

Avaliação do estado nutricional azotado de pés-mãe de *Eucalyptus globulus* Labill. ssp. *globulus* com recurso a um medidor portátil de clorofila

Evaluation of nitrogen status of *Eucalyptus globulus* Labill. ssp. *globulus* mother plants with a portable chlorophyll meter

H. M. Ribeiro¹, E. Vasconcelos¹, A. Ramos² & J. Coutinho³

RESUMO

Com o objectivo de avaliar a possibilidade de utilizar as leituras do medidor portátil de clorofila SPAD 502 (leitura SPAD), como um indicador do estado nutricional azotado de pés-mãe de *Eucalyptus globulus* Labill. ssp. *globulus* (*E. globulus*) foi instalado, em 1999, um ensaio de fertilização azotada de pés-mãe desta espécie. Utilizaram-se 2 clones (HD161 e CN5) aos quais se aplicaram 5 soluções nutritivas com diferentes concentrações de azoto (50, 100, 200, 400 e 800 mg N L⁻¹). No primeiro ano os pés-mãe foram sujeitos a uma poda de formação. Nos dois anos seguintes (2000 e 2001) avaliou-se: o número de estacas produzidas por pé-mãe, o enraizamento das estacas obtidas, o teor de azoto na folha mais jovem completamente expandida e as leituras SPAD na mesma folha.

Os resultados obtidos indicam a ocorrência de uma relação assintótica entre a disponibilidade de azoto e a leitura SPAD e a existência de uma relação linear, positiva e

altamente significativa, entre o teor foliar de azoto (x) e as leituras SPAD (y): $y=23,27+0,75x$; $r=0,94$; $n=150$. Na avaliação da possibilidade de utilização da leitura SPAD como indicador do estado nutricional azotado dos pés-mãe, observou-se um bom ajustamento do modelo quadrático à relação entre as leituras SPAD e as “produções relativas” (estacas e enraizamento), com coeficientes de determinação elevados e idênticos aos obtidos com o teor foliar de azoto. Desta forma, nestas condições experimentais, a “qualidade” da avaliação do estado nutricional azotado, utilizando as leituras SPAD, foi idêntica à conseguida com o teor foliar de azoto, o que sugere a sua utilização, com bons resultados, como indicador do estado nutricional azotado de pés-mãe de *E. globulus*.

ABSTRACT

With the aim of evaluating the use of the portable chlorophyll meter “Minolta

¹ Inst. Sup. de Agronomia, DQAA, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa. Tel: 213 653 440 E-mail: henriqueribe@isa.utl.pt; ²Instituto de Investigação da Floresta e Papel - RAIZ, Qta de S. Francisco, apartado 15, 3801-501 Eixo. E-mail: aramos@raiz-iifp.pt; ³D. Edafologia, UTAD, apartado 1013, 5000-911 Vila Real. E-mail: j_coutin@utad.pt

SPAD 502” readings (SPAD readings) as an indicator of the nitrogen status of *Eucalyptus globulus* Labill. ssp. *globulus* (*E. globulus*) mother plants, a nitrogen fertilization experiment with this species was performed. Mother plants of two clones (HD 161 and CN5) of *E. globulus* were grown in an open-air nursery, in 12 L pots. Plants received 5 different nutrient solutions containing 50, 100, 200, 400 e 800 mg N L⁻¹. During 1999, mother plants were subjected to a formative pruning. During 2000 and 2001 the following parameters were evaluated: number of cuttings produced, rooting ability of the cuttings, nitrogen content of the youngest fully expanded leaf, and leaf SPAD readings.

Results obtained showed a significant asymptotic relationship between nitrogen availability and SPAD readings and a linear, positive and significant relationship between SPAD readings (y) and nitrogen leaf contents (x , g kg⁻¹): $y=23,27+0,75x$; $r=0,94$; $n=150$. Results also showed a good fitting of quadratic model to the relationship between SPAD readings and the mother plants production (cuttings production and rooting ability of the cuttings). The determination coefficients (78%) were similar to those obtained when the model was adjusted to the relationship between leaf nitrogen and mother plants production (80%). Results indicate that, in this experiment, SPAD readings can be used to evaluate nitrogen status of *E. globulus* mother plants with a diagnostic “quality” similar to leaf nitrogen contents.

