

**MODELAGEM PARA ESTIMATIVA NÃO-DESTRUTIVA DE PIGMENTOS
CLOROPLASTÍDICOS NA CULTIVAR DE FEIJÃO-CAUPI BRS PUJANTE**

João Vitor da Silva Pereira¹, Priscylla Marques de Oliveira Viana², Patrícia da Silva Costa³,
Guilherme Felix Dias⁴, Yuri Lima Melo⁵, Renner Luciano de Souza Ferraz⁶

RESUMO: A crescente demanda por alimentos impulsiona o cultivo de feijão-caupi e a necessidade de avaliação dos teores de clorofilas em suas folhas. Assim, objetivou-se ajustar e validar modelos de regressão para estimativa não destrutiva dos teores de pigmentos cloroplastídicos em folhas da cultivar de feijão-caupi BRS Pujante. O experimento foi conduzido na área experimental da Universidade Estadual da Paraíba. Foi utilizada a cultivar de feijão-caupi BRS Pujante com três repetições. Foram realizadas 60 medições do índice SPAD em folíolos, posteriormente foram realizadas leituras de absorvância em espectrofotômetro, nos comprimentos de onda de 663, 646 e 470 nm, para a determinação dos teores de pigmentos. Conclui-se que, o clorofilômetro portátil SPAD pode ser utilizado para estimativa não-destrutiva da concentração dos pigmentos cloroplastídicos em folhas de feijão-caupi para a cultivar BRS Pujante a partir dos modelos ajustados e validados com moderados desempenhos.

PALAVRAS-CHAVE: *Vigna unguiculata* (L.), SPAD, regressão

**MODELING FOR NON-DESTRUCTIVE ESTIMATION OF CHLOROPLASTYD
PIGMENTS IN BEANS CULTURE BRS PUJANTE**

ABSTRACT: The growing demand for food boosts the cultivation of cowpea and the need to evaluate the levels of chlorophylls in their leaves. Thus, the objective was to adjust and validate regression models for non-destructive estimation of chloroplast pigment contents in leaves of the cowpea cultivar BRS Pujante. The experiment was conducted in the experimental area of

¹ Bacharelado em Agroecologia, Depto de Agroecologia e Agropecuária, UEPB, CEP 58117-000, Lagoa Seca, PB. Fone (83) 3366-1244, e-mail: vitorpereira.vp644@gmail.com

² Bacharelada em Agroecologia, Depto de Agroecologia e Agropecuária, UEPB, Lagoa Seca, PB

³ Dotoranda em Engenharia Agrícola, Unidade Acadêmica de Engenharia Agrícola, UFCG, Campina Grande, PB

⁴ Bacharelado em Agroecologia, Depto de Agroecologia e Agropecuária, UEPB, Lagoa Seca, PB

⁵ Prof. Doutor em Fitotecnia-Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias, UEPB, Campina Grande, PB

⁶ Prof. Doutor em Engenharia Agrícola, Unidade Acadêmica de Tecnologia do Desenvolvimento, UFCG, Sumé, PB

the State University of Paraíba. The cowpea cultivar BRS Pujante was used with three replications. 60 measurements of the SPAD index were performed on leaflets, subsequently absorbance readings were performed in a spectrophotometer, at wavelengths of 663, 646 and 470 nm, to determine the pigment contents. It is concluded that the portable chlorophyllometer SPAD can be used for non-destructive estimation of the concentration of chloroplast pigments in cowpea leaves for the cultivar BRS Pujante from adjusted and validated models with moderate performances

KEYWORDS: *Vigna unguiculata* (L.), SPAD, regression

INTRODUÇÃO

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma cultura de expressiva importância econômica, social e ambiental, destacando-se pela produção de grãos alimentícios e fixação do homem no campo, o que garante maior rentabilidade ao produtor e melhor qualidade de vida (GOMES et al., 2020). Com base no exposto, pode-se inferir que o melhoramento genético tem proporcionado a obtenção de novas cultivares de feijão-caupi com características diferenciadas quanto à capacidade de tolerância à restrição hídrica, como por exemplo, as mudanças nos de clorofilas (HORN & SHIMELIS, 2020).

