

CALIBRAÇÃO DO MEDIDOR DE CLOROFILA MINOLTA SPAD-502 PARA AVALIAÇÃO DO CONTEÚDO DE CLOROFILA EM CAFEIEIRO

André Cabral FRANÇA, E-mail: cabralfranca@yahoo.com.br; Itamar Ferreira de SOUZA¹; Luis Wagner Rodrigues ALVES¹; Adriana Madeira Santos JESUS¹

¹Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais.

Resumo:

O objetivo do trabalho foi calibrar o medidor indireto de clorofila Minolta SPAD-502, para quantificação de clorofilas em folhas de cafeeiro cultivar Topázio, baseando-se na comparação das leituras de clorofila com teores obtidos pelo extrator acetona 80% (Arnon, 1949). Folhas de cafeeiro, da cultivar Topázio (MG -1190), foram retiradas durante o mês de março de 2006, com variação das tonalidades, do verde amarelado ao verde escuro intenso. No laboratório foram retirados quatro círculos do terço médio de cada folha de área de 346 mm², e submetido a leituras com o SPAD-502. Foram então armazenados em cadinho com 20 ml de solvente (acetona 80%). Após macerado e filtrado, o material foi inserido ao espectrofotômetro, efetuando-se a leitura de absorvância (663 e 645 nm). As leituras efetuadas pelo SPAD-502 se correlacionaram com as determinações dos teores de clorofila *a*, *b* e total de acordo com as equações: $Ca\ y = -1,841723 + 0,221183x$ ($R^2 = 96,7\%$); $Cb\ y = 0,929354 + 0,064933x$ ($R^2 = 96,9\%$); e $Ct\ y = -0,915272 + 0,286493x$ ($R^2 = 96,23\%$), respectivamente, no qual a variável independente (x) representa as leituras analisadas pelo aparelho Minolta SPAD-502, que detêm de leituras indiretas de clorofila.

Palavras-chave: *Coffea arabica* L., leituras indiretas, clorofilímetro.

CALIBRATION CHLOROPHYLL METER MINOLTA SPAD-502 FOR EVALUATION OF THE CONTENT OF CHOLOROPHYLL IN COFFEE TREE

Abstract:

The objective of this work was to calibrate SPAD-502 adjusting readings to the equations of chlorophyll *a*, *b*, total of coffee plant leaves determined by acetone extraction (Arnon, 1949). Green intensities, varying from green-yellowish to dark green, of coffee leaves were harvested in March 2006. Disks of 346 mm² were extracted from each leaf and inserted into SPAD -502. After reading they were homogenated with 20 mL acetone in a melter pan, filtered, and the absorbance at 663 and 645 nm were read in a spectrophotometer. SPAD-502 readings were well correlated with calculated chlorophylls *a*, *b*, and total according to equations: $Ca\ y = -1.841723 + 0.221183x$ ($R^2 = 96,7\%$); $Cb\ y = 0.929354 + 0.064933x$ ($R^2 = 96,9\%$); e $Ct\ y = -0.915272 + 0.286493x$ ($R^2 = 96,23\%$), respectively, in which the independent variable (x) it represents the readings analyzed by the apparel Minolta SPAD-502.

Key Words: *Coffea arabica* L., indirect readings, chlorophyllmeter

Introdução

As clorofilas são pigmentos responsáveis pela conversão da radiação luminosa em energia, sob a forma de ATP e NADPH. Por esta razão, estes pigmentos estão estreitamente relacionados com a eficiência fotossintética das plantas (Streit et al. 2005).

Alguns pesquisadores têm demonstrado a existência da relação entre o “índice de esverdeamento” e o teor de clorofila das folhas de cereais (Dwyer et al., 1995; Marquard & Tipton, 1987), surgindo como uma nova ferramenta para a avaliação do nível de nitrogênio, já que o teor de clorofila correlaciona-se positivamente com o teor de N (Schadchina & Dmitrieva, 1995) e, conseqüentemente, com o rendimento de várias culturas (Smeal & Zhang, 1994). Essa relação é atribuída, principalmente, ao fato de que 50 a 70 % do N total das folhas é integrante de enzimas (Chapman & Barreto, 1997) associadas aos cloroplastos (Stocking & Ongun, 1962).

Dentre os métodos usados para determinar o teor de clorofila, Zotarelli et al (2003) relataram que o medidor indireto de clorofila Minolta SPAD-502 (Soil Plant Analysis Development) (Minolta, 1989), têm sido utilizado em diversas culturas. Entretanto, ressaltam que é necessária a calibração deste equipamento para cada cultura e em cada situação em particular.

