

USO DO SPAD COMO ALTERNATIVA PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CLOROFILAS EM FOLHAS DE PORTAENXERTOS DE PESSEGUIRO

LUIS IRAN COUTINHO ULGUIM¹; VAGNER SCOUTO DA COSTA²; VICTOR MOUZINHO SPINELLI²; LUISA FANCELLI²; ILISANDRA ZANANDREA²; JOSÉ CARLOS FACHINELLO³; VALMOR JOÃO BIANCHI⁴

¹ Bolsista de iniciação científica FAPERGS - Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, DB-IB/UFPEL; Campus Universitário, Prédio 14, Caixa posta 354, CEP 96010-900.

Iran.ulguin@gmail.com

² Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, DB-IB/UFPEL; Campus Universitário Pós-graduanda do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal – UFPEL;

³ Engenheiro Agrônomo, Prof. Titular - Departamento de Fitotecnia, FAEM-UFPEL

⁴ Engenheiro Agrônomo, Prof. Adjunto do Departamento de Botânica, IB-UFPEL
valmorjb@yahoo.com

1. INTRODUÇÃO

As clorofilas são pigmentos responsáveis pela captura de luz usada na fotossíntese, essencial para a conversão em ATP e NADPH. Consequentemente, existe uma relação entre a eficiência fotossintética das plantas e a capacidade de crescimento e adaptabilidade aos diferentes ambientes. A determinação de tais pigmentos é importante no estudo do comportamento vegetativo de espécies frutíferas e na resposta das plantas às técnicas de manejo que visam aumentar o potencial fotossintético e o rendimento produtivo das plantas (Amarante et al., 2009).

Os métodos mais tradicionais para a determinação do teor de clorofila exigem que as folhas sejam destruídas, o que além de ser demorado e oneroso, pode ser uma desvantagem quando o objetivo é determinar o efeito da ontogenia da folha no grau de coloração da mesma (Jesus & Marengo, 2008). Com o surgimento 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 SPAD-502 (Soil Plant Analysis Development) possui diodos que emitem radiação em 650 nm (luz vermelha) e 940 nm (radiação infravermelha). Durante a mensuração a luz passa pela folha e é recebida por um fotodiodo de silicone onde é convertida primeiramente em sinais elétricos analógicos e depois em sinais digitais. Esses sinais passam por um microprocessador que calcula valores proporcionais aos de teor de clorofila presente na folha (Minolta, 1989). A absorbância das clorofilas é muito eficiente em 650 nm, mas é desprezível em 940 nm (Minolta, 1989; Marengo e Lopes, 2007). Desse modo, o sinal derivado da emissão em 650 nm serve de base para o cálculo do teor relativo de clorofila, enquanto que o sinal originado da emissão em 940 nm serve como um fator de correção para compensar pela absorção de fótons em 650 nm por moléculas do tecido foliar desprovidas de clorofila.

Este equipamento representa uma alternativa viável para a quantificação não destrutiva de clorofila em folhas, mediante medição dos atributos de cor. No entanto, a sua utilização depende da calibração para o estudo de cada espécie, principalmente devido às grandes diferenças quanto à coloração das folhas nas

diferentes cultivares. 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 & Uddling et al., 2007) sempre que uma nova espécie seja estudada.

Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar se existe correlação entre os valores obtidos pelo SPAD e os teores absolutos de clorofila em folhas de duas cultivares de portaenxertos de pessegueiro com diferentes colorações das folhas.

2. METODOLOGIA

Neste estudo foram utilizadas folhas de portaenxertos de pessegueiro das cultivares Capdeboscq (folha verde) e Okinawa roxo (folha roxa). O teor relativo de clorofila foi obtido usando um clorofilômetro (SPAD-502, Minolta, Osaka, Japão), e os teores absolutos de clorofila foram determinados em laboratório.

Em cada uma das duas cultivares foi selecionado três repetições de sete folhas com diferentes graus de coloração verde (Figura 1 A), e avermelhado /aroxeado (Figura 1 B), no intuito de se obter um gradiente nos teores de clorofila das duas cultivares. Com essa finalidade selecionaram-se folhas de diferentes idades desde muito novas (com baixos teores de clorofila) até maduras e completamente expandidas, com altos teores de clorofila.