INTRODUÇÃO

A técnica de propagação da espécie *Eucalyptus globulus* Labill. ssp. *globulus*

(*E. globulus*) tem, nos últimos anos, sofrido importantes alterações. A tradicional propagação por via seminal tem vindo a ser substituída, pelo menos parcialmente, pela propagação vegetativa por estacas caulinares (Ribeiro, 2004). Neste sistema de propagação, os pés-mãe (plantas que fornecem os rebentos utilizados para fazer as estacas) passam a desempenhar um papel fundamental, verificando-se que a sua condução (intensidade e periodicidade de podas, estiolamentos dos rebentos...) e as condições ambientais a que estão sujeitos (temperatura, rega, fertilização...) são factores determinantes para o sucesso do subsequente enraizamento das estacas (Hartman *et al.*, 1997). Contudo, na bibliografia consultada, constata-se uma falha de informação relativa ao efeito da fertilização azotada na produção dos pés-mãe de *E. globulus* e no enraizamento das estacas obtidas. Desta forma, sendo o azoto o nutriente vegetal que, em diferentes espécies vegetais, mais influencia o enraizamento das estacas (Blazich, 1988), parece de toda a pertinência estudar o seu efeito em pés-mãe de *E. globulus*.

Paralelamente, a avaliação do estado nutricional azotado das plantas através de métodos expeditos, que permitam otimizar as fertilizações azotadas de cobertura ou a concentração de azoto nas soluções nutritivas, poderá contribuir para uma melhoria da eficiência da utilização dos adubos azotados com as consequentes vantagens ambientais e económicas. Dentro dos métodos expeditos, os medidores portáteis de clorofila têm tido uma crescente utilização. Estes aparelhos medem, sobre a folha, a transmissão de um ou dois comprimentos de onda de radiação relacionada com a actividade da clorofila. As medições são feitas por um processo expedito e não destrutivo, directamente sobre as folhas das plantas, em pleno campo, e os aparelhos

fornece uma leitura adimensional a qual, apesar de não corresponder a uma efectiva concentração ou teor de clorofila, por estar bem correlacionada com o seu teor foliar, fornece uma indicação da quantidade relativa desta substância presente na folha (Yadava, 1986; Madeira *et al.*, 2000). Apesar de existirem algumas referências quanto à possibilidade da auto-construção deste tipo de medidores portáteis (Hardacre & Nicholson, 1984), há disponível no mercado um medidor portátil de clorofila designado por SPAD 502, produzido pela Minolta Camera Co. Ltd. (Osaka, Japão), cuja utilização se tem generalizado. A leitura adimensional deste aparelho é, usualmente, designada por leitura SPAD.

Vários autores têm observado a existência de relações lineares significativas entre a leitura SPAD das folhas e o teor foliar de azoto (um dos indicadores mais utilizado) em diferentes espécies perenes como: *Citrus* L. (Shaahan *et al.*, 1999), *Fraxinus pennsylvanica* Marsk. (Chang & Robinson, 2003), *Juglans major* MJ209 L. × *Juglans regia* L. (Simorte *et al.*, 2001), *Liquidambar styraciflua* L. (Chang & Robinson, 2003), *Malus domestica* Borkh. (Campbell *et al.*, 1990), *Mangifera indica* L. (Shaahan *et al.*, 1999), *Platanus occidentalis* L. (Chang & Robinson, 2003), *Populus heterophylla* L. (Chang & Robinson, 2003), *Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera* (Shaahan *et al.*, 1999) e híbridos de *Populus* L. (Young *et al.*, 2003). Por sua vez, outros autores têm verificado a existência de correlações significativas entre a leitura SPAD e a produção das culturas, com um grau de confiança semelhante ao observado para os indicadores “tradicionalis”, sugerindo a sua utilização como indicador do estado nutricional azotado de diferentes culturas (Piekielek & Fox, 1992; Reeves *et al.*, 1993; Kantety *et al.*, 1996; Fox *et al.*, 2001; Swiader & Moore, 2002). Contudo, na bibliografia disponível, não se encontram

referências relativas à sua utilização como indicador do estado nutricional azotado de pés-mãe de *E. globulus*.

