

QUANTIFICAÇÃO DA ÁREA E DO TEOR DE CLOROFILAS EM FOLHAS DE PLANTAS JOVENS DE VIDEIRA 'CABERNET SAUVIGNON' MEDIANTE MÉTODOS NÃO DESTRUTIVOS¹

CASSANDRO VIDAL TALAMINI DO AMARANTE², ODIMAR ZANUZO ZANARDI³,
AQUIDAUANA MIQUELOTO³, CRISTIANO ANDRÉ STEFFENS⁴,
JONI ERHART⁵, JAIME ANTONIO DE ALMEIDA⁶

RESUMO - Este trabalho foi conduzido visando a desenvolver métodos não destrutivos para estimar a área foliar e o conteúdo de clorofilas em folhas de plantas jovens de videira 'Cabernet Sauvignon'. Para a estimativa da área foliar, foram tomadas medidas de comprimento da nervura principal e das duas maiores nervuras secundárias em folhas representando uma grande amplitude de áreas foliares, seguindo-se da leitura em um integrador de área foliar. Para a quantificação de clorofilas, folhas com tonalidades variando de verde-amareladas (folha clorótica) a verde-escuras foram avaliadas individualmente com um medidor de clorofila (Minolta SPAD-502) e um colorímetro (Minolta CR-400, no espaço de cores L , C e h°), nas faces abaxial (inferior) e adaxial (superior), seguido de quantificações destrutivas de clorofilas a , b e $totais$. A quantificação do comprimento da nervura principal proporcionou boa estimativa da área foliar, sendo que a soma do comprimento das duas nervuras secundárias, bem como do somatório destes comprimentos com o comprimento da nervura principal, resultou em aumento muito pequeno na capacidade de estimativa da área foliar. Os valores das leituras do medidor de clorofila e da relação $h^\circ/(LxC)$ do colorímetro, avaliados em ambas as faces das folhas, aumentaram com o incremento nos teores de clorofilas. Os modelos ajustados entre os teores de clorofilas e as leituras do medidor de clorofila e da relação $h^\circ/(LxC)$ do colorímetro apresentaram valores de R^2 similares. Todavia, a medição da relação $h^\circ/(LxC)$ do colorímetro, feita na face adaxial da folha, mostrou melhor estimativa do teor de clorofila, expresso em unidade de área ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ de folha).

Termos para indexação: *Vitis vinifera* L., área foliar, cor da folha, absorvância, refletância.

NON-DESTRUCTIVE QUANTIFICATION OF AREA AND CHLOROPHYLL CONTENT IN THE LEAVES OF YOUNG 'CABERNET SAUVIGNON' GRAPEVINES

ABSTRACT - This work was carried out to develop non destructive methods to estimate the area and chlorophylls content in the leaves of young grapevines 'Cabernet Sauvignon'. For leaf area estimation, the lengths of main and two secondary leaf veins were measured, in leaves ranging from small to large, followed by leaf area measurement with an electronic leaf area integrator. For the quantification of chlorophylls, leaves with tonalities varying from yellow green (chlorotic) to dark green were evaluated individually with a chlorophyll meter (Minolta SPAD-502) and with a colorimeter (Minolta CR-400, at the L , C and h° color space), at the abaxial (inferior) and adaxial (superior) faces, and, thereafter, destructively assessed for *total* chlorophyll and chlorophylls a and b . The main vein length measure provided a good estimate of leaf area. The value representing the sum of the two secondary veins length, as well this value plus the main vein length provided a very small increase in the power to estimate leaf area. The chlorophyll meter reading and the $h^\circ/(LxC)$ ratio for the chroma meter, measured in both leaf faces, increased with the increment of chlorophylls content. The adjusted models between chlorophylls content versus chlorophyll meter readings and the $h^\circ/(LxC)$ ratio for the chroma meter had similar R^2 . However, the $h^\circ/(LxC)$ ratio for the chroma meter, measured on the adaxial (superior) leaf face, provided the best estimate of chlorophylls content, expressed in terms of $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ of leaf.

Index terms: *Vitis vinifera* L., leaf area, leaf color, absorbance, reflectance.

¹(Trabalho 193-08). Recebido: 23-07-2008. Aceito para publicação em: 03-04-2009.