O cenário supracitado sugere que a determinação dos teores de pigmentos cloroplastídicos é de fundamental importância, uma vez que pode auxiliar no monitoramento do status nutricional das plantas (CROFT et al., 2020). Com base nestas informações, é importante destacar que o aperfeiçoamento nos processos de estimativas destes pigmentos pode auxiliar a comunidade científica no processo de avaliação de plantas. Os teores de pigmentos podem ser determinados a partir de sua extração por métodos que utilizam reagentes químicos e leitura de absorbância em espectrofotômetro. No entanto, este método pode ser laborioso e demorado, além do elevado custo do equipamento para as leituras (BARMAN & CHOUDHURY, 2020).

É importante ressaltar que a cor das folhas possui estreita relação com os teores de pigmentos cloroplastídicos, de modo que estes pigmentos podem ser determinados por leituras indiretas a partir do índice de verde das folhas utilizando-se de um equipamento tipo SPAD com maior praticidade e eficiência (CAHYO et al., 2020). Assim, objetivou-se com o presente estudo, ajustar e validar modelos de regressão para estimativa não-destrutiva dos teores de pigmentos cloroplastídicos em folhas de cultivares de feijão-caupi.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na área experimental da Universidade Estadual da Paraíba - Campus I. Foi utilizada a cultivar de feijão-caupi BRS Pujante com três repetições. Quando as plantas atingiram o estágio V4, foram realizadas 60 medições (n) dos índices SPAD em folíolos selecionados aleatoriamente no terceiro trifólio, sendo 50 para ajuste dos modelos e 10 para validação dos modelos ajustados.

Imediatamente após as leituras SPAD, o folíolo foi destacado e no mesmo ponto de inserção do leitor foi cortado um disco foliar de 21,24 mm² (sendo um disco para cada leitura SPAD). Os discos foram pesados em balança analítica, macerados e acrescentados, a cada amostra, 3 mL de acetona a 80% (v/v). Posteriormente, foram realizadas leituras de absorvância em espectrofotômetro, e os teores dos pigmentos clorofila a (Chla), clorofila b (Chlb), clorofila total (Chlt) e carotenoides totais (Cart) foram obtidos utilizando-se das equações de Lichtenthaler & Buschmann (2001). Para converter os valores encontrados em µg mL⁻¹ para µg g⁻¹, os resultados obtidos foram multiplicados por 3,0 mL (volume do recipiente de digestão) dividindo-se pela massa do disco.

Atendido o pressuposto de normalidade dos dados, foi modelada a relação entre os índices SPAD e os teores de Chla, Chlb, Chlt e Cart por meio dos modelos de regressão linear ($y = a + b * x$), onde y é a variável dependente representado pelo teor do pigmento que se deseja estimar (Chla, Chlb, Cart ou Chlt); a e b são parâmetros da equação a serem estimados; e x é a variável independente representada pelos índices SPAD. Para ajuste dos modelos foi utilizado o *software* Microsoft Office Excel v. 2016.

A avaliação do desempenho estatístico dos modelos ajustados foi realizada tomando-se como base a qualidade, mensurada pelo coeficiente de determinação ajustado “R²_{ajustado}”; a precisão, medida pelo coeficiente de correlação de Pearson “r”; a exatidão, medida pelo índice de concordância de Willmott “d” e de confiança “c”; e a performance geral do modelo medida pelo erro médio quadrático “RMSE” (WANG et al., 2019).

Os valores de índice SPAD obtidos das 10 amostras reservadas para validação foram utilizados nos modelos ajustados para estimativas dos teores de pigmentos cloroplastídicos simulados pelos modelos. Posteriormente, os valores de pigmentos quantificados nos discos dos folíolos das cultivares das 10 amostras de validação foram submetidos às análises de regressão e de resíduos, sendo os teores de pigmentos estimados pelos modelos considerados variáveis independentes e aqueles quantificados nos discos dos folíolos considerados variáveis dependentes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nas análises realizadas, foi possível verificar que houve ajuste significativo (Pvalor < 0,01) de modelos de regressão para todos os pigmentos estudados em função dos índices SPAD. Os parâmetros e coeficientes dos modelos estão descritos na Tabela 1. Ainda, pode-se observar que os modelos ajustados possuem boa qualidade ($R^2_{ajustado}$), precisão (r), exatidão (d), confiança (c) e performance geral (RMSE) para estimativas dos teores de Chla, Chlb, Chlt e Cart.

