo elaborado possui pequeno volume e peso leve, e é conveniente para ser transportado e pode detectar, de forma rápida e não destrutiva, o teor de água das folhas de plantas (HAIYAN; JIANNAN, 2010).

Outro método utilizando o NIR para o estudo de folhas de tabaco foi patenteado e é caracterizado por ser implementado pelas seguintes etapas: (1) preparação da amostra de modelagem; (2) varreduras de espectro; (3) pré-processamento de espectro; (4) exportação dos dados do espectro; (5) modelagem; (6) escanear uma amostra a ser detectada de acordo com as etapas (2) - (4). Os autores argumentaram que o método divulgado pela invenção é fácil de operar, economizando tempo e mão-de-obra. Além disso, a amostra não precisa ser submetida a pré-tratamento e informações como: região de plantio, espécie e a parte de grau da amostra, podem ser obtidas em dois minutos através da digitalização direta de um espectro no NIR (FENG *et al.*, 2012). A preocupação com a qualidade do produto oriundo da folha de tabaco, ou seja, o cigarro, também conduziu ao desenvolvimento de uma metodologia e a uma patente de um método de cálculo da razão de proporção da matéria-prima da folha de tabaco com base nos espectros no NIR e cálculos computacionais. O método estabelece um modelo característico de NIR com um modelo quantitativo no NIR de uma amostra de folha de tabaco. De acordo com o método, a proporção da composição química da folha de tabaco pode ser realizada calculando o índice de avaliação característica com base em um método de planejamento linear, adotando um

vetor de valor médio adicional como um alvo, de modo que o equilíbrio entre a qualidade e a quantidade dos produtos possa ser estabelecido, a fim de garantir a qualidade do cigarro (JUNHUI *et al.*, 2015).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de haver a aplicação do NIR na análise foliar de algumas substâncias e em várias culturas, também com os conhecimentos da quimiometria, não há, ainda, o emprego desta técnica *in situ*, concomitantemente aliada à análise multivariada dos dados, para quantificar diversos componentes foliares simultaneamente. Alguns trabalhos mencionam o uso de dados de satélite para determinar o teor de água foliar e, inclusive, de aeronaves; porém, muito dispendiosos e, em algumas situações, inacessíveis ao produtor rural. Portanto, esforços são requeridos para desenvolver um método, usando o NIR, que permita uma análise quantitativa *in situ* de componentes foliares (incluindo micro e macronutrientes) que forneça resultados seguros, reproduzíveis, e que seja rápido e a um custo acessível para o agricultor.

REFERÊNCIAS

ARAI, K. *et al.* Regressive analysis on leaf nitrogen content and near infrared reflectance and its application for agricultural farm monitoring with helicopter mounted Near Infrared Camera. **International Journal of Advanced Research in Artificial Intelligence**, v. 2, n. 3, p. 38-43, 2013. Disponível em: doi: 10.14569/ijarai.2013.020306.

BROWN, S. D. The chemometrics revolution re-examined. **Journal of Chemometrics**, v. 31, e3856, p. 1-23, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cem.2856>.

CUQ, S. *et al.* Assessing Macro-(P, K, Ca, Mg) and micronutrient (Mn, Fe, Cu, Zn, B) concentration in vine leaves and grape berries of vitis vinifera by using Near-Infrared spectroscopy and chemometrics. **Computers and electronics in agriculture**, v. 179, p. 105841, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2020.105841>.

DE BEI, R. *et al.* Rapid measurement of total non-structural carbohydrate concentration in grapevine trunk and leaf tissues using near infrared spectroscopy. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 136, p. 176-183, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2017.03.007>.

DELALIEUX, S. *et al.* A near-infrared narrow-waveband ratio to determine leaf area index in orchards. **Remote Sensing of Environment**, v. 112, n. 10, p. 3762-3772, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rse.2008.05.003>.

DURGANTE, F. M. *et al.* Species spectral signature: Discriminating closely related plant species in the Amazon with near-infrared leaf-spectroscopy. **Forest Ecology and Management**, v. 291, p. 240-248, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2012.10.045>.

FAN, X. *et al.* Low-cost visible and near-infrared camera on an unmanned aerial vehicle for assessing the herbage biomass and leaf area index in an Italian ryegrass field. **Grassland Science**, v. 64, n. 2, p. 145-150, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/grs.12184>.

FENG, Z. *et al.* Random forest classification method for tobacco leaf style characteristics based on near infrared spectral information. Patent Number: CN 103674884 A, 2012.