O objetivo deste trabalho foi calibrar o medidor indireto de clorofila Minolta SPAD-502, para quantificação de clorofilas em folhas de cafeeiro, baseando-se na comparação das leituras de clorofila com teores obtidos pelo extrator acetona (80%).

Material e Métodos

Folhas de cafeeiro foram retiradas de lavoura da cultivar Topázio (MG 1190), pertencente ao Centro de Ensino, Pesquisa e Extensão do Café, CEPE-CAFÉ, na Universidade Federal de Lavras, durante o mês de março de 2006.

Foram utilizadas folhas completamente expandidas, expostas à luz solar, com as seguintes tonalidades: verde amarelado, verde claro, verde e verde escuro intenso. Em seguida as folhas, foram acondicionadas individualmente em papel alumínio e colocadas em caixa de isopor refrigerada, evitando-se a deterioração do material pelo calor ou pela luz solar, e levadas imediatamente para o laboratório de Fisiologia Vegetal da UFLA (Universidade Federal de Lavras) a fim de serem analisadas.

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis repetições, e quatro tratamentos, constituídos pelas diferentes tonalidades das folhas de café verde amarelada, verde claro, verde e verde escuro intenso.

Em sala fechada e equipada com luz verde, foram retirados quatro discos do terço médio das folhas com auxílio de um vazador circular de área equivalente a 346 mm². Com o aparelho SPAD-502 foram realizadas leituras dos círculos foliares. Em seguida, procedeu-se a extração das clorofilas dos quatro círculos foliares através de maceração utilizando-se um cadinho de porcelana com 20 ml do solvente acetona (80%).

A seguir, o material foi filtrado em papel Watman n° 2 levando-se o filtrado imediatamente ao espectrofotômetro (marca Beckman, modelo DU- 600B) efetuando-se a leitura de absorvância à 663 nm e 645 nm. Para o cálculo das quantidades de clorofilas *a*, *b* e total (*Ca*, *Cb* e *Ct*, respectivamente), foram usadas as equações descritas por Arnon (1949), $Ca = (12,7 \times A_{663}) - (2,7 \times A_{645})$; $Cb = (-4,7 \times A_{663}) - (22,9 \times A_{645})$ e $Ct = (8,02 \times A_{663}) - (20,2 \times A_{645})$, onde substituiu-se as leituras realizadas no espectrofotômetro, com comprimento de ondas de 663 nm, representada por A_{663} , e 645 nm, representada por A_{645} , respectivamente.

Resultados e Discussão

Após as leituras com o aparelho SPAD-502, observou-se que as tonalidades das folhas de cafeiro ficaram compreendidas por intervalos discretos de acordo com as tonalidades estudadas, no qual a tonalidade verde amarelado (10 – 25 unidades SPAD); verde claro (25 – 40 unidades SPAD); verde (40 – 55 unidades SPAD) e verde escuro intenso (55 – 70 unidades SPAD).

As equações: $Ca\ y = -1,841723 + 0,221183x$; $Cb\ y = 0,929354 + 0,064933x$; e $Ct\ y = -0,915272 + 0,286493x$ podem ser utilizadas para transformar as leituras SPAD em teores de clorofila *a*, *b* e total ($\mu\text{g mL}^{-1}$), respectivamente, em plantas de café (figura 1), sendo significativas ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste t.

