

## TEORES DE CLOROFILA EM CAFEZEIROS SUBMETIDOS A DIFERENTES AMBIENTES AVALIADOS POR DOIS MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO<sup>1</sup>

Thamiris Bandoni Pereira<sup>2</sup>; Danielle Pereira Baliza<sup>3</sup>; Rodrigo Luz da Cunha<sup>4</sup>; Rubens José Guimarães<sup>5</sup>; Rodrigo Abreu Gomes<sup>6</sup>; Vinícius Alves Pereira<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Trabalho financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)

<sup>2</sup> Mestranda, Agronomia-Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG, thamirisbandoni@hotmail.com

<sup>3</sup> Doutoranda, Agronomia-Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG, danibaliza@yahoo.com.br

<sup>4</sup> Pesquisador, D.Sc., Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), Lavras-MG, rlc@epamig.ufla.br

<sup>5</sup> Professor, D.Sc., Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG, rubensjg@dag.ufla.br

<sup>6</sup> Agrônomo, Bolsista DCII/FUNAPE, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG, rodrigoabreu600@hotmail.com

<sup>7</sup> Graduando em Agronomia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG, viniciusalves111@hotmail.com

**RESUMO:** O café é nativo de ambientes sombreados, mas muitas vezes cresce e produz melhor sem sombra. Assim, acredita-se que folhas de café apresentem plasticidade suficiente para aclimatar-se ao contraste de radiação dos ambientes, alterando algumas de suas características, entre elas os teores de clorofila. O objetivo do presente trabalho foi determinar o teor de clorofila em cafezeiros submetidos a diferentes níveis de radiação (pleno sol, 35, 50, 65 e 90% de sombra), na época chuvosa e seca, comparando os métodos de Arnon (1949) e SPAD-502. Através da análise dos resultados obtidos pelo método de Arnon (1949) verificou-se que os níveis com 50, 65 e 90% de sombra obtiveram valores superiores para o teor de clorofila. Enquanto com o método de SPAD-502, na época seca, esses mesmos níveis (50, 65 e 90% de sombra) juntamente com o tratamento com 35% de sombra apresentaram as maiores médias. Para a época chuvosa, quando avaliado pelo equipamento SPAD-502, o nível com 90% de sombra, apresentou altos teores de clorofila, assim como no método de Arnon (1949).

**Palavras-chave:** Cafeeiro, Clorofila, SPAD, Arnon

## LEVELS OF CHLOROPHYLL IN COFFEE SUBMITTED TO DIFFERENT ENVIRONMENTS

**ABSTRACT:** Coffee is native to shady environments, but often grows better and produces no shadow. Thus, it is believed that coffee leaves have sufficient plasticity to acclimate to the contrast of light environments by changing some of its features, including the chlorophyll content. The aim of this study was to determine the chlorophyll content in coffee plants under different levels of radiation (full sun, 35, 50, 65 and 90% shade) in the rainy season and dry season, comparing the methods of Arnon (1949) and SPAD-502. By analyzing the results obtained by the method of Arnon (1949) found that levels of 50, 65 and 90% shade had higher values for the chlorophyll content. While the method of SPAD-502, in the dry season, these same levels (50, 65 and 90% shade) along with treatment with 35% shade had the highest mean. For the rainy season, when measured by SPAD-502 equipment, the level of 90% shade, presented high levels of chlorophyll, as well as the method of Arnon (1949).

**Key words:** Coffee, Chlorophyll, SPAD, Arnon

## INTRODUÇÃO

O café foi introduzido no Brasil em 1927 no estado do Pará e a partir daí foi disseminado para os demais estados. Nesta época, era cultivado sob sombra. Com o melhoramento genético, o cafeeiro foi sendo trabalhado para condições de pleno sol.

A partir da década de 1950 o cultivo sob sombra foi quase completamente abandonado, pois a maioria dos produtores preferiam a pleno sol, por acreditarem que o sombreamento diminuía a produtividade do cafeeiro, representava maior necessidade de mão-de-obra e dificultava a passagem de máquinas na lavoura (Ricci et al., 2002). Segundo Ricci et al. (2002) mais de 90% das lavouras existentes no Brasil são cultivadas a pleno sol, sendo que o café sombreado se encontra mais difundido no Norte e Nordeste do país.

