

ESTIMATIVA DE TEORES FOLIARES DE CLOROFILA EM VINHEDO POR MEIO DE CLOROFILÔMETRO PORTÁTIL

T. M. M. Silva¹, B. R. S. Costa¹, H. Oldoni¹, A. M. Salviano², L. H. Bassoi^{3,*}

¹ FCA UNESP, Departamento de Engenharia Rural, R. José Barbosa de Barros, 1780, 18610-034, Botucatu, São Paulo

² Embrapa Semiárido, BR 428 km 152, Caixa Postal 23, 56302-970, Petrolina, Pernambuco

³ Embrapa Instrumentação, R. XV de Novembro, 1452, Caixa Postal 741, 13560-970, São Carlos, São Paulo

* Autor correspondente, e-mail: luis.bassoi@embrapa.br

Resumo: O uso de equipamentos ou sensores para a medida de atributos das plantas pode auxiliar a tomada de decisão quanto à realização de uma prática de manejo agrícola, desde que tal medida realizada seja representativa do atributo em questão. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a utilização de um equipamento portátil (ClorofiLOG CFL 1030) para a estimativa dos teores de clorofila *a*, *b* e total em folhas de videira cv. Chardonnay, tendo-se como referência a determinação dos teores desses pigmentos no tecido vegetal em laboratório, por meio de espectrofotometria. O trabalho foi desenvolvido em um vinhedo irrigado por gotejamento, localizados no município de Espirito Santo do Pinhal, São Paulo. Observou-se um bom ajuste entre os índices relativos de clorofila fornecidos pelo equipamento e os conteúdos de clorofila *a*, *b* e total determinados em laboratório, viabilizando assim o uso do equipamento no vinhedo.

Palavras-chave: pigmento fotossintetizante, índice de vegetação por diferença normalizada, agricultura de precisão.

ESTIMATION OF LEAF CHLOROPHYLL CONTENTS IN VINEYARD USING HANDHELD CHLOROPHYLL METER

Abstract: The use of equipment or sensors for measuring plant attributes may be helpful in order to the decision making regarding the implementation of an agricultural management practice, since such measures be representative of the attribute. Thus, the present work aimed to evaluate the use of a portable equipment ClorofiLOG CFL 1030 to estimate chlorophyll *a*, *b*, and total contents in grapevine cv. Chardonnay leaves, having as reference the determination of these pigment contents in the vegetal tissue in laboratory, by spectrophotometry. The work was carried out in a drip irrigated vineyard, located in Espirito Santo do Pinhal, state of São Paulo, Brazil. A good fit was observed between the relative chlorophyll indices provided by the equipment meter and the chlorophyll *a*, *b*, and total contents determined in the laboratory, thus enabling the use of this equipment in the vineyard.

Keywords: photosynthetic pigment, normalized difference vegetation index, precision agriculture

1. Introdução

O uso de equipamentos ou sensores para a medida de atributos das plantas pode auxiliar a tomada de decisão quanto à realização de uma prática de manejo agrícola, desde que tal medida realizada seja representativa do atributo em questão. O uso desses equipamentos e sensores podem ainda viabilizar um manejo diferenciado do vinhedo, dentro do contexto da viticultura de precisão, e contribuir para o aumento da eficiência de produção (OZDEMIR et al., 2017).

A análise foliar por meio de equipamentos portáteis, como o clorofilômetro, permite a determinação, de forma rápida e não destrutiva, dos teores de clorofilas *a*, *b* e total (COELHO et al., 2018). Esses pigmentos verdes são essenciais para conversão da radiação luminosa em energia

