



# UTILIZAÇÃO DO MEDIDOR PORTÁTIL DE CLOROFILA PARA QUANTIFICAÇÃO DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS, PROTEÍNA E NITROGÊNIO EM FOLHAS DE GOIABEIRA

Bárbara França Dantas<sup>1\*</sup>, Maiane Santos Pereira<sup>2</sup>, Luciana de Sá Ribeiro<sup>2</sup>, Luiza Helena Duenhas<sup>1</sup>,  
Joselanne Luiza Trajano Maia<sup>3</sup>, Luis Henrique Bassoi<sup>1</sup>  
Embrapa Semi-Árido, CP23, CEP56302-970, Petrolina-PE [barbara@cpatsa.embrapa.br](mailto:barbara@cpatsa.embrapa.br)

## Introdução

A Índia, México, Brasil e Malásia são os principais produtores mundiais de goiaba (Brasil, 2001). No Brasil, os maiores produtores são os estados de São Paulo (156.971 t) e de Pernambuco (20.649 t) (Agriflora, 2002). Na região do vale do Sub-médio São Francisco, no Nordeste brasileiro (Pólo (pólo Petrolina-PE/Juazeiro-BA), a goiabeira irrigada irrigação apresenta produtividades de 40 a 50 ton.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup>, durante todo o ano (Gonzaga Neto, 1991). Apesar da importância da goiabeira, existem poucos trabalhos em relação à ecofisiologia e à nutrição mineral dessa cultura.

Normalmente, o teor de clorofila na planta é determinado em laboratório, mas o medidor portátil de clorofila ou clorofilômetro tem permitido a obtenção de valores indicativos dos teores de clorofila e, portanto, do estado nutricional da planta com relação ao nitrogênio. O valor apresentado pelo clorofilômetro portátil (Minolta Chlorophyll Meter SPAD-502) e baseia-se na quantidade de luz transmitida pela folha em dois comprimentos de onda, 650nm, onde há alta absorvância pelas moléculas de clorofila, e 940nm, onde a absorvância pelas mesmas é extremamente baixa (Minolta, 1989), por meio de uma leitura instantânea e sem a necessidade de destruição da amostra. Esse aparelho associa valores adimensionais, estabelecidos pelo equipamento, com o teor de clorofila total de uma amostra do tecido vegetal. Desta maneira, o conteúdo dos pigmentos fotossintéticos poderá ser determinado por meio de uma curva de calibração entre os valores fornecidos pelo SPAD-502 e a determinação analítica dos teores desses pigmentos (Torres Netto et al., 2000).

O objetivo deste trabalho foi de estabelecer uma possível correlação entre teores de N, proteínas solúveis, aminoácidos totais, pigmentos fotossintéticos e a leitura do clorofilômetro em folhas de goiabeira, como suporte a recomendações futuras da utilização do índice relativo de clorofila (IRC) para esta cultura.

## Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Fisiologia Vegetal/ Sementes e no Campo Experimental do Bebedouro da Embrapa Semi-Árido, Petrolina, Pernambuco. Goiabeiras cv.

<sup>1</sup> Pesquisador, Embrapa Semi-Árido, BR C.P.23, CEP56302-970, Petrolina -PE, Brasil, tel. (87)3862-1711 ; [barbara@cpatsa.embrapa.br](mailto:barbara@cpatsa.embrapa.br); <sup>2</sup> Graduando de Ciências Biológicas, FFPP, UPE; <sup>3</sup> Bolsista CNPq, Embrapa Semi-Árido.  
\*Trabalho financiado pelo CNPq e FACEPE

Paluma foram plantadas, em maio de 2003, em um espaçamento de 6 x 5 m, sendo irrigada por um sistema de irrigação por microaspersão. As folhas das goiabeiras foram coletadas ao acaso de várias posições do ramo, no final do período de formação do pomar (15 meses após o plantio) e antes da primeira poda de produção (agosto de 2004).

