

Notas Científicas

Uso do SPAD-502 na avaliação dos teores foliares de clorofila, nitrogênio, enxofre, ferro e manganês do algodoeiro herbáceo

Orlando Sílvio Caires Neves⁽¹⁾, Janice Guedes de Carvalho⁽¹⁾, Fábio Aurélio Dias Martins⁽¹⁾,
Tullio Raphael Pereira de Pádua⁽¹⁾ e Paulo Jorge de Pinho⁽¹⁾

⁽¹⁾Universidade Federal de Lavras, Dep. de Ciência do Solo, Caixa Postal 37, CEP 37200-000 Lavras, MG. E-mail: orlandosilvio@ufla.br, janicegc@ufla.br, fadias@navinet.com.br, trpp2000@yahoo.com.br, pinhopj@yahoo.com.br

Resumo – A aplicação do medidor indireto de clorofila SPAD-502 tem sido estudada para diversas culturas e com resultados satisfatórios, para predição do estado nutricional de nitrogênio. O objetivo deste trabalho foi avaliar o emprego do SPAD-502 na avaliação dos teores foliares de clorofila, N, S, Fe e Mn, em algodão herbáceo, cultivado em casa de vegetação. Foram instalados quatro experimentos, e foram estudadas doses de N (1,5, 7,5, 15 e 22,5 mM L⁻¹), S (0,2, 1, 2 e 3 mM L⁻¹), Fe (10, 50, 100 e 150 μmol L⁻¹) e Mn (10, 50, 100 e 150 μmol L⁻¹), equivalentes em todos os casos a 0,1, 0,5, 1,0 e 1,5 vez a concentração normal da solução Hoagland & Arnon, respectivamente. A clorofila *a* se relaciona mais fortemente com as leituras SPAD do que as clorofilas *b*. As leituras SPAD correlacionaram-se, positivamente, com os teores foliares de N e negativamente com os de S. Os teores foliares de Fe e Mn não apresentaram correlação com as leituras SPAD.

Termos para indexação: clorofilômetro, medida indireta de clorofila, solução nutritiva.

Use of SPAD-502 in the evaluation of chlorophyll contents and nutritional status of herbaceous cotton to nitrogen, sulphur, iron and manganese

Abstract – The application of indirect meter of chlorophyll SPAD-502 has been studied for several cultures and with satisfactory results in evaluation of the nutritional state of nitrogen. This work aimed at evaluating the employment of SPAD-502 in the leaf content analysis of chlorophyll, N, S, Fe and Mn in herbaceous cotton under greenhouse conditions. Four experiments were installed to study doses of N (1.5, 7.5, 15 and 22.5 mM L⁻¹), S (0.2, 1, 2 and 3 mM L⁻¹), Fe (10, 50, 100 and 150 μmol L⁻¹) and Mn (10, 50, 100 and 150 μmol L⁻¹), equivalent in all cases to 0.1, 0.5, 1.0 and 1.5 times the normal concentration of the solution Hoagland & Arnon, respectively. The SPAD index had a better correlation with chlorophyll *a* than with chlorophyll *b*. The SPAD indexes were positively correlated to N leaf content and negatively correlated to S. Leaf contents of Fe and Mn did not correlate to SPAD index.

Index terms: chlorophyll meter, chlorophyll indirect measure, nutrient solution.

A cultura do algodoeiro herbáceo (*Gossypium hirsutum* L. r. *latifolium* Hutch) é responsável por empregar, no campo, aproximadamente 150 mil pessoas, e ocupar 1,71% das propriedades agrícolas do país. No Brasil, a área plantada com algodão vem diminuindo desde 1985, passando de 2,25 milhões de hectares para 0,81 milhão em 2001. Contudo, a produção aumentou em 99,41% nesse mesmo período, e tal efeito foi o reflexo do maior nível de tecnologia utilizado na produção dessa cultura, com o maior uso de adubos e corretivos de acidez dos solos (Embrapa, 2001).

Na avaliação do estado nutricional das plantas, diversos métodos podem ser empregados, entretanto, há de se considerar a rapidez e segurança dos mesmos. O uso de medidas indiretas, para determinar a necessidade de um determinado elemento, como o teor de clorofila na avaliação do estado nutricional de N das plantas, tem sido muito estudado nos últimos anos (Fontes, 2001).