Devido ao cenário de aumento de temperatura causado pelo aquecimento global e a estimativa de redução da área apta para a cultura (Assad et al., 2004), a arborização de cafezais torna-se uma alternativa viável a fim de amenizar os efeitos do aquecimento e para a expansão da cafeicultura brasileira, tornando possível o cultivo de café em áreas marginais, devido ao microclima proporcionado. Com isso, novas pesquisas têm sido realizadas, visando determinar

níveis de radiação adequados para o cultivo do cafeeiro em ambientes sombreados.

A disponibilidade de radiação, pode causar alterações nas características morfológicas, anatômicas e fisiológicas da folha, interferindo diretamente sobre o desenvolvimento, função e estrutura foliar (Nascimento et al., 2006). Geralmente o aumento no nível de radiação proporciona aumentos na espessura da folha devido ao desenvolvimento dos parênquimas paliçádico e esponjoso, o qual é induzido pela alta intensidade de luz, acarretando um aumento da área do mesofilo, alteração na quantidade, distribuição, tamanho, forma e mobilidade dos estômatos, além da redução do teor de clorofila e aumento na concentração do nitrogênio foliar (Nascimento et al., 2006; Araujo et al., 2008; Batista et al., 2010).

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

Vários estudos indicam efeitos positivos da sombra sobre o desenvolvimento vegetativo de cafeeiro, particularmente em condições climáticas adversas de déficit hídrico e ventos frios, assim como em situações de grandes variações de temperatura e ventos fortes (DaMatta, 2004). No entanto, pouco se sabe sobre o comportamento dos teores de clorofila nos ambientes sombreados, e os poucos trabalhos existentes, ora utilizam o SPAD (Reis et al., 2006; França et al., 2009; Coelho et al., 2009; Ruas et al., 2009) ora o método de Arnon (Santos et al., 2003; Camargo et al., 2008), para determinação dos teores de clorofila na folha, o que dificulta a comparação desses resultados.

Segundo França et al., 2009, em estudo com a cultivar Topázio, as leituras efetuadas pelo equipamento SPAD-502 podem substituir, com boa precisão, as determinações tradicionais do teor de clorofila. Reis et al. (2006) também verificaram que o medidor portátil (SPAD- 502), é eficiente para estimar o teor de clorofila e avaliar o estado nutricional do nitrogênio do cafeeiro.

Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo determinar o teor de clorofila em cafeeiros submetidos a diferentes níveis de radiação (pleno sol, 35, 50, 65 e 90% de sombra), na época chuvosa e seca, comparando os métodos de Arnon (1949) e SPAD-502.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Cafeicultura do Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), localizada no município de Lavras-MG, cujas coordenadas geográficas são: 21°14' S e 45° 00' W, com altitude média de 918 m. A temperatura média anual do ar dessa região é de 19,4°C e as médias anuais de temperatura, máxima e mínima de 26,1 e 14,8°C, respectivamente, com precipitação anual de 1.529,7 mm (Brasil, 1992). O clima da região é classificado, segundo Köppen, como do tipo Cwa, mas apresenta características de Cwb, com duas estações distintas: seca (abril a setembro) e chuvosa (outubro a março).

A cultivar de *Coffea arabica* utilizada foi Acaia Cerrado MG-1474, plantados no ano de 1998 no espaçamento de 3,5 m x 0,5 m. O cafezal foi recepado em 2007. Após a poda da lavoura, e, início da primeira produção, no mês de maio de 2009, as plantas de cafeeiros foram submetidas a cinco níveis de radiação (pleno sol e sob telas plásticas/sombrites de 35, 50, 65 e 90% de sombra). Foram utilizadas quatro repetições, totalizando 20 parcelas, as quais foram constituídas por oito plantas úteis. Os tratamentos foram avaliados quanto o teor de clorofila na estação chuvosa e seca, nos meses de novembro e agosto, respectivamente.