química, estando relacionados com a eficiência fotossintética das plantas, e consequentemente com seu crescimento, produtividade e adaptabilidade às condições ambientais. Esse equipamento tem sido utilizado para a avaliação da resposta da planta a diferentes tipos de estresse bióticos e abióticos (DURAES et al., 2004; SANTOS et al., 2013; SILVA et al., 2014); e do estado nutricional das plantas (MORAIS et al., 2011), principalmente em relação ao N (SEGATTO et al., 2017; CARVALHO et al., 2012; FRANÇA et al., 2011) já que 50-70% do teor total desse nutriente nas folhas fazem parte de enzimas associadas aos cloroplastos (ZOTARELLI et al., 2002), participando da síntese de clorofila. A informação obtida com o uso do equipamento pode possibilitar o manejo mais eficiente da adubação nitrogenada.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo analisar a relação existente entre os índices relativos de clorofila *a*, *b* e total obtidos pelo ClorofiLOG CFL 1030 e os teores de clorofila *a*, *b* e total determinados em laboratório por meio de espectrofotometria de absorção molecular em tecido foliar de videira.

2. Materiais e Métodos

O estudo foi desenvolvido no município de Espírito Santo do Pinhal, São Paulo (22° 10' 49,1" S, 46° 44' 28,4" O e altitude média de 875 m), em um vinhedo com a cv. Chardonnay enxertada sobre o porta-enxerto Paulsen 1103 (subdividido em duas áreas contíguas que juntas somam 1,1 ha), implantado em 2008, com espaçamento de 2,5 m (entre fileiras) por 1,0 m (entre plantas), e irrigado por gotejamento. O sistema de sustentação de plantas utilizado é o do tipo espaldeira, com condução das videiras em cordão Royat unilateral e orientação Leste-Oeste. O solo do vinhedo é classificado como Cambissolo Háplico Tb, A moderado, e Neossolo Regolítico, A húmico, ambos eutróficos típicos, de textura argilosa com cascalho (OLDONI, 2019).

A distribuição espacial do índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI) do vinhedo, realizada nos ciclos de produção de 2017 e 2018, relacionou-se diretamente com o vigor vegetativo das videiras (OLDONI, 2019), e orientou os locais para a coleta de dados nos ciclos de produção de 2019, que teve a sua poda em 7 de janeiro e a colheita em 17 de maio (ciclo de produção de 130 dias). Em 7 de fevereiro, 22 de fevereiro, 21 de março e 22 de abril, correspondentes a 31, 46, 73 e 105 dias após a poda (dap), foram realizadas leituras com o medidor portátil de clorofila ClorofiLOG CFL 1030 (Falker, Porto Alegre, Brasil) em 40 plantas por dia. Em cada planta foram selecionadas duas folhas totalmente expandidas, sem o indício do ataque de pragas ou de doenças, para a realização da medida em dois pontos na face adaxial de cada folha. Posteriormente, foram coletados de uma folha de cada planta dois discos com diâmetro de 1,55 cm, os quais foram armazenados em tubos cônicos de plástico contendo 2 mL de etanol 96% (v.v⁻¹) e armazenados em ambiente com baixa luminosidade e temperatura.

Para determinação do conteúdo de clorofila total (*a+b*) os discos coletados foram macerados em 2 mL de etanol 96% (v.v⁻¹) em almofariz, sob condições de baixa luminosidade, conforme descrito em Aidar (2010). Os extratos obtidos foram armazenados em tubos cônicos e centrifugados a 3000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi analisado em espectrofotômetro de micro placa Biotek Epoch2 nos comprimentos de onda 649 e 665 nm. Para a quantificação dos pigmentos foram empregados os coeficientes de extinção, segundo Lichtenthaler e Wellburn (1983), sendo determinados com base no peso seco das amostras e expressos em $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{cm}^{-2}$, considerando o volume de etanol utilizado na extração.

Os índices relativos de clorofila, obtidos com o clorofilômetro, foram relacionados com os teores absolutos de clorofila extraídos em laboratório, mediante análise de regressão. Os ajustes da curva foram realizados em função linear conforme o coeficiente de determinação por meio do programa Microsoft Excel® 2016.

3. Resultados e Discussão

Os ajustes entre os índices relativos de clorofila, fornecidos pelo clorofilômetro, e os respectivos teores de clorofila total (Figura 1A), *a* (Figura 1B) e *b* (Figura 1C), determinados por

espectrofotometria, apresentaram, respectivamente, coeficientes de determinação (R^2) de 0,834, 0,789 e 0,758, e coeficientes de correlação r de 0,913, 0,888 e 0,871.