As clorofilas são pigmentos responsáveis pela conversão da radiação luminosa em energia, sob a forma de ATP e NADPH, por essa razão, são estreitamente relacionadas com a eficiência fotossintética das plantas

e, conseqüentemente, ao seu crescimento e adaptabilidade a diferentes ambientes. Presentes nos vegetais superiores, sob as formas *a* e *b*, as clorofilas são constantemente sintetizadas e destruídas, cujos processos são influenciados por fatores internos e externos às plantas. Entre os fatores externos, os nutrientes minerais se destacam, por integrarem a estrutura molecular das plantas, como também por atuarem em alguma etapa das reações que levam à síntese desses pigmentos (Taiz & Zeiger, 2004)

A aplicação do medidor indireto de clorofila Minolta SPAD-502 (Soil Plant Analysis Development) (Minolta, 1989) tem sido estudada para diversas culturas, e com resultados satisfatórios quanto à avaliação do estado nutricional de N (Zotarelli et al., 2003). Entretanto, faz-se necessária a sua calibração para cada cultura e em cada situação. Vários trabalhos têm demonstrado que o SPAD-502 pode ser usado na avaliação indireta do estado nutricional de N e, conseqüentemente, inferir sobre a necessidade de adubação de muitas culturas (Fox et al., 1994). Além de N, outros elementos como o S, Fe e Mn provocam clorose nas folhas, em caso de deficiência, o que evidencia sua importância na síntese de clorofila (Malavolta et al., 1997).

O SPAD fornece leituras que se correlacionam com o teor de clorofila presente na folha. Os valores são calculados pela leitura diferencial da quantidade de luz transmitida pela folha, em duas regiões de comprimento de onda (650 nm e 940 nm), e a absorção de luz pela clorofila ocorre no primeiro comprimento de onda (Swiader & Moore, 2002).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o emprego do SPAD-502 na avaliação dos teores foliares de clorofila, N, S, Fe e Mn, em algodoeiro herbáceo, cultivado em casa de vegetação.

Foram instalados, simultaneamente, quatro experimentos com algodoeiro herbáceo, na casa de vegetação do Dep. de Ciência do Solo, da Universidade Federal de Lavras (Ufla), Lavras, MG, no período de agosto a novembro de 2003. No primeiro, segundo, terceiro e quarto experimentos foram estudadas doses de N (1,5, 7,5, 15 e 22,5 mM L⁻¹), S (0,2, 1, 2 e 3 mM L⁻¹), Fe (10, 50, 100 e 150 μmol L⁻¹) e Mn (1, 5, 10 e 15 μmol L⁻¹), respectivamente, equivalentes, em todos os casos, a 0,1, 0,5, 1,0 e 1,5 vez a concentração normal da solução de Hoagland & Arnon (1950). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com três repetições. Cada parcela era constituída por uma planta, em vaso de 3 L.

As sementes foram germinadas em vermiculita e adaptadas em solução Hoagland a 33% e 50% de sua força iônica normal, permanecendo 10 dias em cada solução. Após esse período, foram aplicados os tratamentos, e as soluções foram mantidas sob aeração constante, e renovadas a cada 15 dias.

Aos 80 dias da instalação dos experimentos, quando as plantas apresentaram flores e frutos, foram realizadas as leituras com o SPAD-502. Após a realização das leituras, coletou-se uma folha de cada planta, de forma que no conjunto total de folhas houvesse uma variação das tonalidades, do verde-amarelado ao verde-escuro intenso. Logo após, foi retirado um disco do limbo central de cada folha, para serem determinados os teores de clorofilas *a*, *b* e total, segundo Holden (1976).

Aos 90 dias de implantados os experimentos, dividiram-se as plantas em três terços (inferior, médio e superior), e foram feitas as leituras SPAD apenas nas folhas dos terços médio e superior. As folhas, das quais se fizeram as leituras SPAD, foram lavadas, secadas em estufa a 70°C até massa constante, moídas e tiveram seus teores de N, S, Fe e Mn determinados, conforme Malavolta et al. (1997).

Foram realizadas análises de correlação entre os resultados dos teores de clorofila *a*, *b* e total, teores de N, S, Fe e Mn, e os resultados das leituras obtidas pelo clorofilômetro.