²Ph.D., bolsista de produtividade em pesquisa do CNPq, Prof. do Depto. de Agronomia, Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), Univ. do Estado de Santa Catarina (UDESC). C.P. 281, CEP 88520-000, Lages-SC. e-mail: amarante@cav.udesc.br

³Acadêmicos do Curso de Agronomia, Bolsistas de Iniciação Científica do CNPq, CAV/UDESC, Lages-SC. E-mail: odimarzanardi@yahoo.com.br; quimique@bol.com.br

⁴Dr., Professor do Departamento de Agronomia, CAV/UDESC, Lages-SC. E-mail: steffens@cav.udesc.br

⁵Acadêmico do Curso de Mestrado em Manejo do Solo, CAV/UDESC, Lages-SC. E-mail: joerhart@yahoo.com.br

⁶Dr., Professor do Departamento de Solos e Recursos Naturais, CAV/UDESC, Lages-SC. E-mail: a2jaa@cav.udesc.br

INTRODUÇÃO

As quantificações de área e conteúdo de clorofilas em folhas de videira são utilizadas em estudos fisiológicos e agrônômicos para avaliar o crescimento e o desenvolvimento das plantas. Estas variáveis são importantes no estudo do comportamento vegetativo de espécies frutíferas e na resposta das plantas às técnicas de manejo que visam a aumentar o potencial fotossintético e de rendimento, principalmente relacionadas aos sistemas de condução (Smart, 1985; Murisier, 1996), adaptabilidade às condições do ambiente (Engel & Poggiani, 1991; Lopes, 1994) e estimativas do vigor (Champagnol, 1984).

Vários métodos têm sido utilizados para a estimativa da área foliar em videira, como é o caso de integradores de área, os quais apresentam alto custo, e da planimetria, a qual é dificultada pela irregularidade do formato da folha de videira. Todavia, estes métodos são destrutivos, pois requerem a remoção da folha da planta. A estimativa da área foliar por meio de medições simples e não destrutivas torna-se relevante, especialmente quando o objetivo é acompanhar o processo de desenvolvimento mediante repetidas avaliações na mesma folha (Ramkhelawan & Brathwaite, 1990).

A quantificação do conteúdo de clorofilas em folhas pode ser realizada via maceração com acetona, ou outro solvente orgânico, e posterior leitura em espectrofotômetro. Porém, este método também resulta na coleta destrutiva do material vegetal e é relativamente demorado. Com o advento dos medidores portáteis, que utilizam princípios ópticos não destrutivos, baseados na absorbância e/ou refletância da luz pelas folhas, a determinação de clorofilas tornou-se fácil e rápida, podendo ser realizada a campo (Richardson et al., 2002).

O equipamento Minolta SPAD-502 tem sido utilizado na quantificação de clorofilas, caracterizando-se pela rapidez, simplicidade e, principalmente, por possibilitar uma avaliação não destrutiva do tecido foliar. Este equipamento tem sido utilizado com sucesso para diagnosticar o estado nutricional de diversas espécies frutíferas, como macieira (Nielsen et al., 1995; Porro et al., 2001a), videira (Porro et al., 2001a e 2001b; Rupp et al., 1999; Rupp & Trankle, 1995), pessegueiro (Thomidis & Tspouridis, 2005), pereira (Chang & Chang, 1998), mangueira (Chang & Chang, 1998), cítrus (Araújo et al., 2004; Jifon et al., 2005; Li et al., 1998), lichieira (Chang & Chang, 1998), meloeiro (Azia & Stewart, 2001), entre outras. Todavia, como o equipamento fornece uma leitura em unidades arbitrárias (leitura SPAD de teores de clorofila, na

faixa de 0 a 99,9), recomenda-se que o mesmo seja previamente calibrado com as extrações de clorofilas (Azia & Stewart, 2001; Uddling et al., 2007).

O colorímetro Minolta CR (séries 100; 200; 300 e 400) também pode ser utilizado para a avaliação não destrutiva da coloração de tecidos vegetais, como ocorre em frutos (Amarante et al., 2007). A fonte de luz do equipamento gera radiação difusa (com diferentes ângulos de incidência), e o sensor interno recebe a luz refletida verticalmente pela superfície do tecido no espaço de cores L , C e h° (McGuire, 1992). Os termos L , C e h° indicam brilho ('lightness'), cromaticidade e ângulo 'hue' (0°/vermelho, 90°/amarelo, 180°/verde e 270°/azul), respectivamente.