Desta forma, constituem objectivos deste trabalho: avaliar o efeito da fertilização azotada no valores das leituras efectuadas com um medidor portátil de clorofila (leitura SPAD) nas folhas de pés-mãe de *E. globulus*; avaliar a relação entre a leitura SPAD e o teor foliar de azoto (indicador mais utilizado em *E. globulus*) e avaliar a relação entre a leitura SPAD e a produção dos pés-mãe (produção de estacas e capacidade de enraizamento das estacas) para, comparativamente com o teor foliar de azoto, verificar a possibilidade da sua utilização como indicador do estado nutricional azotado.

MATERIAL E MÉTODOS

Em Março de 1999 foi instalado, no viveiro do Instituto de Investigação da Floresta e Papel localizado em Alcoentre, um ensaio plurianual (3 anos) de fertilização azotada de pés-mãe de *E. globulus* em vasos de 12 L de capacidade colocados ao ar livre.

Os vasos foram cheios com um substrato constituído por turfa, poliestireno expandido e terra. O substrato apresentou as seguintes características físicas: massa volúmica aparente seca a 100/105°C - 463,6 g L⁻¹, porosidade total - 80,5%, volume de água retido a pF1 - 58,7%, volume de água retido a pF1,7 - 35,4%, volume de água retido a pF2 - 28,6%. Relativamente às características químicas e físico-químicas avaliadas (Quadro 1), são de destacar os valores de pH e condutividade eléctrica, que se encontram dentro dos valores recomendados (Johnson, 1980), bem como a baixa disponibilidade de azoto mineral presente no substrato original.

QUADRO 1 – Valores médios das principais características químicas e físico-químicas do substrato utilizado no ensaio

Extracção	Parâmetro	Unidade:	Valor
Água* 1:6 V v ⁻¹	pH		6,1
	CE	µS cm ⁻¹	318
	Fósforo (P)	mg L ⁻¹	28
	Potássio (K)	mg L ⁻¹	80
	Cálcio (Ca)	mg L ⁻¹	266
	Magnésio (Mg)	mg L ⁻¹	65
	Sódio (Na)	mg L ⁻¹	22
KCl 1:5 V v ⁻¹	Cloretos (Cl)	mg L ⁻¹	66
	N-NO ₃ ⁻	mg L ⁻¹	13
	N-NH ₄ ⁺	mg L ⁻¹	2

* Johnson (1980)

No ensaio utilizaram-se 2 clones de *E. globulus* (HD161 e CN5) e 5 níveis de azoto (soluções nutritivas com 50, 100, 200, 400 e 800 mg N L⁻¹). A periodicidade de aplicação das soluções nutritivas foi estabelecida em função do crescimento das próprias plantas (Quadro 2). Para se evitar a acumulação de sais fez-se, periodicamente, uma rega (apenas água) com uma dotação superior às necessidades. Durante o primeiro ano os pés-mãe foram sujeitos a uma poda de formação. Nos dois anos seguintes (anos 2000 e 2001) procedeu-se às seguintes avaliações:

- número de estacas produzidas por pé-mãe durante a época normal de estacaria, tendo-se recolhido estacas em 19-06-2000, 24-07-2000, 11-09-2000, 4-06-2001, 27-07-2001 e 10-09-2001;
- percentagem de enraizamento das estacas obtidas, tendo-se efectuado ensaios de enraizamento em 19-06-2000, 24-07-2000 e 4-06-2001;
- leitura SPAD;
- teor foliar de azoto.

A produção e a percentagem de enraizamento das estacas foram, em cada data,

convertidas em valores relativos de produção (produções relativas), expressos em percentagem da produção obtida em cada modalidade, relativamente à modalidade mais produtiva.

Para a determinação do teor de azoto foliar, foram recolhidas folhas (*a folha mais jovem completamente expandida*) do mesmo tipo de ramos/rebentos susceptíveis de originarem estacas viáveis. A utilização deste tipo de folha é recomendada por Dell *et al.* (2001) para diferentes espécies de eucaliptos. Nas amostras de folhas, secas a 65°C e moídas, determinou-se o azoto pelo método Kjeldahl (Horneck & Miller, 1998).