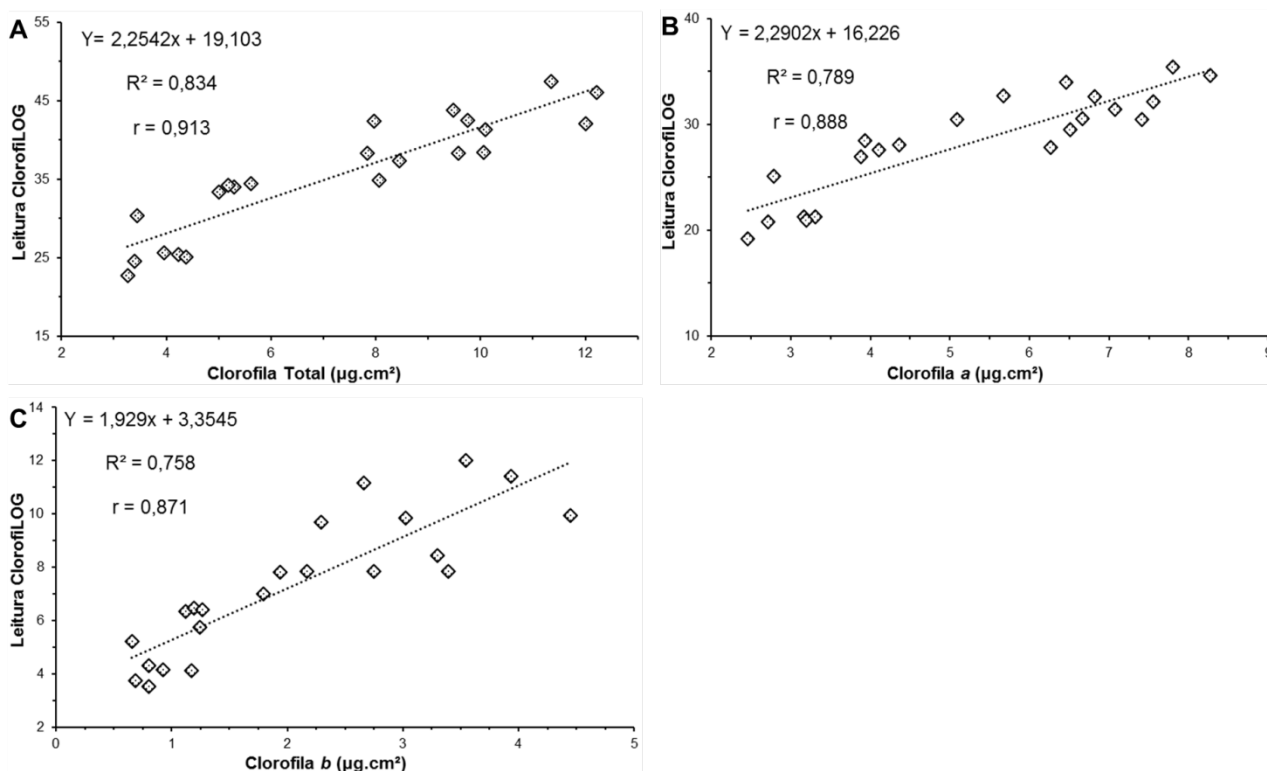


Figura 1. Equações de ajuste entre os índices relativos de clorofila obtidos pelo equipamento ClorofiLOG CFL 1030 e os conteúdos de clorofila total (A), a (B) e b (C) determinados por meio de espectrofotometria.

O valor de R^2 indica quanto o modelo (equação) é capaz de explicar os dados observados, ou seja, a medida do equipamento representa 83,4%, 78,9% e 75,8% dos valores determinados em laboratório da clorofila total, a e b , respectivamente. O valor de r indica que existe uma associação positiva, ou seja, os índices relativos fornecidos pelo equipamento aumentam com o aumento dos teores de clorofila, e pela magnitude dos valores, tal associação pode ser considerada como forte para as três situações.