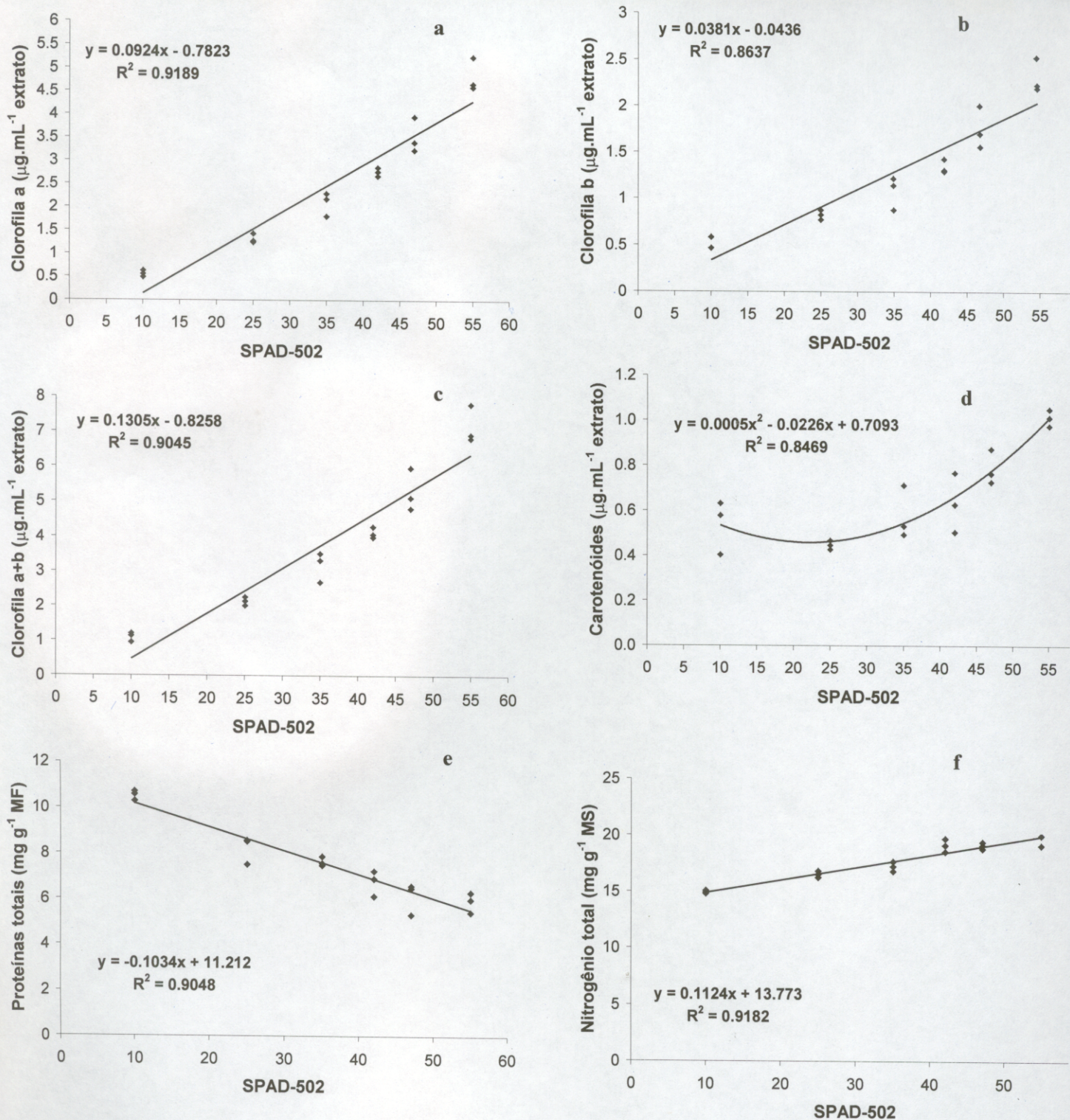
Após quatro leituras do clorofilômetro SPAD-502 (Minolta Corp.) em cada folha, as mesmas foram separadas em seis grupos de índice relativo de clorofila (IRC), sendo eles 0-20, 21-30, 31-40, 41-45, 46-50 e 51-60. Com auxílio de um perfurador de 1cm de diâmetro, foram extraídos círculos foliares de  $78,54\text{mm}^{-2}$ , que foram imersos em 5mL de dimetilsulfóxido (DMSO) e mantidos a  $70^{\circ}\text{C}$  durante 30 minutos (Hiscox e Israestam, 1978). As amostras foram resfriadas em temperatura ambiente e realizadas leituras em espectrofotômetro a 470, 646 e 663 nm. Os teores de clorofila a, clorofila b e carotenóides foram obtidos segundo as equações de Lichtenthaler e Wellburn (1983). Os discos remanescentes foram congelados a  $-20^{\circ}\text{C}$  até análise de proteínas e líveis a partir de curva de referência de caseína a 695nm (Bradford, 1976) e de aminoácidos a partir de curva de referência de glicina a 570nm (Rosen, 1957). Cada grupo de IRC foi composto por três repetições com três réplicas. As folhas restantes foram secas em estufa a  $65^{\circ}\text{C}$ , moídas e o teor de nitrogênio foi determinado (Malavolta et al., 1997).