Tabela 1. Resumo das estatísticas de ajuste e avaliação de desempenho dos modelos para estimativa dos pigmentos cloroplastídicos de folhas da cultivar BRS Pujante.

	Quadrado Médio			
	Chla	Chlb	Chlt	Cart
Regressão	6627134,60	812560,86	12080794,54	1583555,84
Resíduo	59424,05	13842,21	111146,72	21708,23
	Teste F			
Fcalculado	111,52	58,70	108,69	72,95
P-valor	5,34E-13	2,69E-09	7,76E-13	1,82E-10
Parâmetros	Coeficientes			
β_0	-913,91	-85,10	-999,01	-191,67
β_1	46,45	16,27	62,72	22,71
$R^2_{ajustado}$	0,73	0,59	0,73	0,64
Erro Padrão	243,77	117,65	333,39	147,34
	Desempenho dos Modelos			
$R^2_{ajustado}$	0,64	0,80	0,82	0,85
r	0,80	0,89	0,90	0,92
d	0,87	0,79	0,93	0,95
c	0,70	0,71	0,84	0,88
RMSE	191,11	145,45	222,51	65,51

Chla: clorofila a, Chlb: clorofila b, Chlt: clorofila total, Cart: carotenoides totais, β_0 : intercepto da curva no eixo das ordenadas (y), β_1 : coeficiente angular da curva, $R^2_{ajustado}$: coeficiente de determinação ajustado, r: coeficiente de correlação de Pearson, d: índice de concordância de Willmott, c: índice de confiança e RMSE: erro médio quadrático.

Ao correlacionar os resultados do SPAD nas folhas aos teores de Chla ($\mu\text{g g}^{-1}$), obtidos em laboratório, observou-se que ocorreu uma sensata relação entre as leituras, com o coeficiente de determinação de 0,64 (Figura 1A). De acordo com a classificação de Dancey & Reidy (2019), as leituras com o equipamento portátil estimaram com moderada precisão o valor de Chla. Dessa forma, o modelo matemático gerado na Figura 1A pode ser utilizado para estimar o teor desse pigmento fotossintético.

A estimativa do conteúdo para Chlb por meio dos equipamentos portáteis é mais dificultosa quando confrontada à leitura da Chla, assim como atribuiu Rigon et al. (2012). Isto é possível ocorrer devido ao fato de o comprimento de onda emitido pelo aparelho aproximar-se mais ao pico de absorção da Chla, do que do pigmento 'b'. Observou-se, no entanto, moderada eficiência nas leituras do SPAD em relação às análises laboratoriais para os pigmentos de Chlb em relação a cultivar, com coeficiente de determinação de 0,80. O valor demonstra que o equipamento proporcionou um ponderado ajuste com o modelo linear, conforme Figura 1B.

Os valores referentes à clorofila total oscilaram desde zero a 2500 $\mu\text{g g}^{-1}$ de lâmina foliar, onde tornou-se possível também por meio do equipamento portátil, ajustá-los ao modelo linear. Assim, foi possível obter resultados distintos, em relação à extração em laboratório. Identificou-se o coeficiente de 0,82, considerado forte (Figura 1C). Argenta et al. (2001) verificaram, em avaliações realizadas na cultura do milho, relação significativa entre leitura do clorofilômetro e teor de clorofila extraível da folha, onde foram observados coeficientes de determinação que variaram de 0,83 a 0,98, de 0,80 a 0,97 e de 0,72 a 0,98, respectivamente, para clorofila total e clorofilas a e b.