O colorímetro Minolta pode representar uma alternativa viável para a quantificação não destrutiva de clorofila em folhas de videira, mediante medição dos atributos de cor. No entanto, além de avaliar a possibilidade de utilização destes equipamentos para a determinação não destrutiva do conteúdo de clorofilas, devido às grandes diferenças quanto à anatomia e coloração da folha nas faces adaxial e abaxial, torna-se importante determinar qual face da folha deve ser utilizada para a estimativa do teor de clorofilas.

Este trabalho teve como objetivo estimar a área foliar, por meio da medição do comprimento das nervuras principal e secundárias, e avaliar a viabilidade de utilização do colorímetro e do medidor portátil de clorofila para a quantificação não destrutiva do conteúdo de clorofilas em folhas de plantas jovens de videiras 'Cabernet Sauvignon', bem como a qual superfície da folha mais adequada para a realização das leituras com estes equipamentos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas folhas de videiras 'Cabernet Sauvignon', em fevereiro de 2008, com um ano de idade, sobre porta-enxerto 101-14, cultivadas na Estação Experimental da EPAGRI de São Joaquim-SC, em pleno desenvolvimento vegetativo.

Para a estimativa da área, foram coletadas 22 amostras de folhas, sendo cada amostra composta de 25 folhas. Em cada folha, foi realizada a medição do comprimento da nervura principal e das duas maiores nervuras secundárias, com o auxílio de um paquímetro, seguido da leitura com um integrador de área foliar LI-COR modelo LI-3050A.

Para a quantificação do conteúdo de clorofila, foram coletadas 21 folhas, cujas tonalidades variavam de verde-amarelada a verde-escura. Em seis

pontos de cada folha, nas faces abaxial e adaxial, foram feitas leituras utilizando o medidor portátil de clorofila SPAD-502 e o colorímetro CR-400, ambos da Konica Minolta®, Japão, procedendo-se o cálculo da média das leituras por folha. O colorímetro CR-400 foi utilizado com ponteira de vidro côncava CR-A33f (abertura de 8 mm) para a quantificação da cor no espaço de cores L , C e h^o (McGuire, 1992), sendo as folhas colocadas sobre papel branco para evitar qualquer interferência da cor de fundo nas leituras de refletância das folhas de videira.

Em cada folha, nos mesmos pontos onde foram feitas as leituras de cor com o SPAD-502 e o colorímetro CR-400, com o auxílio de um furador de rolha, foram removidos discos com diâmetro de 1,6 cm, nos quais foram determinadas a massa fresca, utilizando-se de uma balança analítica, com precisão de 0,0001g, e a área total, usando-se um integrador de área foliar LI-COR modelo LI-3050A. Os discos, em número de seis por folha, foram imediatamente macerados em acetona (80%), na presença de CaCO_3 , em ambiente com fonte de iluminação artificial verde de baixa intensidade. Os extratos obtidos foram filtrados por meio de papel de filtração rápida e transferidos para balões volumétricos de 25mL, completando-se o volume, ao final da filtração, com acetona (80%). A densidade óptica dos filtrados foi lida em espectrofotômetro (Carl Zeiss®, UV-Vis Spekol, Alemanha), nos comprimentos de ondas (λ) de 645 e 663nm, utilizando cubetas de quartzo. A partir dessas leituras, determinou-se a concentração ($\text{mg}\cdot\text{cm}^{-3}$) de clorofilas a , b e $totais$ nas soluções de leitura, por meio de fórmulas propostas por Arnon (1949). Estes valores foram transformados para teores de clorofilas a , b e $totais$ nas folhas, expressos em unidades de área ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) e de massa fresca ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), segundo sugestão de Richardson et al. (2002).