Os resultados das leituras com o SPAD-502 se correlacionaram, positivamente, com os teores de clorofila *a*, *b* e total, corroborando os resultados de Argenta et al. (2001) para plantas de milho. O nível de significância da correlação, entre a clorofila *a* ($p < 0,01$) e as leituras SPAD, foi menor que o da correlação com a clorofila *b* ($p < 0,05$), o que indica uma maior confiança da correlação da leitura SPAD com a clorofila *a* (Figura 1). Esse resultado pode ser explicado pelo fato de que o segundo pico de absorção, da luz vermelha pela clorofila *a* (663 nm), além de ser maior que o da clorofila *b*, está muito próximo do comprimento de onda emitido pelo SPAD-502 (650 nm). Pode-se afirmar que a maior parte da luz vermelha, emitida pelo aparelho, é absorvida pela clorofila *a*. Portanto, em estudos que visam à calibração desse aparelho, para se obter medidas indiretas de clorofila e avaliação do status nutricional de plantas de algodão herbáceo, devem-se evitar leituras em folhas sombreadas, pois, nelas, o teor de clorofila *b* é proporcionalmente maior do que o de clorofila *a*, quando comparadas com as folhas em pleno sol.

A relação verificada entre a leitura com o SPAD e teor de clorofila extraível, evidencia que as leituras efetuadas com clorofilômetro estimam, adequadamente, o grau de esverdeamento das folhas de algodão herbáceo. Portanto, as leituras efetuadas pelo equipamento podem substituir, com boa precisão, as determinações tradicionais do teor de clorofila para a cultura do algodão herbáceo.

As equações: $y = 0,2485x + 7,1838$; $y = 0,3138x + 12,332$; e $y = 0,5623x + 19,516$ podem ser utilizadas para transformar as leituras SPAD em teores de clorofilas *b*, *a* e total, respectivamente, em plantas de algodoeiro herbáceo. A determinação do teor de clorofila pelo clorofilômetro, apresenta algumas vantagens sobre o método de extração de clorofila, ou seja, a leitura pode ser realizada em poucos minutos, pois o aparelho tem