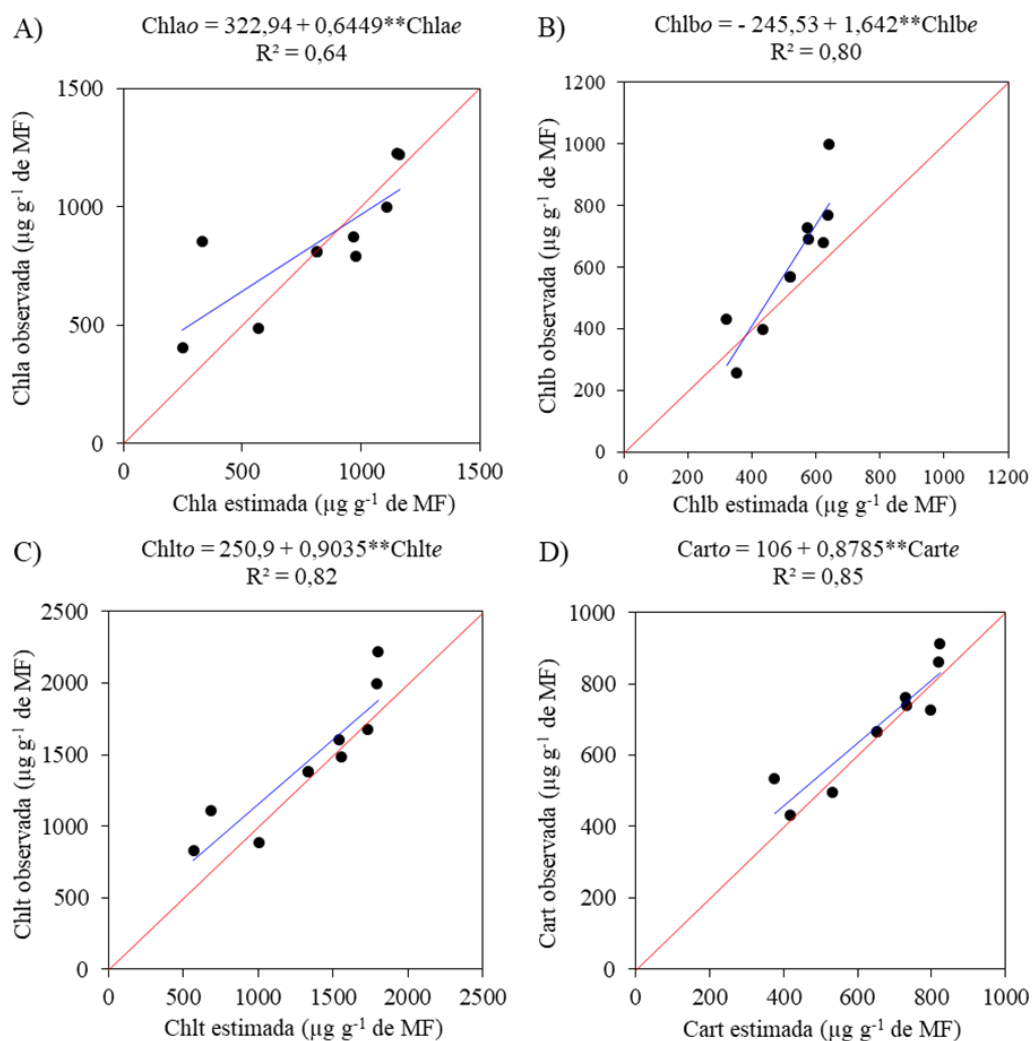


Figura 1. Relação entre clorofila a (Chla) observada e a estimada (A), clorofila b (Chlb) observada e estimada (B), clorofila total (Chlt) observada e estimada (C) e carotenoides totais (Cart) observados e estimados (D) pelos modelos de regressão ajustados para estimativa dos pigmentos das folhas da cultivar BRS Pujante. MF: matéria fresca, **: inclinação significativa da linha de tendência ($p < 0,01$). A linha diagonal vermelha representa a linha 1:1.