As leituras com o SPAD-502 foram feitas em três pontos de cada folha, na face adaxial. Após as leituras, as folhas foram destacadas, identificadas, imediatamente colocadas em gelo, e em seguida, levadas ao laboratório e pesadas. A extração de clorofila foi feita pelo método de Arnon (Arnon, 1949), através da maceração das folhas com acetona 80%. O macerado foi filtrado e o volume completado para 10 mL. A absorbância da clorofila foi medida em 645 nm (A645) e 663 nm (A663) utilizando um espectrofotômetro. As concentrações absolutas de clorofila a e b foram obtidas de acordo com as equações: Clorofila a (mg m⁻²) = 12,7 x A663 – 2,69 x A645 x FD; Clorofila b (mg m⁻²) = 22,9 x A645 – 4,68 x A663 x FD, onde FD é fator de diluição que leva em conta o volume de solução cloroplastídica e a área da amostra foliar, FD (L m⁻²). O teor de clorofila total foi obtido como o somatório das concentrações de clorofilas a e b. As medidas de clorofila e os índices SPAD foram submetidos ao teste de correlação de Pearson.



Figura 1: Folhas da cv. Capdeboscq (A) e do portaenxertos cv. Okinawa roxo com diferentes intensidades de coloração.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na cv. Capdeboscq, o índice SPAD variou conforme a tonalidade das folhas, de 18 a 29 unidades SPAD para folhas verde-amareladas, de 31 a 39 unidades SPAD para folhas verde-claras, e de 40 a 46 unidades SPAD para

folhas verde-escuras. Na cv. Okinawa roxo, esses índices variaram de 30 a 38 para roxo esverdeado, de 40 a 47 para roxo claro e de 48 a 51 para roxo intenso.

Os teores de clorofila *a* para a cv. Capdeboscq variaram de 0,57 a 1,17 mg g MF⁻¹ (Figura 2A), e o coeficiente de correlação do índice SPAD e clorofila *a* foi 0,83. Para a cv. Okinawa roxo, os teores foram de 0,5 a 1,04 mg g MF⁻¹ (Figura 2B), e o coeficiente de Pearson foi 0,77.

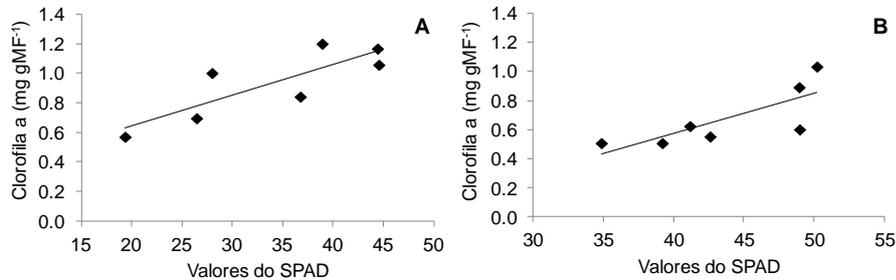


Figura 2: Correlação entre os valores do SPAD e os teores de clorofila *a* em folhas de portaenxerto de pessegueiro cv. Capdeboscq (A) e Okinawa roxo (B). UFPEL, 2013.

Os teores de clorofila *b* na cv. Capdeboscq ficaram compreendidos entre 0,12 e 0,42 mg g MF⁻¹ (Figura 3A), e o coeficiente de correlação para essa variável foi 0,67. Para a cv. Okinawa roxo, foram de 0,15 a 0,42 mg g MF⁻¹ (Figura 3B), e o coeficiente de Pearson foi 0,46.

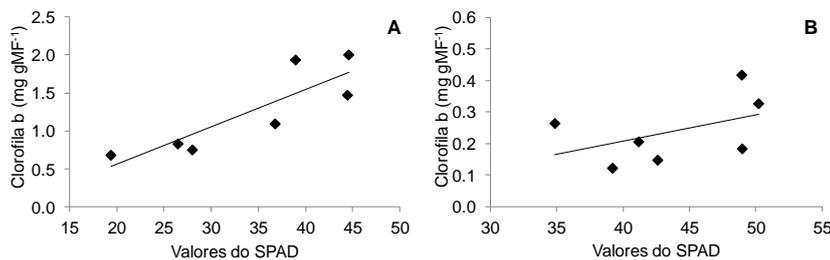


Figura 3: Correlação entre os valores do SPAD e os teores de clorofila *b* em folhas de portaenxerto de pessegueiro cv. Capdeboscq (A) e Okinawa roxo (B). UFPEL, 2013.