Os dados foram submetidos a análises de regressão linear e não linear, utilizando-se do programa SAS.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve relação linear altamente significativa ($P < 0,001$) entre o comprimento da nervura principal e a área foliar (Figura 1A). O mesmo ocorreu para a soma do comprimento das duas maiores nervuras secundárias (Figura 1B) e para o somatório destes comprimentos com o comprimento da nervura principal (Figura 1C), em relação à área foliar. Todavia, a utilização da soma do comprimento das duas maiores nervuras secundárias, bem como do somatório destes comprimentos com o comprimento da nervura principal, resultou em aumento muito

pequeno no R^2 dos modelos ajustados em relação à área foliar, comparativamente à utilização apenas do comprimento da nervura principal (Figura 1A, 1B e 1C). Com base nos resultados obtidos, apenas a quantificação do comprimento da nervura principal propicia uma boa estimativa da área foliar. Da mesma forma que neste trabalho, Borghezani et al. (2006) constataram correlações significativas entre o comprimento da nervura principal e a área foliar para a cultivar Merlot. No entanto, para as cultivares Cabernet Sauvignon e Sauvignon Blanc, estes autores verificaram que a melhor estimativa da área foliar foi obtida mediante o somatório do comprimento das duas maiores nervuras secundárias. Miele et al. (1989), trabalhando com videiras 'Cabernet Sauvignon', observaram correlações significativas entre os valores de comprimento das duas maiores nervuras secundárias, comprimento e largura do limbo foliar, soma do comprimento e largura e produto do comprimento e largura da lâmina foliar com a área foliar. Todavia, o maior coeficiente de determinação foi obtido com o somatório dos comprimentos das duas maiores nervuras secundárias ($R^2 = 0,99$).

Em relação à estimativa de clorofilas, os valores de leitura do SPAD-502 apresentaram aumentos lineares em folhas de videiras 'Cabernet Sauvignon', com o incremento nos teores de clorofilas a , b e $totais$ em ambas as faces da folha (Figuras 2 e 3). Nas medições com o colorímetro, houve aumento do h^o com o incremento nos conteúdos de clorofilas a , b e $totais$, indicando mudança de coloração de verde-amarelada para verde intenso (dados não apresentados). Os valores de L e C reduziram com o aumento nos teores de clorofilas a , b e $totais$ nas folhas, indicando redução no brilho e na cromaticidade (dados não apresentados). Porém, a utilização da relação $h^o/(L \times C)$ resultou em bons ajustes de modelos relativos aos teores de clorofilas a , b e $totais$ (Figuras 2 e 3), tanto na face superior quanto na face inferior das folhas.

Os modelos ajustados entre os teores de clorofilas a , b e $totais$, expressos em unidades de área e de massa fresca, e os valores de leitura do SPAD-502 e da relação $h^o/(L \times C)$ do colorímetro Minolta CR-400 apresentaram valores similares de R^2 , em ambas as faces da folha (Figuras 2 e 3). No entanto, os modelos ajustados para os teores de clorofilas expressos em unidades de área apresentaram valores de R^2 superiores em relação àqueles ajustados para teores de clorofila expressos em unidades de massa fresca, referente às clorofilas a , b e $totais$ (Figuras 2 e 3). Portanto, a variação que ocorre na área foliar específica ($\text{cm}^2\cdot\text{g}^{-1}$ de massa fresca), influenciada por

diferenças entre folhas na espessura do mesófilo e conteúdo de água, resulta em maior variabilidade nos teores de clorofila expressos em unidades de massa fresca ($\mu\text{g.g}^{-1}$). Sendo assim, a expressão dos teores de clorofila em unidades de área ($\mu\text{g.cm}^{-2}$) deve ser preferida, quando estimada com a utilização do SPAD-502 e do colorímetro CR-400.

Como a função das clorofilas é absorver quantidades de luz incidente, poder-se-ia supor que a medição da quantidade de radiação absorvida pela folha com o SPAD-502 resultaria em melhor estimativa de clorofilas do que a medição da luz refletida pela superfície da folha, obtida com o colorímetro Minolta CR-400. Todavia, pelos resultados obtidos, constata-se que o colorímetro Minolta CR-400 apresenta resultados similares ao SPAD-502, para a quantificação de clorofilas em folhas de videira.