Referências aos Cart e os valores do índice de clorofila em folhas de feijão-caupi são apresentados na Figura 1D. Assim como para os demais pigmentos fotossintéticos, foi o modelo linear que melhor expressou a relação entre a leitura de clorofila e a concentração de Cart nos

tecidos foliares, conforme o coeficiente de determinação de 0,85. Em avaliações realizadas por Brito et al. (2011), os autores observaram coeficiente de determinação de 0,79 para as leituras em medidores portáteis e as concentrações de Cart em cultivo de algodão.

Baseados nas análises de resíduos foram avaliadas a possibilidade dos modelos de regressão ajustados para estimativa não destrutiva dos teores de pigmentos cloroplásticos, a partir de leituras do índice SPAD e teores de pigmentos reais determinados por método analítico. Constatou-se que os resíduos estão bem distribuídos em torno da média e localizados nos limites superiores e inferiores ($média \pm 3DP$), como pode ser observado na dispersão residual dos teores de clorofila Chla, Chlb, Chlt e Cart e, conforme ilustrado na Figura 2, respectivamente.

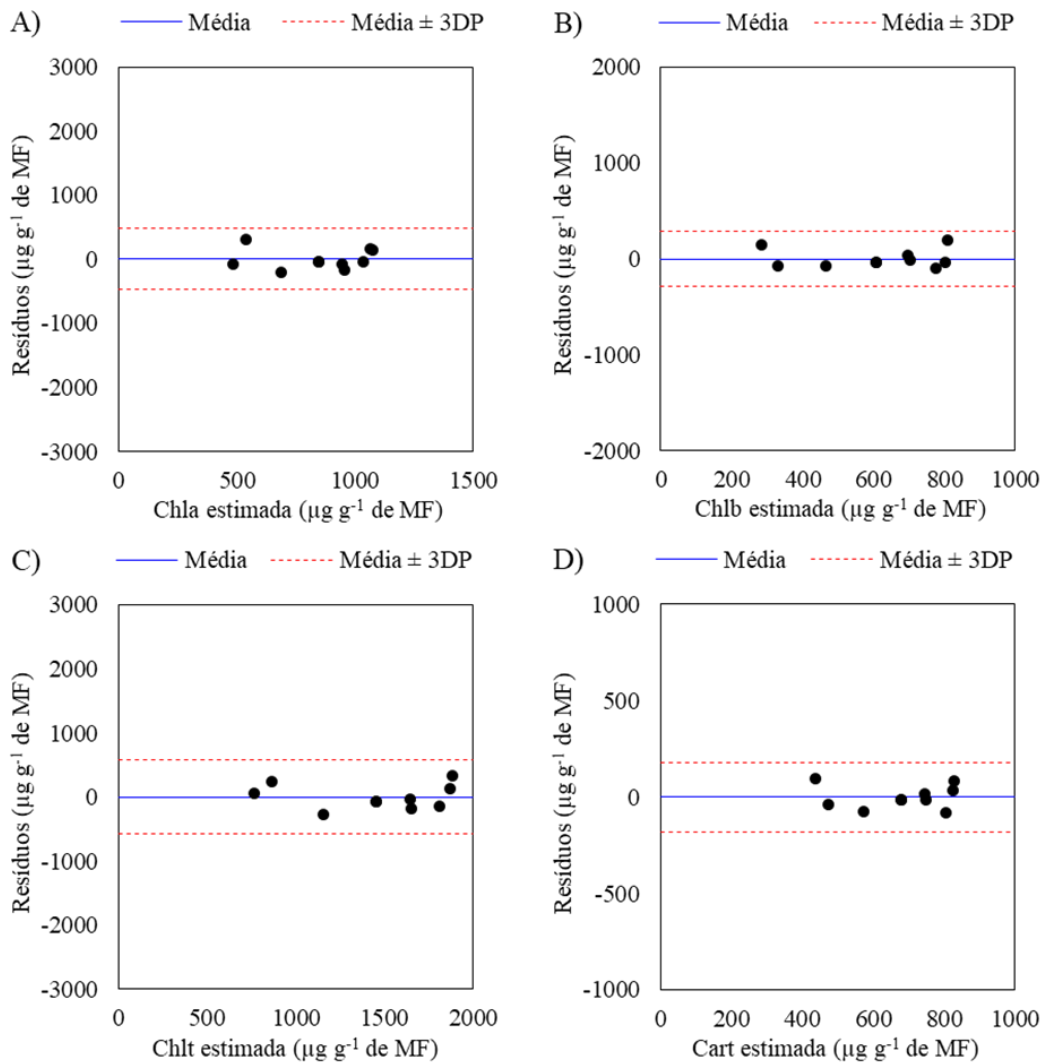


Figura 2. Dispersão residual da relação entre os teores de Chla (A), Chlb (B), Chlt (C) e Cart (D) estimados e observados em folhas de do genótipo pujante de feijão-caupi. MF: matéria fresca.

CONCLUSÃO

O clorofilômetro portátil SPAD pode ser utilizado para estimativa não-destrutiva da concentração dos pigmentos cloroplastídicos em folhas de feijão-caupi para a cultivar BRS Pujante a partir dos modelos ajustados e validados com moderados desempenhos.

REFERÊNCIAS

ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F.; BORTOLINI, C. G.; FORSTHOFER, E. L.; STRIEDER, M. L. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 2, p. 158-167, 2001.

BARMAN, U.; CHOUDHURY, R. D. Smartphone image based digital chlorophyll meter to estimate the value of citrus leaves chlorophyll using Linear Regression, LMBP-ANN and SCGBP-ANN. **Journal of King Saud University - Computer and Information Sciences**, 2020. In Press.