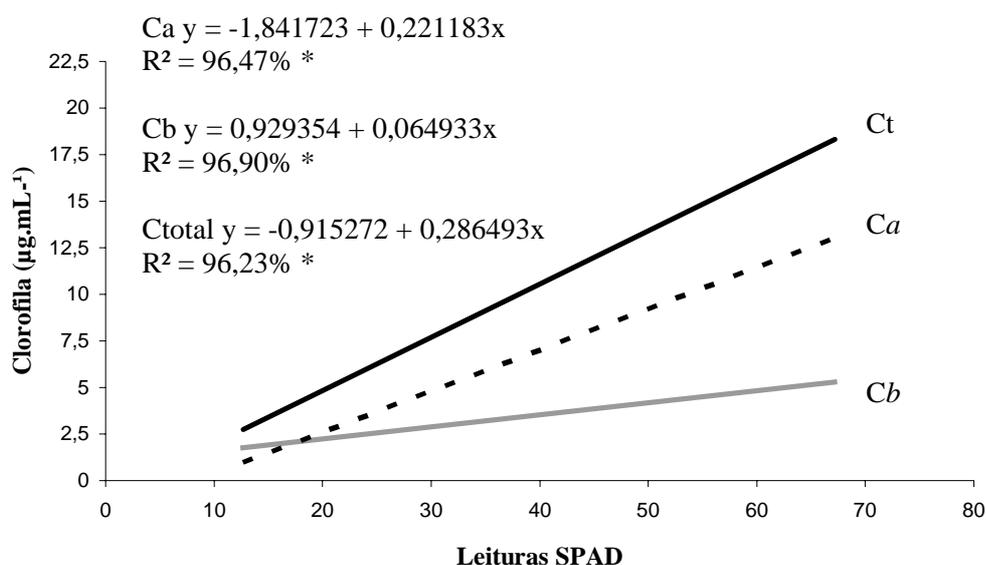


Figura 1 – Relação entre as leituras SPAD e os teores de clorofila *a*, *b* e total (*Ca*, *Cb* e *Ct*, respectivamente). UFLA, Lavras – MG, 2006. (* significativo a 5% de probabilidade, pelo teste t).

A determinação do teor de clorofila pelo clorofilômetro, apresenta algumas vantagens sobre o método de extração de clorofila convencional: a leitura pode ser realizada com pouco tempo, o aparelho tem custo baixo de manutenção, não há necessidade de envio de amostras para o laboratório, o que resulta em economia de tempo e dinheiro (Piekielek & Fox, 1992), e as leituras podem ser realizadas em quantas amostras forem necessárias, sem implicar na destruição das folhas (Neves et al., 2005).

Conclusões

As leituras efetuadas pelo equipamento (SPAD-502) podem substituir, com boa precisão, as determinações tradicionais do teor de clorofila onde requerem destruição de amostras e muito trabalho nos processos de extração e quantificação, para a cultivar Topázio.

Referências Bibliográficas

- Arnon, D.I (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, Maryland, v.24, n.1,p.1-15.
- Chapman, S.C.;Barreto, H.J(1997). Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. Agronomy Journal, v.89, p.557-562.
- Dwyer, L.M., Anderson, A.M., Ma, B.L., et al.(1995) Quantifying the nonlinearity in chlorophyll meter response to corn leaf nitrogen concentration. Canadian Journal of Plant Science, Ottawa, v. 75, n. 1, p. 179-182.
- Marquard, R.D.; Tipton, J.L (1987). Relationship between extractable chlorophyll and an in situ method to estimate leaf greenness. HortScience, Alexandria, v. 22, n. 6, p. 1327.
- Minolta, C. Manual for chlorophyll meter SPAD-502 (1989). Osaka : Minolta Radiometric Instruments Divisions, 22p.
- Neves, O.S.C., Carvalho, J.G., Martins, F.A.D., Pádua, T.R.P., Pinho, P.J (2005). Uso do SPAD-502 na avaliação dos teores foliares de clorofila, nitrogênio, enxofre, ferro e manganês do algodoeiro herbáceo. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.40, n.5, p.517-521.
- Piekielek, W.P.; Fox, R.H (1992). Use of a chlorophyll meter to predict side dress nitrogen requirements for maize. Agronomy Journal, v.84, p.59-65.
- Schadchina, T.M., Dmitrieva, V.V (1995). Leaf chlorophyll content as a possible diagnostic mean for the evaluation of plant nitrogen uptake from the soil. Journal of Plant Nutrition, New York, v. 18, p. 1427-1437.
- Smeal, D.; Zhang, H (1994). Chlorophyll meter evaluation for nitrogen management in corn. Communications in Soil Science and Plant Analysis, New York, v. 25, n. 9/10, p. 1495-1503.
- Stoking, C.R.; Ongun, A (1962). The intracellular distribution of some metallic elements in leaves. American Journal of Botany, v.49, p.284-289.
- Streit, N.M., Canterle, L.P., Canto, M.W., Hecktheuer, L.H.H (2005). As clorofilas. Ciência Rural, Santa Maria, v.35, n.3, p. 748-755.
- Zotarelli, L.; Cardoso, E.G.; Piccini, J.L.; Urquiaga, S.; Boddey, R.M.; Torres, E.; Alves, B.J.R (2003). Calibração do medidor de clorofila Minolta SPAD-502 para o uso na cultura do milho. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.38, n.9, p. 1117-1122.