QUADRO 2 – Periodicidade de aplicação da solução nutritiva e respectivo volume médio semanal (VMS)

Período	VMS (L)
Março 1999 a Novembro 1999	1 L
Dezembro 1999 a Fevereiro 2000	0,5 L
Março de 2000	1 L
Abril de 2000 a Outubro de 2000	2 L
Novembro de 2000	1 L
Dezembro 2000 a Fevereiro 2001	0,5 L
Março de 2001	1 L
Abril de 2001 a Outubro de 2001	2 L
Novembro de 2001	1 L
Dezembro de 2001 a Janeiro 2002	0,5 L

A leitura SPAD foi efectuada “*in loco*”, utilizando um medidor portátil de clorofila de marca Minolta (Osaka, Japão) – SPAD 502 - directamente sobre *a folha mais jovem completamente expandida*. A leitura do medidor portátil SPAD 502 (leitura SPAD) de cada unidade experimental corresponde à média das leituras de 30 folhas diferentes.

Os resultados obtidos foram sujeitos a uma análise de variância para avaliar o efeito dos factores em estudo sobre as variáveis avaliadas. A comparação de médias foi efectuada utilizando o teste da “diferença mínima significativa” (Montgomery, 1991). O ajustamento de modelos teóricos a curvas de pontos foi efectuada recorrendo aos pro-

gramas informáticos Systat® 5.0.2 (Systat Inc., Evanston, IL, EUA) e TableCurve™ (Jandel Scientific, San Rafael, CA, EUA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Relação entre a disponibilidade de azoto e a leitura SPAD

Durante os 3 anos de ensaio, os valores médios da leitura SPAD nas folhas variaram entre 28,1 e 52,4 (Figura 1). A gama de variação obtida apresenta uma amplitude bastante extensa, facto positivo quando se pretende utilizar um parâmetro

como indicador do estado nutricional, confirmando que o delineamento experimental utilizado foi adequado para os objectivos propostos.

A gama de valores obtida é da mesma ordem de grandeza da observada em ensaios com outras espécies arbóreas, nomeadamente: 20 e 40 em híbridos de nogueira – *Juglans major* MJ209 L × *Juglans regia* L. - (Simorte *et al.*, 2001); 35 e 53 em diferentes espécies do género *Acer* L. (Sibley *et al.*, 1996); 25 e 50 em *Liquidambar styraciflua* L., *Fraxinus pennsylvanica* L., *Platanus occidentalis* L. e *Populus heterophylla* L. (Chang & Robinson, 2003).

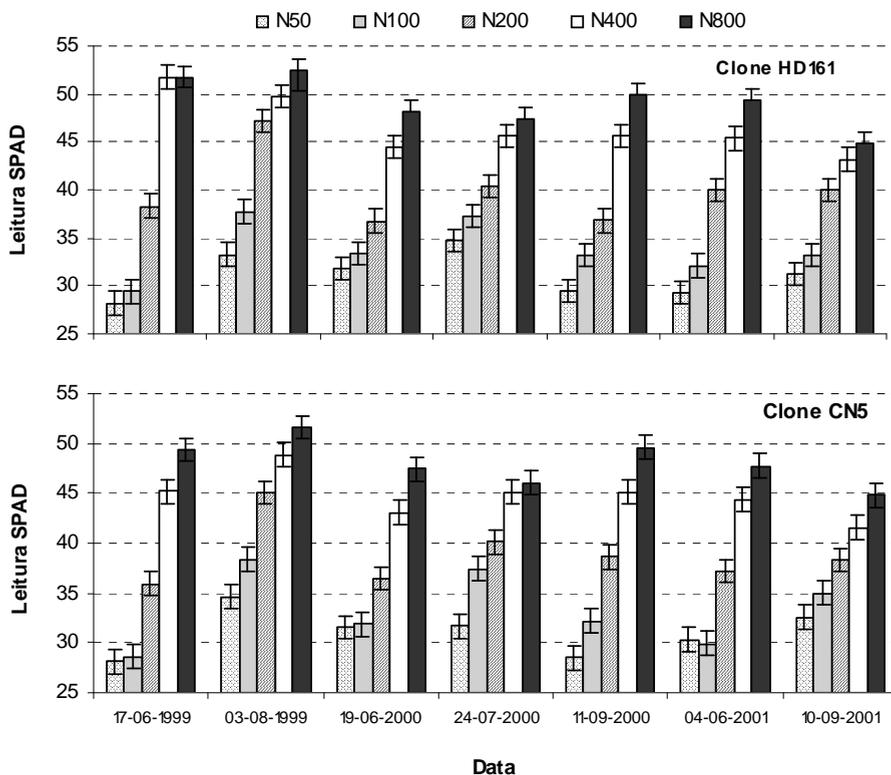


Figura 1 – Variação da leitura SPAD na *folha mais jovem completamente expandida* dos pés-mãe e respectiva diferença mínima significativa (2,20), na época de estacaria, durante os 3 anos do período experimental