BRITO, G. G.; SOFIATTI, V.; BRANDÃO, Z. N.; SILVA, V. B.; SILVA, F. M.; SILVA, D. A. Non-destructive analysis of photosynthetic pigments in cotton plants. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 33, n. 4, p. 671-678, 2011.

CAHYO, A. N.; MURTI, R. H.; PUTRA, E. T. S.; NURINGTYAS, T. R.; FABRE, D.; MONTORO, P. SPAD-502 and at LEAF CHL PLUS values provide good estimation of the chlorophyll content for Hevea brasiliensis Müll. Arg. Leaves. **Menara Perkebunan**, v. 88, n. 1, p. 1-8, 2020.

CROFT, H.; CHEN, J. M.; WANG, R.; MO, G.; LUO, S.; LUO, X.; HE, L.; GONSAMO, A.; ARABIAN, J.; ZHANG, Y.; SIMIC-MILAS, A.; NOLAND, T. L.; HE Y.; HOMOLOVÁ, L.; MALENOVSKÝ, J.; YI, Q.; BERINGER, J.; AMIRI, R.; HUTLEY, L.; ARELLANO, P.; STAHL, C.; BONALS, D. The global distribution of leaf chlorophyll content. **Remote Sensing of Environment**, v. 236, p. e111479, 2020.

DANCEY, C.; REIDY, J. **Estatística sem matemática para psicologia**. 7. ed. Porto Alegre: Penso, 2019, 596 p.

GOMES, A. M. F.; RODRIGUES, A. P.; ANTÔNIO, C.; RODRIGUES, A. M.; LEITÃO, A. E.; BATISTA-SANTOS, P.; NHANTUMBO, N.; MASSINGA, R.; RIBEIRO-BARROS, A. I.; RAMALHO, J. C. Drought response of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) landraces at

leaf physiological and metabolite profile levels. **Environmental and Experimental Botany**, v. 175, n. 7, p. e104060, 2020.

HORN, L. N.; SHIMELIS, H. Production constraints and breeding approaches for cowpea improvement for drought prone agro-ecologies in Sub-Saharan Africa. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 65, n. 1, p. 83-91 2020.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, p. F4.3.1-F4.3.8, 2001.

RIGON, J. P. G.; BELTRÃO, N. E. M.; CAPUANI, S.; NETO, J. F. B.; 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.

WANG, Y.; JIN, G.; SHI, B.; LIU, Z. Empirical models for measuring the leaf area and leaf mass across growing periods in broadleaf species with two life histories. **Ecological Indicators**, v. 102, p. 289-301, 2019.