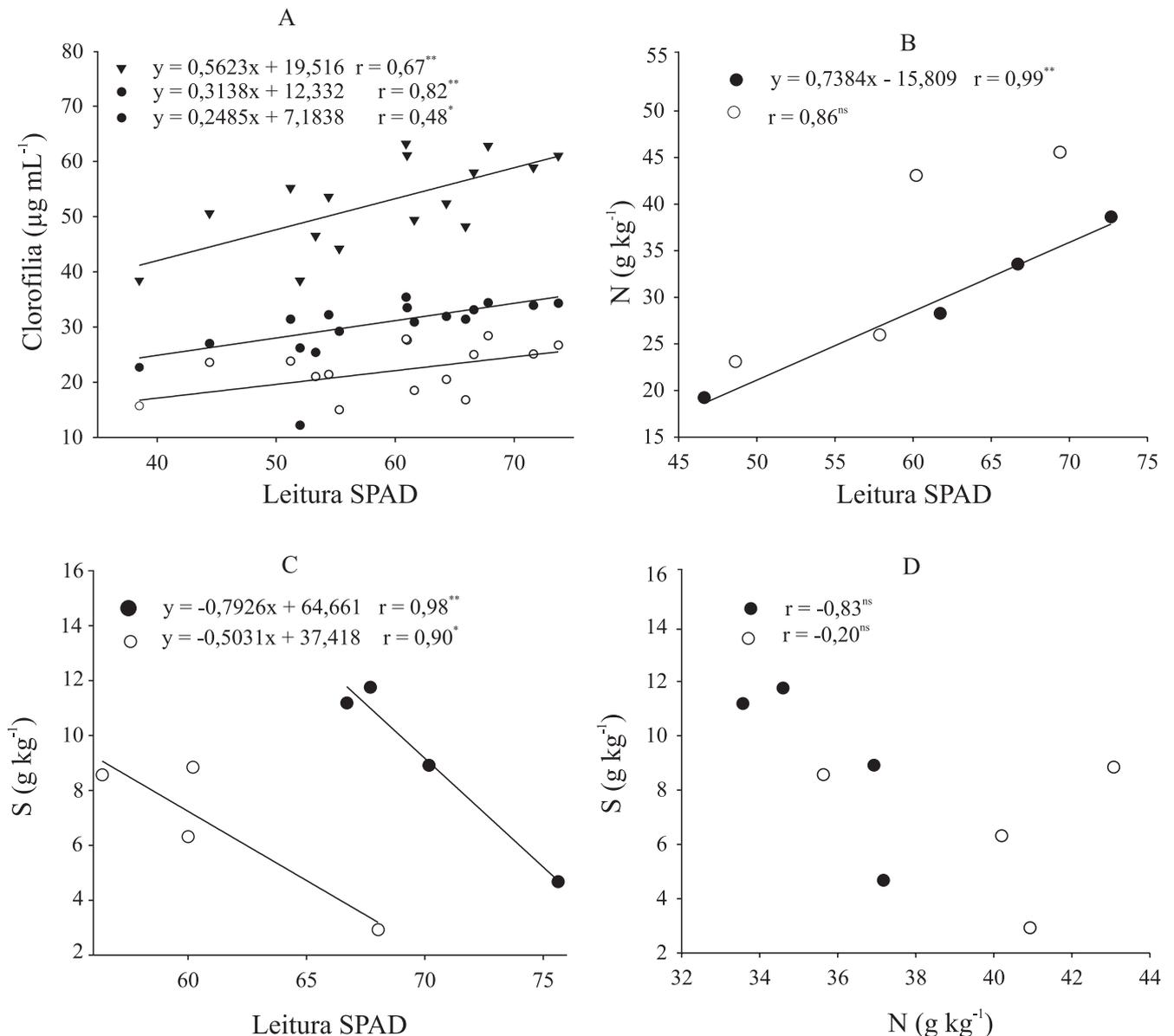


Figura 1. A: Relação entre as leituras SPAD e os teores de clorofilas *a* (\blacktriangledown), *b* (\bullet) e total (\circ); B: relação entre as leituras SPAD e os teores foliares de N nas folhas do terço médio (\bullet) e superior (\circ); C: relação entre as leituras SPAD e os teores foliares de S nas folhas do terço médio (\bullet) e superior (\circ); D: relação entre os teores de S e N nas folhas do terço médio (\bullet) e superior (\circ) de algodoeiro herbáceo. ^{ns}Não-significativo. * e **Significativo a 5% e a 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t.

custo mínimo de manutenção, não há necessidade de envio de amostras para laboratório, o que resulta em economia de tempo e dinheiro, e as leituras podem ser realizadas em quantas amostras forem necessárias, sem implicar a destruição das folhas (Malavolta et al., 1997; Argenta et al., 2001).

A variação nas doses de N, na solução nutritiva, influenciou as leituras obtidas pelo medidor indireto de clorofila, as quais, por sua vez, correlacionaram-se positivamente com os teores foliares de N, e foram significativas no terço médio e não significativas no terço superior (Figura 1). A significância da correlação no terço médio está relacionada com a alta mobilidade do N na planta (Malavolta et al., 1997). A não significância no terço superior indica que o N, redistribuído, foi suficiente na manutenção da atividade metabólica das folhas mais novas, sem grandes prejuízos às moléculas de clorofila. Entretanto, pelo alto coeficiente de correlação ($r = 0,86$), e em situações onde o N disponível para as plantas seja restrito, também o terço superior poderá ser indicado na obtenção da leitura SPAD. Porém, como o objetivo do uso do SPAD é diagnosticar carência do elemento, de forma rápida (Fahrurrozi & Stewart, 2001), ou seja, antes que seus sintomas visuais sejam detectados, a leitura obtida no terço médio é mais segura na avaliação do estado nutricional de N, em algodoeiro herbáceo.

A transformação da leitura SPAD, por meio da equação $y = 0,7384x - 15,809$, é um bom indicativo do teor de N em folhas de algodoeiro, desde que localizado no terço médio, e desde que o resultado seja expresso em $g\ kg^{-1}$. Essa transformação não deve ser feita em condições diferentes das que foram desenvolvidas neste trabalho.

As leituras SPAD correlacionaram-se, significativamente, com os teores de S obtidos nas folhas, pela análise química, em ambos os terços (médio e superior). Entretanto, o que não se esperava é que essa correlação fosse negativa (Figura 1). A explicação desse comportamento, assim como o da Figura 1D, é a de que em concentrações maiores de S nas folhas, em ambos os terços, as concentrações de N apresentaram tendência a serem reduzidas, provavelmente em decorrência da competição entre os dois elementos, durante a absorção ou translocação.

Durante a fase experimental, não se observaram sintomas visuais de deficiência ou de excesso de enxofre. No caso da manifestação de sintomas de deficiência de S, espera-se que a correlação no terço superior seja positiva, pois a mesma se caracteriza por clorose que se inicia nas folhas mais novas.

Os teores de Fe e Mn, determinados na matéria seca do algodoeiro, não apresentaram correlação significativa com as medidas obtidas pelo clorofilômetro, tanto no terço médio ($r = 0,21$ e $r = 0,46$, respectivamente) quanto no terço superior ($r = 0,57$ e $r = -0,02$, respectivamente) das plantas.