As melhores estimativas dos teores de clorofila expressos em unidade de área ($\mu\text{g.cm}^{-2}$) foram obtidas por meio de medição feita na face adaxial, ou seja, superior, das folhas, não só com o colorímetro CR-400, mas também com o SPAD-502 (Figuras 2 e 3). Portanto, a superfície mais uniforme na face adaxial permite melhor estimativa do teor de clorofilas, tanto mediante o método baseado na refletância (Minolta CR-400) como na absorbância (SPAD-502) da luz pela folha.

O SPAD-502, mesmo com sistema de compensação para alterações na espessura e conteúdo de água da folha (luz absorvida no λ de 940 nm), apresenta grandes variações de leitura entre espécies (Chang & Chang 1998; Richardson et al., 2002) e entre genótipos (Jifon et al., 2005; Neilsen et al., 1995; Rupp et al., 1999; Rupp & Trankle, 1995) de plantas frutíferas, cultivados em uma mesma condição de ambiente, devido a diferenças na estrutura e anatomia foliar. Folhas de um mesmo genótipo de videira podem apresentar grandes variações no índice SPAD, em função do estágio fenológico, posição/idade da folha na planta e ano de avaliação (Neilsen et al., 1995; Porro et al., 2001b; Rupp & Trankle, 1995). Em *Citrus* sp., folhas de plantas crescidas a campo apresentaram maior espessura e, portanto, maiores valores de leitura SPAD comparativamente às plantas crescidas em estufa, para um mesmo teor foliar de clorofilas *totais* (Jifon et al., 2005). Mesmo folhas sombreadas de uma planta, apesar da menor espessura do mesófilo em relação a folhas a pleno sol, apresentam maiores valores de leituras SPAD-502, devido ao incremento no conteúdo de clorofilas *a/b* (Hoel & Solhaug, 1998; Martínez & Guiamet, 2004). Limitações associadas a diferenças quanto à espessura/

anatomia foliar, influenciadas por fatores da planta e ambientais, requerem a calibração do SPAD-502 com as extrações de clorofilas nas condições particulares de investigação. Todavia, deve-se ressaltar que, para a quantificação de clorofilas em folhas com o auxílio do colorímetro, à semelhança do que ocorre com o SPAD-502, devem ser tomados cuidados quanto idade/posição da folha, estágio fenológico e condições de cultivo de videiras, procedendo-se à calibração da relação $h^{\circ}/(L \times C)$ do equipamento com a extração de clorofilas.

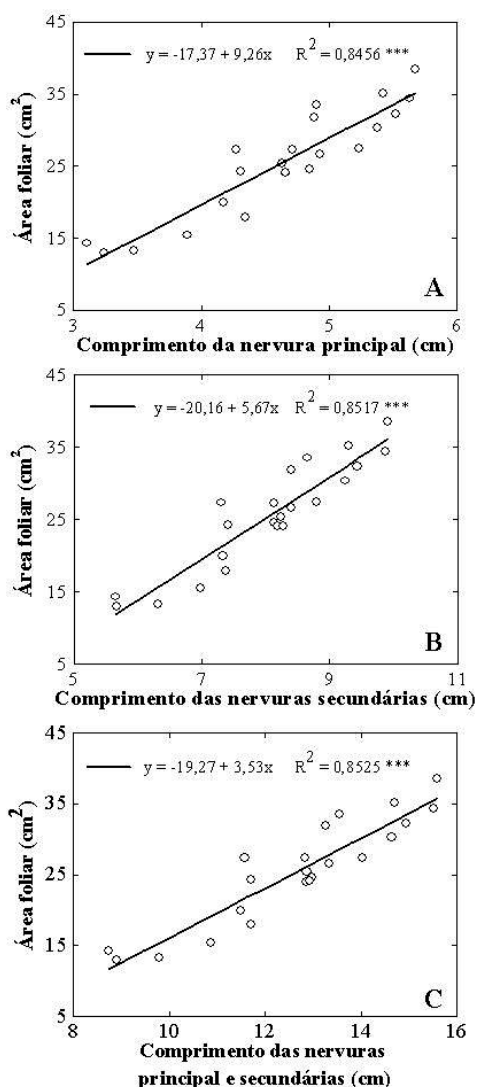


FIGURA 1- Estimativa da área em folhas de videira 'Cabernet Sauvignon', por meio da medição do comprimento da nervura principal (A), da soma do comprimento das duas maiores nervuras secundárias (B) e da soma do comprimento da nervura principal e das duas maiores nervuras secundárias (C). São Joaquim-SC, 2008.