O teor de clorofila total foi determinado por meio dos métodos:

- Medidor portátil SPAD- 502 (Soil Plant Analysis Development) que permite avaliar, quantitativamente, a intensidade do verde da folha *in situ*, medindo as transmissões de luz a 650 nm, onde ocorre absorção de luz pela molécula de clorofila e a 940 nm, onde não ocorre absorção. Com estes dois valores, o equipamento calcula um número ou índice SPAD que, é altamente correlacionado com o teor de clorofila da folha (Markwell et al., 1995; Guimarães et al., 1999).
- Metodologia de Arnon (1949). Foram pesados 0,5 g dos tecidos foliares e, estes homogeneizados em nitrogênio líquido e solubilizados em acetona 80% (v v<sup>-1</sup>). Em seguida o extrato foi centrifugado a 8000 g por 15 minutos e o sobrenadante foi coletado para leitura em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 663 e 645 nm, sendo o teor de clorofila total foi calculada segundo Arnon (1949).

Para ambos os métodos utilizou-se oito folhas por repetição, sendo utilizadas folhas completamente expandidas do terceiro nó de ramos do terço superior das plantas de cafeeiro.

Os tratamentos foram dispostos no delineamento de blocos casualizados (DBC). A análise de variância foi realizada e quando significativa, as variáveis foram submetidas ao teste de Scott-Knot a 5% de probabilidade para o estudo das médias, utilizando o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2003).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quando utilizado o medidor portátil de clorofila (SPAD- 502) verificou-se que os maiores índices foram obtidos no sombreamento de 90%, na época chuvosa. Para o período seco, as menores médias foram obtidas nas plantas cultivadas a pleno sol, não havendo diferença significativa entre os demais tratamentos (Tabela 1). O maior teor de clorofilas por plantas expostas aos menores níveis de radiação é amplamente relatada na literatura, como registrado por Chaves et al. 2008, em estudo com cafeeiros cultivados a pleno sol e a sob sombra artificial. As clorofilas são

constantemente sintetizadas e destruídas (foto-oxidação) em presença de luz, mas sob intensidades luminosas muito altas a velocidade de decomposição é maior, sendo o equilíbrio estabelecido a uma concentração mais baixa (Kramer; Kozłowski, 1979). Já na época seca, as plantas a pleno sol apresentaram as menores médias quando comparadas aos demais tratamentos, não havendo diferenças significativas entre os níveis de radiação.

Em concordância com os resultados obtidos neste trabalho, Niinemets et al. (1998) e Moraes et al. (2004) esclarecem que plantas que possuem plasticidade fenotípica, como no caso do café, apresentam aumento nos teores de clorofila, queda na atividade da Rubisco (ribulose 1,5 bifosfato carboxilase/oxigenase) quando em ambientes com baixa disponibilidade de radiação.

Comparando as duas épocas de avaliação pelo índice SPAD, observou-se que a época seca foi superior ao da chuvosa para os tratamentos 35, 50 e 65% de sombra, não havendo diferenças significativas nos cafeeiros submetidos a pleno sol e no nível de 90% de sombra (Tabela 1). Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Cai et al. (2005), em que verificaram que a ocorrência de uma restrição hídrica moderada não alterou os teores de clorofila em plantas de cafeeiros (*Coffea arabica* L.).

Tabela 1- Valores médios para clorofila observados em cafeeiros submetidos a diferentes níveis de sombreamento.

Níveis de sombreamento	SPAD (índice)		Arnon (mg <sup>-1</sup> MF)
	Chuvosa	Seca	
Pleno sol	56,64 Ab	53,36 Ab	3,86 b
35% sombra	55,65 Bb	59,50 Aa	4,01 b
50% sombra	54,32 Bb	59,04 Aa	4,70 a
65% sombra	55,56 Bb	60,64 Aa	5,22 a
90% sombra	61,66 Aa	58,02 Aa	5,34 a

Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (P ≤ 0,05).