FONT, R. *et al.* Quantification of glucosinolates in leaves of leaf rape (*Brassica napus ssp. pabularia*) by near-infrared spectroscopy. **Phytochemistry**, v. 66, n. 2, p. 175-185, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.11.011>.

GIOVENZANA, V. *et al.* Potential effectiveness of visible and near infrared spectroscopy coupled with wavelength selection for real time grapevine leaf water status measurement. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 5, p. 1935-1943, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.8676>.

GOBRON, N.; PINTY, B.; VERSTRAETE, M. M. Theoretical limits to the estimation of the leaf area index on the basis of visible and near-infrared remote sensing data. **IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing**, v. 35, n. 6, p. 1438-1445, 1997. Disponível em: doi: 10.1109/36.649798.

HAIYAN, J.; JIANNAN, J. Nondestructive detection device and method of water content of reflective near infrared plant leaf. Patent Number: CN 101968443 A, 2010.

HUNT, E. R.; ROCK, B. N. Detection of changes in leaf water content using near- and middle-infrared reflectances. **Remote Sensing of Environment**, v. 30, n. 1, p. 43-54, 1989. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0034-4257\(89\)90046-1](https://doi.org/10.1016/0034-4257(89)90046-1).

HUNT, E. R.; DAUGHTRY, C. S. T.; LI, L. Feasibility of estimating leaf water content using spectral indices from WorldView-3's near-infrared and shortwave infrared bands. **International Journal of Remote Sensing**, v. 37, n. 2, p. 388-402, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01431161.2015.1128575>.

JIANXIN, R. *et al.* Method for searching analog tobacco leaf based on tobacco leaf near infrared spectra. Patent Number: CN 101251471 B, 2008.

JIN, X. *et al.* Determination of leaf water content by Visible and near-Infrared spectrometry and multivariate calibration in *Miscanthus*. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1-8, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00721>.

JUNHUI, L. *et al.* Tobacco leaf raw material proportioning ratio calculation method and tobacco leaf raw material proportioning ratio calculation device based on near infrared spectrum. Patent Number: CN 104568823 A, 2015.

LEQUEUE, G.; DRAYE, X.; BAETEN, V. Determination by near infrared microscopy of the nitrogen and carbon content of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) leaf powder. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1-9, 2016. Disponível em: doi: 10.1038/srep33183.

LIU, Y.; FOULK, J. Potential of visible and near infrared spectroscopy in the determination of instrumental leaf grade in lint cottons. **Textile Research Journal**, v. 83, n. 9, p. 928-936, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0040517513478481>.

MROCZYK, W. B.; MICHALSKI, K. M. Quantitative and qualitative analyses in near infrared analysis of basic compounds in sugar beet leaf. **Computers and Chemistry**, v. 19, n. 3, p. 299-301, 1995. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0097-8485\(95\)00012-H](https://doi.org/10.1016/0097-8485(95)00012-H).

ONO, K.; HIRAIDE, M.; AMARI, M. Determination of lignin, holocellulose, and organic solvent extractives in fresh leaf, litterfall, and organic material on forest floor using near-infrared reflectance spectroscopy. **Journal of Forest Research**, v. 8, n. 3, p. 191-198, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10310-003-0026-2>.

OTTO, M. **Chemometrics: Statistics and computation application in analytical chemistry**. 3rd edition. Weinheim: Wiley-VHC Verlag GmbH & Co. KGaA, 400p, 2017.

PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy: fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 198-219, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-50532003000200006>.

PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy: A mature analytical technique with new perspective – A review. **Analytical Chemistry**, v. 1026, p. 8-36, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.04.004>.

PAZ, J. M. *et al.* Determination of persimmon leaf chloride contents using near-infrared spectroscopy (NIRS). **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 408, p. 3537-3545, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9430-2>.

PURCELL, D. E. *et al.* Near-infrared spectroscopy for the prediction of disease ratings for Fiji Leaf Gall in sugarcane clones. **Applied Spectroscopy**, v. 63, n. 4, p. 450-457, 2009. Disponível em: doi: 10.1366/000370209787944370.

ROTBART, N. *et al.* Estimating olive leaf nitrogen concentration using visible and near-infrared spectral reflectance. **Biosystems engineering**, v. 114, n. 4, p. 426-434, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2012.09.005>.

SADA, Y. *et al.* An easy assay method of tea leaf constituents by near infrared spectroscopy. **Tea Research Journal**, v. 77, p. 35-38, 1993. Disponível em: <https://doi.org/10.5979/cha.1993.35>.