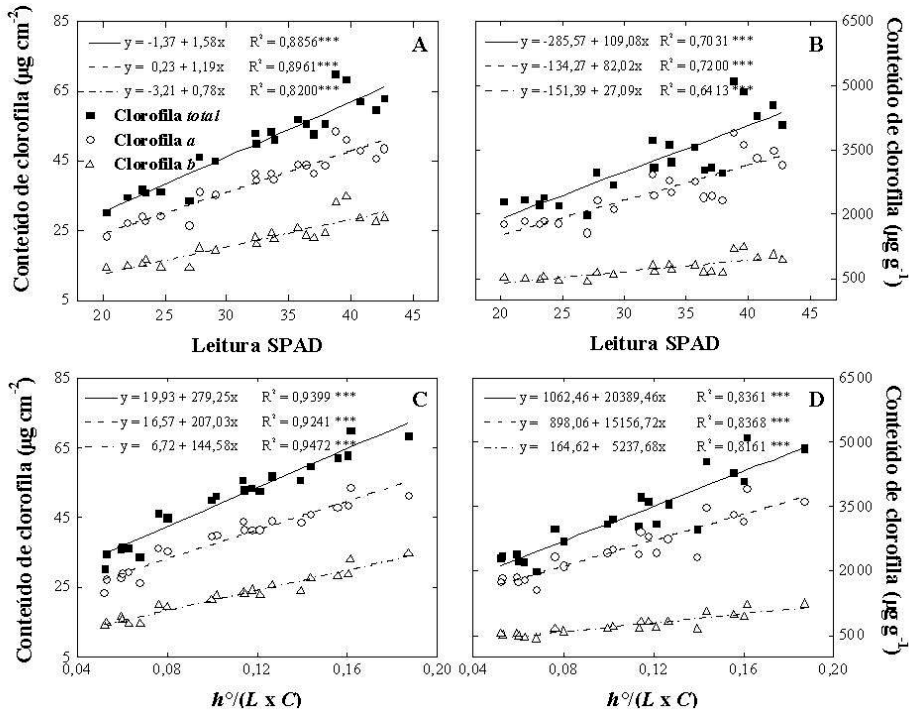


FIGURA 2 - Relação entre valores de leitura do SPAD-502 (A e B) e o atributo de cor $h^o/(L \times C)$ do colorímetro CR-400 (C e D) versus teores de clorofilas *a*, *b* e *totais*, em unidades de área ($\mu\text{g cm}^{-2}$; A e C) e de massa fresca ($\mu\text{g g}^{-1}$; B e D), na face adaxial (superior) de folhas de videiras 'Cabernet Sauvignon'. São Joaquim-SC, 2008.