O método de Arnon (1949) é o teste mais utilizado para determinação de teores de clorofilas em plantas superiores e algas verdes (Porra, 2002). Neste experimento, com a utilização da metodologia de Arnon, não houve diferenças significativas entre os níveis de radiação e as épocas avaliadas. Os níveis com 50, 65 e 90% de sombra apresentaram maior teor de clorofila quando comparados com os demais tratamentos. A metodologia de Arnon (1949) é utilizada como parâmetro em diversos trabalhos, como no de Marr et al. (1995) em que equações matemáticas foram avaliadas para a análise de extratos de clorofila em material vegetal e Porra (2002), que estimou algumas equações precisas para manter a relatividade entre seus resultados atuais e os anteriores ao método de Arnon (1949).

## CONCLUSÕES

Houve semelhança nos resultados obtidos entre os métodos de Arnon (1949) e SPAD-502, na época seca. Nos tratamentos de 50, 65 e 90% de sombra, ambos os métodos apresentaram valores elevados de clorofila. Já na época chuvosa, o nível de 90% produziu altas quantidades de clorofila, assim como no método de Arnon (1949).

## AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG pelo auxílio financeiro na condução dos experimentos e para participação no VII Simpósio de Pesquisa dos Cafês do Brasil.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAUJO, W.L.; DIAS, P.C.; MORAES, G.A.B.K.; CELIN, E.F.; CUNHA, R.L.; BARROS, R.S.; DAMATTA, F.M. Limitations to photosynthesis in coffee leaves from different canopy positions. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 46, n.10, p. 884-890, oct., 2008.
- ARNON, D.I. Copper enzymes in isolates chloroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant physiology**, California, v. 24, n.1, p. 1-15, 1949.
- ASSAD, E. D.; PINTO, H. S.; ZULLO JUNIOR, J.; ÁVILA, A. M. H. Impacto das mudanças climáticas no zoneamento agroclimático do café no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n.11, p. 1057- 1064, 2004.
- BATISTA, L.A.; GUIMARÃES, R.J.; PEREIRA, F.J.; CARVALHO, G.R.; CASTRO, E.M. de. Anatomia foliar e potencial hídrico na tolerância de cultivares de café ao estresse hídrico. **Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 41, n. 3, p. 475-481, jul./set., 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Normais Climatológicas** 1961-1990. Brasília, 84 p. 1992.
- CAI, Z. Q.; CHEN, Y. J.; GUO, Y. H.; CAO, K. F. Responses of two field-grown coffee species to drought and rehydration. **Photosynthetica**, v. 43, n. 2, p. 187- 193, 2005.