A deficiência, tanto de Fe como de Mn, causa sintomas (clorose) associados à alterações nas moléculas da clorofila, uma vez que esses nutrientes estão ligados à constituição dos grupamentos heme, que são essenciais na constituição das moléculas de clorofila (Malavolta, 1997). Porém, tais sintomas manifestam-se tardiamente, quando as plantas já estão bastante danificadas. Assim, o SPAD-502 não foi eficiente na predição do estado nutricional de Fe e Mn para o algodoeiro herbáceo.

As leituras SPAD realizadas nos dois terços das plantas, para ambos os experimentos (doses de Fe e doses de Mn), foram menores no terço superior do que aquelas obtidas no terço médio, o que indica uma baixa redistribuição desses nutrientes na planta. O mesmo comportamento foi verificado em relação à concentração na matéria seca. Assim, no terço superior, tanto o Mn quanto o Fe já se apresentavam restritos para a planta, em comparação ao terço médio, entretanto, naquele nível de deficiência, os sintomas visuais não se manifestaram e a correlação com as leituras SPAD não foram significativas.

O clorofilômetro SPAD-502 possibilita uma rápida e eficaz estimativa do teor de clorofila em folhas de algodoeiro herbáceo, e os teores de clorofila *a* se correlacionam mais fortemente com suas leituras do que os teores de clorofila *b*.

As leituras SPAD correlacionam-se, positivamente, com os teores foliares de N e, negativamente, com os teores de S. Assim, a avaliação do estado nutricional de N no algodoeiro herbáceo pode ser feita pelas medidas obtidas pelo SPAD-502, nas folhas do terço médio da planta. O estado nutricional do algodoeiro, em relação ao Mn e ao Fe, não apresenta correlação significativa com as leituras SPAD, tanto no terço médio, quanto no terço superior. Assim, a avaliação precoce da exigência de Mn e Fe pelo algodoeiro através do SPAD necessita de mais estudos.

Agradecimento

Ao CNPq, pelas bolsas concedidas a Orlando Silva Caires Neves e Janice Guedes de Carvalho.

Referências

- ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F. da; BARTOLINI, C.G.; FORSTHOFER, E.L.; STRIEDER, M.L. Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e nitrogênio nas folhas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.13, p.158-167, 2001.
- EMBRAPA AGROPECUÁRIA DO OESTE. **Algodão: tecnologia de produção**. Dourados: Embrapa Agropecuária do Oeste; Campina Grande: Embrapa Algodão, 2001. 296p.
- FAHRURROZI, A.; ATEWART, K.A. Relationships between extractable chlorophyll and SPAD values in muskmelon leaves. **Journal of Plant Nutrition**, v.24, p.961-966, 2001.
- FONTES, P.C.R. **Diagnóstico do estado nutricional de plantas**. Viçosa: UFV, 2001. 122p.
- FOX, R.H.; PIEKIELER, W.P.; MACNEAL, K.M. Using a chlorophyll meter to predict nitrogen fertilizer needs of winter wheat. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.25, p.171-181, 1994.
- HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. **The water culture method of growing plants without soil**. Berkeley: University of California, 1950. 32p.
- HOLDEN, M. Chlorophylls. In: GOODWING, T.W. **Chemistry and biochemistry of plant pigments II**. 2nd ed. New York: Academic Press, 1976. v.2, p.2-37.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**. 2.ed. Piracicaba: Potafos, 1997. 319p.
- MINOLTA, C. **Manual for chlorophyll meter SPAD-502**. Osaka: Minolta Radiometric Instruments Divisions, 1989. 22p.
- SWIADER, J.M.; MOORE, A. SPAD - chlorophyll response to nitrogen fertilization and evaluation of nitrogen status in dryland and irrigated pumpkins. **Journal of Plant Nutrition**, v. 25, p.1089-1100, 2002.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.ed. Trad. de E.R. Santarém. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.
- ZOTARELLI, L.; CARDOSO, E.G.; PICCINI, J.L.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R.M.; TORRES, E.; ALVES, B.J.R. **Calibração do medidor de clorofila Minolta SPAD-502 para uso na cultura do milho**. Rio de Janeiro: Embrapa Agrobiologia, 2002. 4p. (Comunicado técnico, 55).

Recebido em 11 de agosto de 2004 e aprovado em 15 de dezembro de 2004