## Resultados e Discussão

A correlação entre os valores obtidos pelo clorofilômetro, também denominado índice relativo de clorofila (IRC), e o teor real de clorofila na folha tem se mostrado elevada para várias culturas testadas, entre elas batata, pimentão, mamão e videira. Além disso, o IRC tem sido utilizado como indicador do status de nitrogênio em milho, pimentão e videira (Minotti et al., 1994; Rodrigues et al., 2000; Netto et al., 2002; Godoy, 2002; Godoy et al., 2003, Villas Boas et al, 2003). Neste trabalho, os valores de IRC apresentaram correlação positiva com os teores dos pigmentos da fotossíntese (clorofila a, clorofila b, clorofila a+b e carotenóides) e teores de N total das folhas de goiabeira; por outro lado, apresentaram alta correlação negativa com os teores de proteínas (Tabela 1).

**Tabela 1.** Coeficientes de correlação entre índice relativo de clorofila (IRC); clorofila (Clor) a; clorofila b; clorofila a+b; carotenóides (Carot); proteínas totais (PT) e nitrogênio (N) total em folhas de goiabeira.

	IRC	Clor a $\mu\text{g mL}^{-1}$	Clor b $\mu\text{g mL}^{-1}$	Clor a+b $\mu\text{g mL}^{-1}$	Carot <sup>(2)</sup> $\mu\text{g mL}^{-1}$	PT $\text{mg g}^{-1}$ MF	N total $\text{mg g}^{-1}$ MS
IRC	-	0,957**	0,927**	0,949**	0,711**	-0,952**	0,529*
Clor a		-	0,994**	0,999**	0,790**	-0,897**	0,506*
Clor b			-	0,997**	0,794**	-0,874**	0,536*
Clor a+b				-	0,792**	-0,891**	0,515*
Carot					-	-0,561*	0,449 <sup>NS</sup>
PT						-	-0,536*
N total							-



**Figura 1.** Regressão linear entre índice relativo de clorofila obtido através do clorofilômetro SPAD-502 e teor de clorofila a (a), teor de clorofila b (b), teor de clorofilas totais (c) ; teor de carotenóides (d), teor de proteínas solúveis em  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  de matéria fresca (e), teor de nitrogênio (f) em folhas de goiabeira cv. Paluma.

Os teores dos pigmentos extraídos com DMSO apresentaram alta correlação negativa com o teor de proteínas totais e apenas as clorofilas apresentaram correlação positiva com N total. O teor de proteínas totais se correlacionou negativamente com todos os parâmetros avaliados (Tabela 1).

Foram obtidos altos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) para as relações entre os valores de IRC e de clorofila a, clorofila b e clorofila total (a+b), indicando forte ajuste linear entre os mesmos (Figura 2a-c). Estes resultados concordam com os resultados obtidos por Machado Filho et al. (2001) que verificaram em mamoeiros alto  $R^2$  entre IRC e teores foliares de clorofilas a, b e total (0,9506; 0,9287 e 0,9544 respectivamente). Os valores de IRC apresentaram um bom ajuste quadrático para os teores de carotenóides (Figura 2d), semelhante ao obtido por Torres Neto et al. (2002) em folhas de mamoeiro das cultivares Solo e Formosa.