- CAMARGO, P. M. P.; COSTA, R. C. da.; BARRETO, A. G. T.; NETO, C. F. de O.; CRUZ, F. J. R. Mecanismos de tolerância ao estresse salino relacionados com o metabolismo de nitrogênio e ajustamentadores osmótico em plantas de sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. In: Seminário de Iniciação Científica/UFRA VI e Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA XII. **Resumos...** Amazônia Oriental / 2008.
- CHAVES, A. R. M.; TEN-CATEN, A.; PINHEIRO, H. A.; RIBEIRO, A. DAMATTA, F. M. Seasonal changes in photoprotective mechanisms of leaves from shaded and unshaded field-grown coffee (*Coffea arabica* L.) trees. **Trees**, Santa Monica, v. 22, n. 3p. 351-361, 2008.
- COELHO, R. A.; MATSUMOTO, S. N.; BONFIM, J. A.; LEMOS, C. L.; CÉSAR, F. R. C. F.; SANTOS, M. A. F. LIMA, J. M.; ARAÚJO, G. S.; GUIMARÃES, M. M. C. FARIAS, D. H. Teor de clorofila nas folhas do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) em monocultivo e dois sistemas agrofloretais em Barra do Choça, BA. In: Simpósio de pesquisa dos cafês do Brasil VI, **Anais...** Vitória: EMBRAPA Café, E.S, 2009. (CD-Room)
- DAMATTA, F.M. Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. **Field Crops Research**, Phoenix, v.86, n.2-3, p. 99-114, 2004.
- FERREIRA, D.F. **Sisvar**- Sistema para análise de variância de dados balanceados: programa de análises estatísticas e planejamento de experimentos, versão 4. Lavras: UFLA, 2003.
- FRANÇA, A. C.; SOUZA, I. F. de.; ALVES, L. W. R.; JESUS, A. M. S. Calibração do teor de clorofila minolta SPAD-502 para avaliação do conteúdo de clorofila em cafeeiro. In: Simpósio de pesquisa dos cafês do Brasil VI. **Anais...** Vitória: Embrapa Café, E.S. 2009. (CD-Room)
- GUIMARÃES, T. G.; FONTES, P.C.R.; PEREIRA, P.R.G.; ALVAREZ, V. H.; MONNERAT, P.H. Teores de clorofila determinados por medidor portátil e sua relação com formas de nitrogênio em folhas de tomateiro cultivado em dois tipos de solo. **Bragantia**, v. 58, n.1, p. 209- 21, 1999.
- KRAMER, T.; KOSLOWISKI, T. **Physiology of Wood plants**. New York, Academic Press, 1979. 811p.
- MARKWELL, J.; OSTERMAN, J.C.; MITCHELL, J. L. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. **Photosynthesis Research**, v. 46, p. 467- 472, 1995.
- MARR, I. L.; SURVANA, N.; LUKULAV, P.; MARR, M. I. Determination of chlorophyll a and b by simultaneous multi-component spectrophotometry. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v 352, n. 5, p. 456-460, jul 1995.
- MORAIS, H.; MEDRI, M.E.; MARUR, C. J.; CARAMORI, P.H.; RIBEIRO, A.M. de A.; GOMES, J.C. Modification on leaf anatomy of *Coffea arabica* caused by shade of Pigeonpea (*Cajanus cajan*). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 47, n.6, p. 863- 871, 2004.
- NASCIMENTO, E.A. do; OLIVEIRA, L.E.M. de; CASTRO, E.M. de; DELÚ FILHO, N.; MESQUITA, A. C.; VIEIRA, C. V. Alterações morfofisiológicas em folhas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) consorciado com seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n.3, p. 852-857, mai-jun., 2006.
- NIINEMETS, U.; KULL, O.; TENHUNEN, J. D. An analyses of light effects on foliar morphology, physiology, and light interception in temperate deciduous woods species of contrasting shade tolerance. **Tree Physiology**, v. 18, n. 10, p. 681- 696, 1998.
- PORRA, R. J. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. **Photosynthesis Research**, v. 73, n. 1-3, p. 149-156. 2002.
- REIS, A.R.; FURLANI JUNIOR, E.; HAGA, K.I. Atividade da enzima redutase do nitrato em tecido foliar em função da arquitetura do cafeeiro adulto cultivado em níveis crescentes e sistemas de aplicação de nitrogênio. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BOTÂNICA DE SÃO PAULO 15, Ubatuba. **Resumos...** (CD-ROM). 2006
- RICCI, M. dos S. F.; ARAUJO, M. do C. F. FRANCH, C.M. de C. **Cultivo orgânico do café**: recomendações técnicas. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 101 p. 2002
- RUAS, R. A. A.; BRITO, A. B. de.; CERQUEIRA, E. S. A.; QUEIROZ, D. M. de.; PINTO, F. de A. C. Análise da variabilidade espacial da clorofila em cultura de café. In: Simpósio de pesquisa dos cafês do Brasil VI. **Anais...** Vitória: EMBRAPA Café- E.S. 2009. (CD-Room)
- SANTOS, C. C. dos.; SOUZA, I. F. de.; ALVES, L. W. R. Efeitos de restos culturais de milho sobre o crescimento de plantas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) . **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.5, p. 991-1001, oct. 2003.
- STREIT, N. M., CANTERLE, L. P.; CANTO, M. W.; HECKTHEUER, L. H. H. As clorofilas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 3, p. 748-755. 2005.