Para a cultura do algodoeiro herbáceo, Neves et al. (2005) determinaram equações lineares para a associação da medida do clorofilômetro SPAD-502 (Minolta, Osaka, Japan) com os pigmentos fotossintetizantes, com valores de r de 0,82 (clorofila a), 0,48 (clorofila b) e 0,67 (clorofila total). Para a cultura do gergelim, Rigon et al. (2012) determinaram equações não lineares (quadráticas) para a calibração do ClorofiLOG CFL 1030 quanto aos teores de clorofila a , b e total com valores de R^2 de 0,98 para os três casos. Com o mesmo equipamento, e para a cultura do algodão, Brito et al. (2011) verificaram valores de R^2 de 0,91 (clorofila a), 0,80 (clorofila b) e 0,91 (clorofila total). Esses mesmos autores também relataram um valor de r igual a 0,99 ao comparar os índices relativos de clorofila fornecidos pelo SPAD-502 e ClorofiLOG CFL1030. Para a cultura da canola, Rigon et al. (2017) determinaram equações quadráticas para o ajuste da medida do ClorofiLOG com os teores de clorofila a (R^2 igual a 0,95), clorofila b (R^2 igual a 0,91) e clorofila total (R^2 igual a 0,95). Padilla et al. (2018) encontraram um modelo linear com valor de R^2 igual a 0,93 para ajustar as medidas feitas com o SPAD-502 com o teor de clorofila total em pimentão. Taskos et al. (2014) apresentaram equações lineares de calibração do clorofilômetro SPAD-502 com o teor de clorofila total com valores de R^2 que variaram de acordo com o estágio fenológico da videira e com a cultivar de videira (pegamento do fruto, 0,79 e 0,64; cacho fechado, 0,73 e 0,46; início da maturação, 0,25 e 0,14; maturidade, 0,57 e 0,20, para as cv. Cabernet Sauvignon e

Xinovaro). Tais resultados indicam a necessidade de calibração do clorofilômetro para cada espécie e cultivar na qual o equipamento será utilizado.

4. Conclusões

Os índices relativos de clorofila em folhas de videira cv. Chardonnay, fornecidos pelo medidor portátil ClorofiLOG CFL 1030, apresentaram ajustes satisfatórios (equações de calibração) com os teores de clorofilas *a*, *b* e total, determinados por espectrofotometria em laboratório, o que viabiliza o seu emprego na estimativa do conteúdo foliar de clorofila no vinhedo.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudo e financiamento ao projeto; à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsa de estudo; e à Vinícola Guaspari, pela disponibilização de área e apoio para realização do trabalho.