Em relação aos teores de clorofila total para a cv. Capdeboscq, os dados variaram de 0,69 e 2,0 mg g MF⁻¹ (Figura 4A), e o coeficiente de correlação para essa variável foi 0,86, enquanto que para a cv. Okinawa roxo os teores de clorofila variaram de 0,63 a 1,36 mg g MF⁻¹ (Figura 4B), e o coeficiente de Pearson foi 0,70.

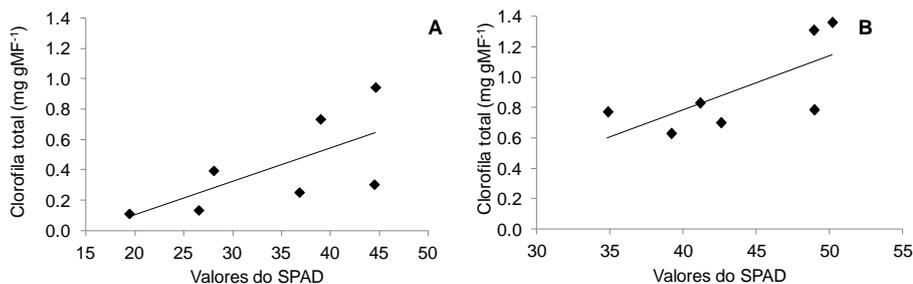


Figura 4: Correlação entre os valores do SPAD e os teores de clorofila total em folhas de portaenxerto de pessegueiro cv. Capdeboscq (A) e Okinawa roxo (B). UFPEL, 2013.

A falta de linearidade entre os teores relativos (obtidos pelo clorofilômetro) e os teores absolutos de clorofila, observada neste estudo, sugere que a distribuição da clorofila na superfície da folha apresenta certa desuniformidade, podendo levar a interpretações errôneas dos resultados. Entretanto a padronização da leitura para cada espécie e/ou cultivar contribui para reduzir os erros durante as avaliações.

A determinação do teor de clorofila pelo clorofilômetro apresenta algumas vantagens sobre o método tradicional de extração de clorofila: 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.

Boas et al. (2002) recomendam que a utilização do SPAD deve ser criteriosa, efetuando-se várias leituras por folha. Salienta-se que, no presente trabalho, houve essa preocupação quanto à repetição de leituras nas folhas, o que foi suficiente para estabelecer boa relação entre a leitura SPAD e o teor absoluto de clorofila em portaenxerto de *Prunus*.

4. CONCLUSÕES

Há uma boa correlação entre os teores absolutos de clorofila *a* e total e o índice SPAD em cultivares de pessegueiro com folhas verdes, no entanto, são necessários mais estudos para pessegueiro de folhas arroxeadas, com maior número de observações.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AZIA, F.; STEWART, K.A. Relationship between extractable chlorophyll and SPAD values in muskmelon leaves. **Journal of Plant Nutrition**, v.24, n.6, p.961-966, 2001.
- MARENCO, R.A.; LOPES, N.F. Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral. 2 ed. Editora UFV, Viçosa, MG. P.469, 2007
- MINOLTA. Chlorophyll meter SPAD-502. **Instruction manual**. Osaka, Japan. p.22, 1989.
- PIEKIELEK, W.P.; FOX, R.H. Use of a chlorophyll meter to predict side dress nitrogen requirements for maize. **Agronomy Journal**, v.84, p.59-65, 1992
- RICHARDSON, A.D.; DUGAN, S.P.; BERLYN, G.P. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. **New Phytologist**, v.153, n.1, p.185-194, 2002.
- AMARANTE, C.V.T.; ZANARDI, O.Z.; AQUIDAUANA, C.M.; STEFFENS, A.; ERHART, J.; ALMEIDA, J. Quantificação da área e do teor de clorofilas em folhas de plantas jovens de videira 'Cabernet Sauvignon' mediante métodos não destrutivos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.31, n.3, p.680-686, 2009.