O ajustamento, em cada data, do modelo de Mistscherlich modificado (exponencial assintótico), à relação entre a disponibilidade de azoto e a leitura SPAD, originou valores de coeficiente de determinação relativamente elevados (Quadro 3), indicando a existência de uma relação de natureza assintótica. Relações semelhantes, entre a disponibilidade de azoto para a planta e a leitura SPAD, têm sido observadas em folhas de diferentes espécies (Azia & Stewart, 2001; Sexton & Carroll, 2002). De facto, este comportamento é idêntico ao observado, normalmente, entre a concentração de nutrientes em tecidos de plantas (indicador do estado nutricional das plantas mais utilizado) e a disponibilidade de nutrientes no solo, o qual segue uma curva de natureza assintótica (Mengel & Kirkby, 2001).

QUADRO 3 - Parâmetros do modelo $y=a(1-be^{-cx})$ ajustado à relação entre a leitura SPAD (y) e a concentração de azoto da solução nutritiva (x).

Data	Parâmetros do modelo			R ²
	a	b	c	
19-06-2000	51,113	0,447	0,003	0,98
24-07-2000	47,140	0,375	0,005	0,97
11-09-2000	51,544	0,524	0,004	0,99
04-06-2001	49,914	0,513	0,004	0,97
10-09-2001	45,108	0,379	0,005	0,97

Em cada data n=10

Também no caso específico dos pés-mãe de outras espécies se verifica que um aumento da fertilização azotada provoca um aumento da concentração de azoto nas plantas, obedecendo a um padrão de variação semelhante ao referido anteriormente (Rein *et al.*, 1991; Henry *et al.*, 1992; Higashi *et al.*, 2002; Rowe *et al.*, 2002). Desta forma, os resultados indicam que, no caso de pés-mãe de *E. globulus*, a resposta da leitura SPAD à disponibilidade de azoto foi idênti-

ca à que é normalmente observada noutras espécies, com outros indicadores, e sugerem que possa ser utilizada como indicador do estado nutricional azotado. Contudo, esta utilização deverá estar dependente da existência de uma relação estreita entre a leitura SPAD e a produção das plantas.

Relação entre a leitura SPAD e o teor foliar de azoto

O modelo linear foi o que melhor se ajustou à relação entre o teor foliar de azoto e a leitura SPAD, observando-se a existência de uma relação linear e positiva entre os dois parâmetros (Figura 2).

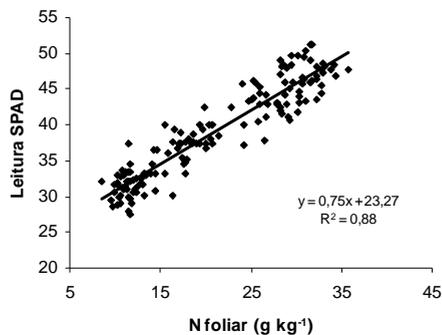


Figura 2 - Relação entre o teor foliar de azoto ($g\ kg^{-1}$) e a leitura SPAD (n=150)