SANTOS, A. O.; KAYE, O. Grapevine leaf water potential based upon near infrared spectroscopy. **Scientia Agricola**, v. 66, n. 3, p. 287-292, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-90162009000300001>.

SANTOS, G. A.; SANTOS, A. P.; KORNDÖRFER, G. H. Sistema por infravermelho próximo (NIR) para análises de nitrogênio foliar. **Bioscience Journal**, v. 28, suppl. 1, p. 83-90, 2012.

SARGENTELLI, V.; MARTINS, J. A. Near infrared hyperspectral imaging spectroscopy applied to investigation of plant leaves: A brief review. **International Journal of Science and Research**, v. 9, n. 4, p. 1055-1062, 2020. Disponível em: doi: 10.21275/SR20416004422.

SEELIG, H-D. *et al.* The assessment of leaf water content using leaf reflectance ratios in the visible, near-, and short-wave-infrared. **International Journal of Remote Sensing**, v. 29, n. 13, p. 3701-3713, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01431160701772500>.

SHAO, Y.; HE, Y. Visible/near infrared spectroscopy and chemometrics for the prediction of trace element (Fe and Zn) levels in rice leaf. **Sensors**, v. 13, n. 2, p. 1872-1883, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/s130201872>.

SHI, J. *et al.* Determination of total flavonoids content in fresh Ginkgo biloba leaf with different colors using near infrared spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 94, p. 271-276, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.03.078>.

SHIBAYAMA, M. *et al.* Estimating rice leaf greenness (SPAD) using fixed-point continuous observations of visible red and near infrared narrow-band digital

images. **Plant Production Science**, v. 15, n. 4, p. 293-309, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1626/pps.15.293>.

SHIBAYAMA, M. *et al.* Regression-Based models to predict rice leaf area index using biennial fixed point continuous observations of near infrared digital images. **Plant Production Science**, v. 14, n. 4, p. 365-376, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1626/pps.14.365>.

SLATON, M. R.; HUNT E. R.; SMITH, W. K. Estimating near-infrared leaf reflectance from leaf structural characteristics. **American Journal of Botany**, v. 88, n. 2, p. 278-284, 2001.

TIBOLA, C. S. *et al.* Espectroscopia no infravermelho próximo para avaliar indicadores de qualidade tecnológica e contaminantes em grãos. Brasília-DF: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, 200p, 2018.

TUCKER, C. J. Remote sensing of leaf water content in the near infrared. **Remote Sensing of Environment**, v. 10, n. 1, p. 23-32, 1980. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0034-4257\(80\)90096-6](https://doi.org/10.1016/0034-4257(80)90096-6).

VILMIUS, I. *et al.* Monitoring nitrogen leaf resorption kinetics by near-infrared spectroscopy during grain filling in durum wheat in different nitrogen availability conditions. **Crop Science**, v. 53, p. 284-296, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.2135/cropsci2013.02.0099>.

WANG, D. J. *et al.* Application of near-infrared spectroscopy to agriculture and food analysis. **Spectroscopy and Spectral Analysis**, v. 24, n. 4, p. 447-450, 2004.

WANG, J. *et al.* Non-destructive evaluation of the leaf nitrogen concentration by in-field visible/near-infrared spectroscopy in pear orchards. **Sensors**, v. 17, n. 3, p. 538, 2017. Disponível em: doi: 10.3390/s17030538.

WU, D. *et al.* Application of near infrared spectroscopy for the rapid determination of antioxidant activity of bamboo leaf extract. **Food Chemistry**, v. 135, n. 4, p. 2147-2156, 2012. Disponível em: doi: 10.1016/j.foodchem.2012.07.011.

XU, H. R. *et al.* Near-infrared spectroscopy in detecting leaf miner damage on tomato leaf. **Biosystems Engineering**, v. 96, n. 4, p. 447-454, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2007.01.008>.

YONG, H.; DI, W.; LEI, F. Method and system for diagnosing plant-leaf or crown botrytis of visible and near-infrared spectral. Patent Number: CN 101074926 A, 2007.

ZHAO, L. J. *et al.* Determination of total flavonoids contents and antioxidant activity of *Ginkgo biloba* leaf by near-infrared reflectance method. **International Journal of Analytical Chemistry**, v. 2018, p. 8195784, 2018. Disponível em: doi: 10.1155/2018/8195784.

Os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.