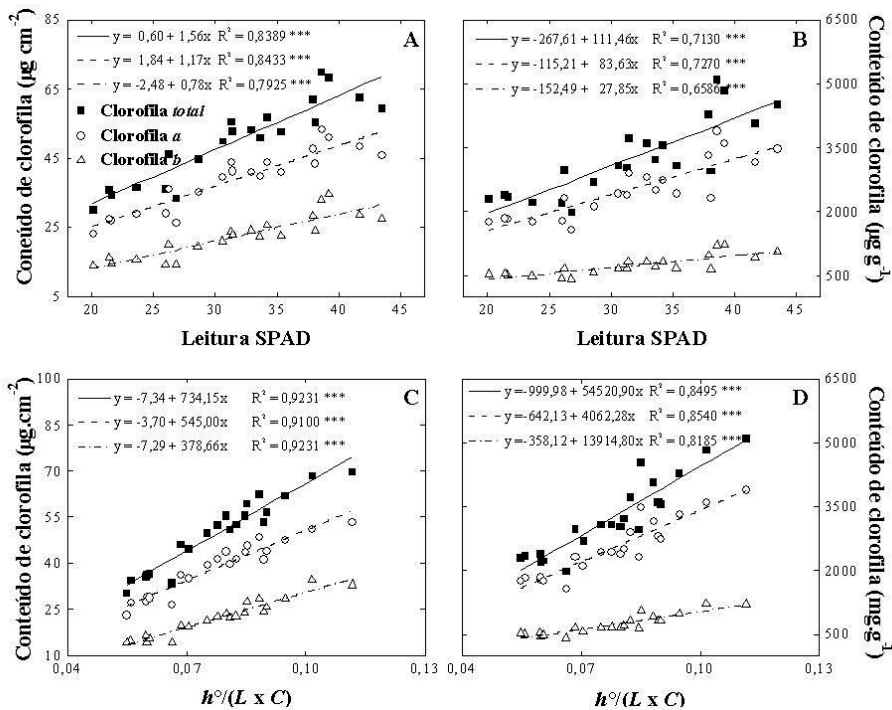


FIGURA 3 - Relação entre valores de leitura do SPAD-502 (A e B) e o atributo de cor $h^o/(L \times C)$ do colorímetro CR-400 (C e D) versus teores de clorofilas *a*, *b* e *totais*, em unidades de área ($\mu\text{g cm}^{-2}$; A e C) e de massa fresca ($\mu\text{g g}^{-1}$; B e D), na face abaxial (inferior) de folhas de videiras 'Cabernet Sauvignon'. São Joaquim-SC, 2008.

CONCLUSÃO

A estimativa não destrutiva da área foliar de plantas jovens de videiras 'Cabernet Sauvignon' pode ser realizada a campo mediante a medição do comprimento da nervura principal. O colorímetro Minolta CR-400, por meio do cálculo da relação $h^0/(L \times C)$, e o SPAD-502 foram viáveis para a estimativa não destrutiva dos teores de clorofilas *a*, *b* e *totais* em folhas de videiras 'Cabernet Sauvignon'. Todavia, a medição com o colorímetro proporcionou melhor estimativa. Independentemente do equipamento utilizado, as leituras devem ser realizadas na face adaxial, sendo mais indicado para a estimativa de clorofilas em $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$ de folha.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro a este projeto.

REFERÊNCIAS

AMARANTE, C.V.T. do; STEFFENS, C.A.; MOTA, C.S.; SANTOS, H.P. dos. Radiação, fotossíntese, rendimento e qualidade de frutos em macieiras 'Royal Gala' cobertas com telas antigranizo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.7, p.925-931, 2007.

ARAÚJO, R.A. DE; SIQUEIRA, D.L. DE; MARTINEZ, C.A.; FERNANDES, A.R. Características biométricas, índice SPAD-502 e emissão da fluorescência em porta-enxertos de citros. **Revista Ceres**, Viçosa, v.51, n.294, p.189-199, 2004.

ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidases in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Maryland, v.24, p.1-15, 1949.

AZIA, F.; STEWART, K.A. Relationship between extractable chlorophyll and SPAD values in muskmelon leaves. **Journal of Plant Nutrition**, Abingdon, v.24, n.6, p.961-966, 2001.

BORGHEZAN, M.; PIT, F. A.; GAVIOLI, O.; SILVA, A.L. Equações para estimação da área foliar da videira em São Joaquim-SC. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 19., 2006,

Cabo Frio. **Palestras e resumos...** Cabo Frio: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2006. p.359.

CHANG, C.S.; CHANG, L.R. Two rapid determination methods for total chlorophyll content in fruit tree leaves. **Bulletin of Taichung District Agricultural Improvement Station**, Changhua, v.59, p.37-45, 1998.

CHAMPAGNOL, F. **Éléments de physiologie de la vigne et de viticulture général**. Montpellier: Dehan, 1984. 351p.

ENGEL, V.L.; POGGIANI, F. Estudo da concentração de clorofila nas folhas e seu espectro de absorção de luz em função do sombreamento em mudas de quatro espécies florestais nativas. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 3, n. 1, p. 39-45, 1991.

HOEL, B.O.; SOLHAUG, K.A. Effect of irradiance on chlorophyll estimation with the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. **Annals of Botany**, London, v.82, n.3, p.389-392, 1998.