A leitura SPAD é, essencialmente, uma medida da intensidade da cor verde das folhas e está, em muitas espécies, bem correlacionada com a concentração foliar de clorofila (Yadava, 1986; Daughtry *et al.*, 2000). Por outro lado, a capacidade fotossintética das folhas está relacionada com a quantidade de azoto presente, uma vez que as proteínas do ciclo de Calvin e os tilacóides contêm a maioria do azoto presente na folha (Simpson, 1992). Com efeito, dentro de cada espécie, existe uma “forte” relação linear entre o teor foliar de azoto, a activida-

de da enzima ribulose-1,5-difosfato-carboxilase e a clorofila, tal como foi observado por Evans (1989), o que justifica a relação linear observada. Efectivamente, relações lineares entre os dois indicadores têm sido observadas em diferentes espécies (ver revisão em Ribeiro, 2004), sendo de destacar os resultados obtidos com espécies florestais como: *Fraxinus pennsylvanica* Marsk. (Chang & Robinson, 2003), *Juglans major* MJ209 L. × *Juglans regia* L. (Simorte *et al.*, 2001), *Liquidambar styraciflua* L. (Chang & Robinson, 2003), *Platanus occidentalis* L. (Chang & Robinson, 2003), *Populus heterophylla* L. (Chang e Robinson, 2003), e híbridos de *Populus* L. (Young *et al.*, 2003).

Contudo, para níveis muito elevados de azoto, a relação poderá não ser linear, devido à acumulação foliar de azoto não associado às moléculas de clorofila (Duru, 2002).

Relação entre a leitura SPAD e a produção

Na Figura 3 apresentam-se os ajustamentos do modelo quadrático à relação entre as produções relativas (estacas e enraizamento) e os parâmetros leitura SPAD e azoto foliar. Verifica-se que os coeficientes de determinação obtidos para a leitura SPAD são elevados (78%), significativos e muito semelhantes aos obtidos para o teor foliar de azoto (80%). Esta semelhança entre os dois indicadores foi também observada por vários autores em diferentes espécies (Piekielek & Fox, 1992; Reeves *et al.*, 1993; Kantety *et al.*, 1996; Fox *et al.*, 2001; Swiader & Moore, 2002) e indica que as leituras SPAD poderão conduzir a diagnósticos com uma “qualidade” idêntica à conseguida com o teor foliar de azoto.

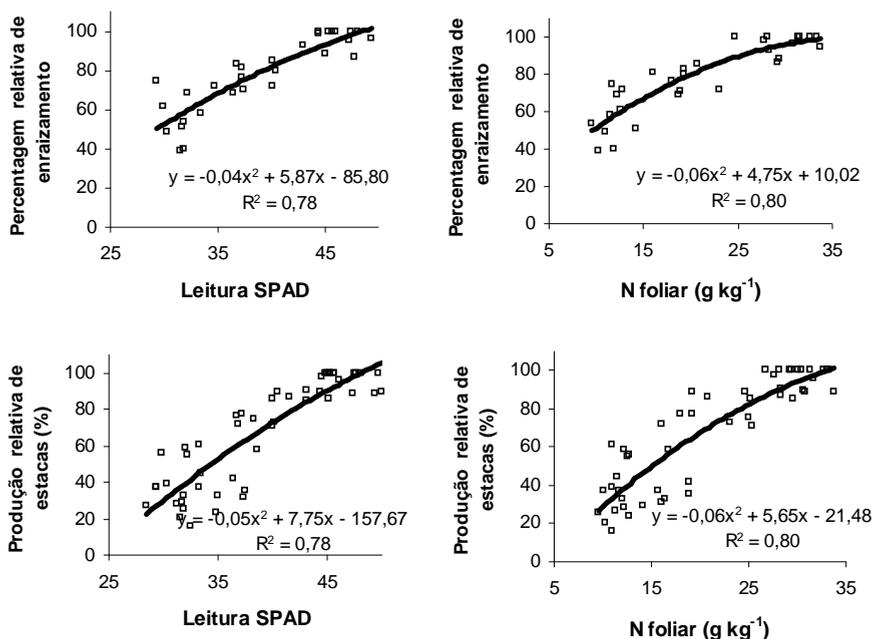


Figura 3 - Relação entre a leitura SPAD, o teor foliar de azoto ($g\ kg^{-1}$) e a produção relativa (estacas e enraizamento)