Quanto à relação entre os valores de IRC e teores de proteínas e nitrogênio (N), ambos apresentaram altos  $R^2$  (0,9048 e 0,9182 respectivamente, Figura 2c e d) com um bom ajuste linear, sendo que para a relação entre IRC e proteínas totais foi negativa. Torres Neto et al. (2002) verificaram um alto  $R^2$  (0,9703) entre N total e IRC. Godoy et al. (2003) e Villas Boas (2002) afirmam que as leituras do clorofilômetro podem ser utilizadas para manejo de adubação nitrogenada em plantas de pimentão e videiras, respectivamente, sendo capaz de prever precocemente a deficiência de N nas plantas.

## Conclusões

Com base nos resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que o teor de clorofilas pode ser convenientemente medido pelo clorofilômetro portátil SPAD-502 em goiabeiras. Pode-se afirmar, também, que as leituras do clorofilômetro auxiliam na avaliação do estado nutricional de goiabeiras, de forma não destrutiva e imediata, permitindo que o produtor possa tomar decisões ágeas quanto à adubação da cultura.

## Referências Bibliográficas

AGRIANUAL 2002. **Anuário da agricultura brasileira**. FNP Consultoria & Comércio. NAKAMAE & C. P. PATRELLO. São Paulo: Argos Comunicação, 2001, 536 p.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v.72, n.1/2, p.248-254, 1976.

GODOY, L.J.G. **Manejo do nitrogênio em cobertura na cultura do milho (*Zea mays* L.) em solo arenoso baseado no índice relativo de clorofila**. 2002. 94p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/ Agricultura)- Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

- GODOY, L.J.G.; VILLAS BÔAS, R.L.; BÜLL, L.T. Utilização da medida do clorofilômetro no manejo da adubação nitrogenada em plantas de pimentão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, n.6, 2003.
- GONZAGA NETO, L.; BEZERRA, J. E. F.; PEDROSA, A. C.; DANTAS, A. P.; SILVA, H. M. Comportamento produtivo da goiabeira sob irrigação no vale do rio Moxotó. I. Variedades industriais: onze anos de produção. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 13, n. 3, p. 103-114, 1991.
- HISCOX, J.D.; ISRAELSTAM, G.F. A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Canadian Journal of Botany**, v.57, p.1332-1334.
- LICHTENTHALER, H.K.; WELLBURN, A.R. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transactions**, v.11, p.591-592.
- MACHADO FILHO, J.A.; RANGEL, S.B.; FAGUNDES, G.R.; CAMPOSTRINI, E.; YAMANISHI, O.K. Calibração do medidor portátil de clorofila (SPAD-502, Minolta Corp.) por meio do método de extração de clorofila com dimetil sulfoxido (DMSO) para mamão (*Carica papaya* L. Cv. Golden). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 8., 2003, Atibaia. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v.15 (suplemento), p. 29. 2003.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.C. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2.ed. Piracicaba, Potafos, 1997. 317p.
- MINOLTA, CAMERA Co. Ltd. **Manual for chlorophyll meter SPAD-502**. Minolta Radiometric Instruments Div., Osaka, 1989. 22p.
- MINOTTI, P.L.; HALSETH, D.E.; SIECZKA, J.B. Field chlorophyll measurements to assess the N status of potato varieties. **HortScience**, Madison, v.29, p.1497-1500, 1994.
- NETTO, A.T.; CAMPOSTRINI, E.; OLIVEIRA, J.G.; YAMANISHI, O.K. Portable chlorophyll meter for the quantification of photosynthetic pigments, nitrogen and the possible use for assessment of the photochemical process in *Carica papaya* L. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v.14, n.3, p.203-210. 2002.
- RODRIGUES, F.A.; FONTES, P.C.R.; MARTINEZ, H.E.P.; PEREIRA, P.R.G. Nível crítico do índice SPAD na folha da batateira em solução nutritiva. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.18, p.1764-1765, 2000.

ROSEN, H. A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, San Diego, v.67, p.10-15, 1957.

VILLAS BOAS, R.L.; GODOY, L.J.G.; PANTANO, S.C. Índice relativo de clorofila: um indicativo auxiliar no manejo do nitrogênio em videira In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, **Anais**. Belém: SBF, 2002. CD-ROM.