JIFON, J.L.; SYVERTSEN, J.P.; WHALEY, E. Growth environment and leaf anatomy affect non-destructive estimates of chlorophyll and nitrogen in *Citrus* sp. leaves. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.130, n.2, p.152-158, 2005.

LI, Y.C.; ALVA, A.K.; CALVERT, D.V.; ZHANG, M. A rapid nondestructive technique to predict leaf nitrogen status of grapefruit tree with various nitrogen fertilization practices. **HortTechnology**, Alexandria, v.8, n.1, p.81-86, 1998.

LOPES, C. M. **Influência do sistema de condução no microclima do coberto, vigor e produtividade da videira (*Vitis vinifera* L.)**. 1994. 205 f. Tese (Doutorado) - Instituto Superior de Agronomia, UTL, Lisboa, 1994. 205p.

MARTÍNEZ, D.E.; GUIAMET, J.J. Distortion of the SPAD 502 chlorophyll meter readings by changes in irradiance and leaf water status. **Agronomie**, Les Ulis, v.24, n.1, p.41-46, 2004.

McGUIRE, R.G. Reporting of objective color measurements. **HortScience**, Alexandria, v.27, n.12, p.1254-1255, 1992.

- MIELE, A.; RIZZON, L.A.; SILVA, J.G.C. Determinação da área foliar da videira cv. Cabernet Sauvignon utilizando medidas lineares do limbo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 10., 1989, Fortaleza, **Anais...** Fortaleza: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1989. p.467-474.
- MURISIER, F. M. **Optimisation du rapport feuille-fruit de la vigne pour favoriser la qualité du raisin et l'accumulation des glucides de réserve.** 1996. 132 f. Thèse (doctorat) - École Pol. Fédérale de Zurich, Zurich, 1996.
- NEILSEN, D.; HOGUE, E.J.; NEILSEN, G.H.; PARCHOMCHUK, P. Using SPAD-502 values to assess the nitrogen status of apple trees. **HortScience**, Alexandria, v.30, n.3 p.508-512, 1995.
- PORRO, D.; DORIGATTI, C.; STEFANINI, M.; CESCHINI, A. Use of SPAD meter in diagnosis of nutritional status in apple and grapevine. **Acta Horticulturae**, Leven, n.564, p.243-252, 2001a.
- PORRO, D.; BERTAMINI, M.; DORIGATTI, C.; STEFANINI, M.; CESCHINI, A. Lo SPAD nella diagnosi dello stato nutrizionale della vite. **Informatore Agrario**, Verona, v.57, n.26, p.49-55, 2001b.
- RAMKHELAWAN, E.; BRATHWAITE, R.A.I. Leaf area estimation by non-destructive methods in sour orange (*Citrus aurantium* L.). **Tropical Agriculture**, Trinidad, v.67, n.3, p.203-206, 1990.
- RICHARDSON, A.D.; DUGAN, S.P.; BERLYN, G.P. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. **New Phytologist**, Lancaster, v.153, n.1, p.185-194, 2002.
- RUPP, D.; TRANKLE, L. A non-destructive measurement method for chlorophyll in grapevines. **Mitteilungen Klosterneuburg, Rebe und Wein, Obstbau und Fruechteverwertung**, v.45, n.5/6, p.139-142, 1995.
- RUPP, D.; TRANKLE, L.; FOX, R. Non-destructive measurement of chlorophyll in grapes - evaluation of varietal influences and effects of sampling methods. **Mitteilungen Klosterneuburg, Rebe und Wein, Obstbau und Fruechteverwertung**, v.49, n.3, p.86-92, 1999.
- SMART, R. E. Principales of grapewine canopy microclimate manipulation with implications for yield and quality: a review. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.36, n.3, p. 230-239, 1985.
- THOMIDIS, T.; TSIPOURIDIS, C. Influence of rootstocks, pH, iron supply (in nutrient solutions) and *Agrobacterium radiobacter* on chlorophyll and iron concentration in leaves of a peach variety. **Journal of Plant Nutrition**, Abingdon, v.28, n.10, p.1833-1842, 2005.
- UDDLING, J.; GELANG-ALFREDSSON, J.; PIKKI, K.; PLEIJEL, H. Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. **Journal Photosynthesis Research**, Dordrecht, v.91, n.1, p.37-46, 2007.