No entanto, a utilização da leitura SPAD no diagnóstico do estado nutricional azotado das plantas apresenta algumas limitações. De facto, trata-se de um indicador que não é específico para o azoto, uma vez que factores como, entre outros, deficiência ou toxicidade de outros nutrientes afectam a concentração da clorofila nas folhas e, consequentemente, a leitura SPAD (Campbell *et al.*, 1990; Monje & Bugbee, 1992; Reeves *et al.*, 1993; Azia & Stewart, 2001; Gascho & Lee, 2002). No entanto, se for assegurado, por outros meios de monitorização do solo e das plantas, que todos os restantes nutrientes estão disponíveis para as plantas nas quantidades adequadas, as alterações da cor das folhas estarão, fundamentalmente, dependentes das disponibilidades de azoto. Nesta situação, a leitura SPAD poderá ser utilizada na optimização das fertilizações azotadas de cobertura, contribuindo para uma melhoria da eficiência da utilização dos adubos azotados com as consequentes vantagens ambientais e económicas.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que, nas condições do ensaio, a relação entre a leitura SPAD e o teor foliar de azoto foi linear, positiva e altamente significativa. O teor foliar de azoto e a leitura SPAD originaram um bom ajustamento do modelo quadrático à relação com as produções relativas (estacas e enraizamento), com coeficientes de determinação elevados e idênticos em ambos os parâmetros. Esta semelhança no resultado dos ajustamentos indica que a leitura SPAD conduziu, nestas condições experimentais, a diagnósticos com uma “qualidade” idêntica à conseguida com o teor foliar de azoto, o que sugere a possibilidade da sua utilização como indicador do estado nutricional azotado dos pés-mãe de *E. globulus*.

BIBLIOGRAFIA

- Azia, F. & Stewart, K.A. 2001. Relationship between extractable chlorophyll and SPAD values in Muskmelon leaves. *Journal of Plant Nutrition*, **24**(6): 961-966.
- Blazich, F.A. 1988. Mineral nutrition and adventitious rooting. In T.D. Davis, B.E. Haissig & N. Sankhla (eds), *Adventitious Root Formation in Cuttings*, pp. 61-69. Dioscorides Press, Portland, Oregon, EUA.
- Campbell, R.J., Mobley, K.N., Marini, R.P. & Pfeiffer, D.G. 1990. Growing conditions alter the relationship between SPAD 501 values and apple leaf chlorophyll. *HortScience*, **25**(3): 330-331.
- Chang, S.X. & Robinson, D.J. 2003. Nondestructive and rapid estimation of hardwood foliar nitrogen status using the SPAD 502 chlorophyll meter. *Forest Ecology and Management*, **181**: 331-338.
- Daughtry, C.S.T., Walthall, C.L., Kim, M.S., Colstoun, E.B. & McMurtrey, J.E. 2000. Estimating corn leaf chlorophyll concentration from leaf and canopy reflectance. *Remote Sensing of Environment*, **74**: 229-239.
- Dell, B., Malajczuk, N., Xu, D. & Grove, T.S. 2001. *Nutrient Disorders in Plantation Eucalypts*. ACIAR Monograph series n.º 74, Australian Center for International Agricultural Research, Canberra, Australia.
- Duru, M. 2002. Evaluation of chlorophyll meter to assess nitrogen status of cocksfoot sward. *Journal of Plant Nutrition*, **25**(2): 275-286.
- Evans, J.R. 1989. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C3 plants. *Oecologia*, **78**: 9-19.
- Fox, R.H., Piekielek, W.P. & Macneal, K. 2001. Comparison of late-season diag-