Referências

- AIDAR, S. T. Implicações da maturação ou perda da clorofila na tolerância à dessecação de tecidos vegetativos de *Anemia flexuosa* (Schizaeaceae) e *Pleurostima purpúrea* (Velloziaceae). 171 p. Tese (Doutorado em Ciências - Fisiologia e Bioquímica de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2010.
- BRITO, G. G.; BRANDÃO, Z. N.; SILVA, V. B.; FRANKLIN, M. S.; SILVA, D. A. Non-destructive analysis of photosynthetic pigments in cotton plants. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v.33, p.671-678, 2011.
- CARVALHO, M. A. F.; SILVEIRA, P. M.; SANTOS, A. B. Utilização do clorofilômetro para racionalização da adubação nitrogenada nas culturas do arroz e do feijoeiro. Santo Antônio de Goiás: Embrapa, 2012. 14p.
- COELHO, A. P., LEAL, F. T.; FILLA, V. A.; DALRI, A. B.; FARIA, R. T. Estimativa da produtividade de grãos da aveia-branca cultivada sob níveis de irrigação utilizando clorofilômetro portátil. *Revista da Faculdade de Educação e Meio Ambiente*, v. 9, n. 2, p. 662-667, 2018.
- DURÃES, F. O. M.; MAGALHAES, P. C.; MARRIEL, I. E.; GAMA, E. E. G. e; CASELA, C. R.; OLIVEIRA, A. C. de; CANTAO, F. R. Caracterização de genótipos para uso e eficiência de nitrogênio em milho e influência da adubação nitrogenada sobre a incidência e severidade da mancha foliar da *Phaeosphaeria maydis*. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2004. 8 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 53).
- FRANÇA, S.; MIELNICZUK, J.; ROSA, L.M.G.; BERGAMASCHI, H.; BERGONCI, J.I. Nitrogênio disponível ao milho: crescimento, absorção e rendimento de grãos. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental*, v.15, n.11, 2011.
- MORAIS, R.R. et al. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de macro e micronutrientes em folíolos de dendezeiro em sistema agroflorestal. In: VII Congresso Brasileiro de Sistemas Agroflorestais. Anais... Belém: Sociedade Brasileira de Sistemas Agroflorestais, 2011.
- NEVES, O. S. C.; CARVALHO, J. G.; MARTINS, F. A. D.; PÁDUA, T. R. P.; PINHO, P. J. Uso do SPAD-502 na avaliação dos teores foliares de clorofila, nitrogênio, enxofre, ferro e manganês do algodoeiro herbáceo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 40, n. 5, p. 517-521, 2005.
- OLDONI, H. Zonas homogêneas de atributos de planta e do solo em vinhedo irrigado. 106 p. Tese (Doutorado em Agronomia (Irrigação e Drenagem) - Universidade Estadual Paulista, Unesp, Botucatu, 2019.
- OZDEMIR, G.; SESSIZ, A.; PEKITKAN, F.G. Precision viticulture tools to production of high quality grapes. *Series B, Horticulture*. v.61, p.209-218, 2017.

- PADILLA, F. M.; SOUZA, R.; PEÑA-FLEITAS, M. T.; GALLARDO, M.; GIMÉNEZ, C.; THOMPSON, R. B. Different responses of various chlorophyll meters to increasing nitrogen supply in sweet pepper. *Frontiers in Plant Science*, v.9, p.1-14, 2018.
- RIGON, C. A. G.; ZANATTA, M. M.; SILVESTRE, L. O.; BORDIN, R.; SORIANI, H. H.; SILVA, V. R. da; TOMM, G. O. Determinação de clorofilas em canola através de método não destrutivo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE CANOLA, 1., 2017, Passo Fundo. Anais... Brasília, DF: Embrapa, 2017.
- RIGON, J. P. G.; BELTRÃO, N. E. de M.; CAPUANI, S. BRITO NETO, J. F. & SILVA, F. V. F. Análise não destrutiva de pigmentos fotossintéticos em folhas de gergelim. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* v.16, n.3, p.258–261, 2012.
- SANTOS, A. B. dos; FAGERIA, N. K.; FILIPPI, M. C. C. de; BOTELHO, T. H. A.; CALDAS, P. P. de C.; ALVES, K. D. Desempenho do arroz irrigado afetado pelo manejo de nitrogênio monitorado com o uso do clorofilômetro e fungicidas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 8., 2013, Santa Maria. Anais. Santa Maria: UFSM; Porto Alegre: Sosbai, 2013. v.2. p. 1264-1267.
- SEGATTO, C. et al. Relação da leitura do clorofilômetro com o rendimento da cultura do milho em diferentes níveis de suprimento de nitrogênio *Sci. Agrar.* v. 16, n. 2, abr./jun., p. 253-259, 2017
- SILVA, M. A.; SANTOS, C. M.; VITORINO, H. S.; RHEIN, A. F. L. Pigmentos fotossintéticos e índice SPAD como descritores de intensidade do estresse por deficiência hídrica em cana-de-açúcar. *Bioscience Journal*, v. 30, n. 1, p. 173-181, 2014.
- TASKOS, D. G.; KOUNDOURAS, S.; STAMATIADIS, S.; ZIOZIOU, E.; NIKOLAOU, N. KARAKIOULAKIS, K.; THEODOROU, N. Using active canopy sensors and chlorophyll meters to estimate grapevine nitrogen status and productivity. *Precision Agriculture*, v. 16, p. 77-98, 2015.