- nostic tests for predicting nitrogen status of corn. *Agronomy Journal*, **93**: 590-597.
- Gascho, G.J. & Lee, R.D. 2002. Determining side-dress nitrogen requirements of corn following broiler litter in the southern coastal plain. *Journal of Plant Nutrition*, **25**(11): 2361-2371.
- Hardacre, A.K. & Nicholson, H.F. 1984. A portable photometer for the measurement of chlorophyll in intact leaves. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*, **12**: 357-362.
- Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies, F.T. & Geneve, R.L. 1997. *Plant Propagation: Principles and Practices*. Prentice-Hall Inc., New Jersey, EUA.
- Henry, P.H., Blazich, F.A. & Hinesley, L.E. 1992. Nitrogen nutrition of containerized eastern redcedar. II. Influence of stock plant fertility on adventitious rooting of stem cuttings. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **117**(4): 568-570.
- Higashi, E.N., Silveira, R.N & Gonçalves, A.N. 2002. *Nutrição e adubação em minijardim clonal hidropônico de Eucalyptus*. Circular Técnica IPEF nº 194. Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Brasil.
- Horneck, D.A. & Miller, R. O. 1998. Determination of total nitrogen in plant tissue. In Y. P. Kalra (eds) *Handbook of Reference Methods for Plant Analysis*, pp. 75 – 83. CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, EUA.
- Johnson, E. W. 1980. Comparison of methods of analysis for loamless composts. *Acta Horticulturae*, **99**: 197-204.
- Kantety, R.V., Santen, E., Woods, F.M. & Wood, C.W. 1996. Chlorophyll meter predicts nitrogen status of tall fescue. *Journal of Plant Nutrition*; **19** (6): 881-899.
- Madeira, A.C., Mendonça, A., Ferreira, M.E. & Taborda, M.L. 2000. Relationship between spectroradiometric and chlorophyll measurements in green beans. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, **31** (5&6): 631-643.
- Mengel, K. & Kirkby, E.A. 2001. *Principles of Plant Nutrition*. Kluwer Academic Press, Dordrecht, The Netherlands.
- Montgomery, D. C. 1991. *Design and Analysis of Experiments*. John Wiley and Sons, Inc., New York, EUA.
- Piekielek, W.P. & Fox, R.H. 1992. Use of a chlorophyll meter to predict sidedress nitrogen requirements of maize. *Agronomy Journal*, **84**: 59-65.
- Reeves, D.W., Masl, P.L., Wood, C.W. & Delaney, D.P. 1993. Determination of wheat nitrogen status with a hand-held chlorophyll meter: influence of a management practices. *Journal of Plant Nutrition*, **16**(5): 781-796.
- Rein, W.H., Wright, R.D. & Wolf, D.D. 1991. Stock plant nutrition influences the adventitious rooting of "rotundifolia" holly stem cuttings. *Journal of Environmental Horticulture*, **9**(2): 83-85.
- Ribeiro, H.M. 2004. *A fertilização Azotada de Pés-Mãe de Eucalyptus globulus ssp. globulus Labill*. Dissertação de Doutorado em Engenharia Agronômica. UTL, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.
- Rowe, D.B., Blazich, F.A. & Raper, C.D. 2002. Nitrogen nutrition of hedged stock plant of Loblolly Pine. I - tissue nitrogen concentration and carbohydrate status. *New Forest*, **24**:39-51.
- Sexton, P. & Carroll, J. 2002. Comparison of SPAD chlorophyll meter readings vs. petiole nitrate concentration in sugarbeet. *Journal of Plant Nutrition*, **25**(9): 1975-1986.
- Shaahan, M.M., El-Sayed, A.A. & El-Nour, E.A.A. 1999. Predicting nitrogen, mag-

- nesium and iron nutritional status in some perennial crops using a portable chlorophyll meter. *Scientia Horticulturae*, **82**: 229-348.
- Sibley, J.L., Eakes, D.J., Gilliam, C.H., Keever, G.J., Dozier, W.A. & Himelrick, D.G. 1996. Foliar SPAD-502 meter values, nitrogen levels and extractable chlorophyll for red maple selections. *HortScience*, **31** (3): 468-470.
- Simorte, V., Bertoni, G., Dupraz, C. & Masson, P. 2001. Assessment of nitrogen nutrition of walnut trees using a foliar analysis and chlorophyll measurements. *Journal of Plant Nutrition*, **24** (10) 1645-1660.
- Simpson, R.J. 1992. Carbon nitrogen budgets within the plant. In N. R. Baker & H. Thomas (eds) *Crop Photosynthesis, Spatial and Temporal Determinants*, pp. 105-129. Elsevier Science Publishers B.V.
- Swiader, J.M. & Moore, A. 2002. SPAD-Chlorophyll response to nitrogen fertilization and evaluation of nitrogen status in dryland and irrigated pumpkins. *Journal of Plant Nutrition*, **25**(5): 1089-1100.
- Yadava, U.L. 1986 – A rapid and non-destructive method to determine chlorophyll in intact leaves. *HortScience*, **21** (6): 1449-1450.
- Young, M.J., Berguson, W.E. & Nelson, N.D. 2003. In situ foliar nitrogen determination in hybrid poplar plantation using a Minolta SPAD- 502 chlorophyll meter. *Physiology and Molecular Biology*, **9** (2): 261-254.