



Medidor SPAD-502 em utilização na cultura do milho.

Calibração do Medidor de Clorofila Minolta SPAD-502 para Uso na Cultura do Milho

Lincoln Zotarelli^{1;2}
Eduardo Garcia Cardoso²
Jorge Luiz Piccinin²
Segundo Urquiaga³
Robert Michael Boddey³
Eleno Torres²
Bruno José Rodrigues Alves³

A clorofila é um pigmento que reflete a cor verde nas plantas e está diretamente associado com o potencial da atividade fotossintética, assim como o estado nutricional das plantas geralmente está diretamente associado com a qualidade e quantidade de clorofila. A determinação da clorofila é tradicionalmente realizada pela extração dos solutos foliares e posterior determinação espectrofotométrica, utilizando comprimentos de onda na região do vermelho do espectro de luz visível (Rajcan et al., 1999).

O medidor de clorofila Minolta SPAD-502 é utilizado na quantificação da clorofila, caracterizando-se pela rapidez, simplicidade e principalmente por possibilitar uma avaliação não destrutiva do tecido foliar.

A intensidade da cor verde da folha é detectada pelo aparelho através da quantidade de luz de comprimentos de onda da região do vermelho e do infravermelho que são transmitidas pela folha. A quantidade de luz vermelha absorvida indica a quantidade de clorofila, enquanto que a

quantidade de luz absorvida próximo ao infravermelho serve como uma referência interna na compensação da espessura da folha e conteúdo de água. A concentração de N, de clorofila e as leituras fornecidas pelo SPAD-502 estão fortemente correlacionadas (Wood et al., 1992; Waskon et al., 1996; Schröder et al., 2000). A deficiência de N é imediatamente refletida em baixas concentrações de clorofilas as quais são registradas nas leituras do SPAD-502.

Na literatura existem algumas divergências quanto ao melhor modelo de ajuste que correlacione as leituras do SPAD-502 com os conteúdos de clorofila da folha de espécies vegetais diferentes, e mesmo de uma mesma espécie (Markwell et al., 1995; Argenta et al., 2001). Dessa forma, recomenda-se que cada aparelho seja calibrado independentemente, com as extrações de clorofila da cultura de interesse.

Para o caso da cultura do milho, foi feito um estudo com plantas cultivadas no campo

¹ Doutorando Ciência do Solo, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica 23.890-000, RJ, lincoln@cnpso.embrapa.br;

² Embrapa Soja, Caixa Postal 231, CEP 86.001-970, Londrina, PR, egarcia@cnpso.embrapa.br; piccinin@cnpso.embrapa.br; eleno@cnpso.embrapa.br;

³ Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ, urquiaga@cnpab.embrapa.br; bob@cnpab.embrapa.br; bruno@cnpab.embrapa.br.

experimental da Embrapa Soja, nas safras de 2000/01 e 2001/02 no sistema de plantio direto. Os híbridos de milho utilizados foram Cargill 3023 e Pioneer 3041 para cada safra, respectivamente. Na determinação da correlação entre o conteúdo de clorofila e os valores registrados pelo medidor Minolta SPAD-502, nos dois genótipos de milho em estudo no campo, foram coletadas diversas folhas de plantas cujas tonalidades variavam de verde-amarelado a verde-escuro intenso. Com o auxílio de um vazador circular de área equivalente a 346 mm² foram retirados círculos de tecido vegetal das folhas. Imediatamente, foram realizadas as leituras em cada círculo com o SPAD-502. O valor da leitura de cada círculo foi composto pela média aritmética de seis repetições. Em seguida, todos os círculos foram analisados para o conteúdo de clorofila.

Para a análise da clorofila, fez-se uma avaliação dos solventes utilizados no processo de extração. Compararam-se os resultados dos extratores acetona 80% e N,N-dimetilformamida (DMF). Para isso, os discos da folha de milho foram acondicionados em frascos protegidos da luz e imersos individualmente em 25 ml de cada extrator. As amostras extraídas em acetona foram mantidas sob refrigeração (8°C), enquanto que as amostras extraídas em DMF foram mantidas em temperatura ambiente. Os extratos foram analisados em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 647 e 663 nm, aos 72 e 104 horas após a extração. Na avaliação do tempo necessário de extração da clorofila, para cada extrator não foram observadas diferenças significativas no conteúdo de clorofila extraído após o período de 72 e 104 horas, deste modo, considerou-se suficiente o tempo de extração de 72 horas. Os discos do limbo foliar tratados com DMF, após 72 horas, se apresentavam totalmente despigmentados, enquanto os discos tratados com acetona, apresentavam alguns pontos com pigmentação verde, indicando uma menor eficiência de extração da acetona 80% em relação ao DMF.

As relações entre as leituras do SPAD 502 e a concentração de clorofila total (a + b), mostraram que a extração com DMF apresentou menor variabilidade e maior sensibilidade ($R^2 = 0,88^{***}$), que a acetona 80% ($R^2 = 0,66^{***}$) (Figura 1).

Com o uso do extrator DMF, os valores de clorofila total foram ajustados aos modelos lineares de primeira e de segunda ordem, Figuras 1B e 1D.

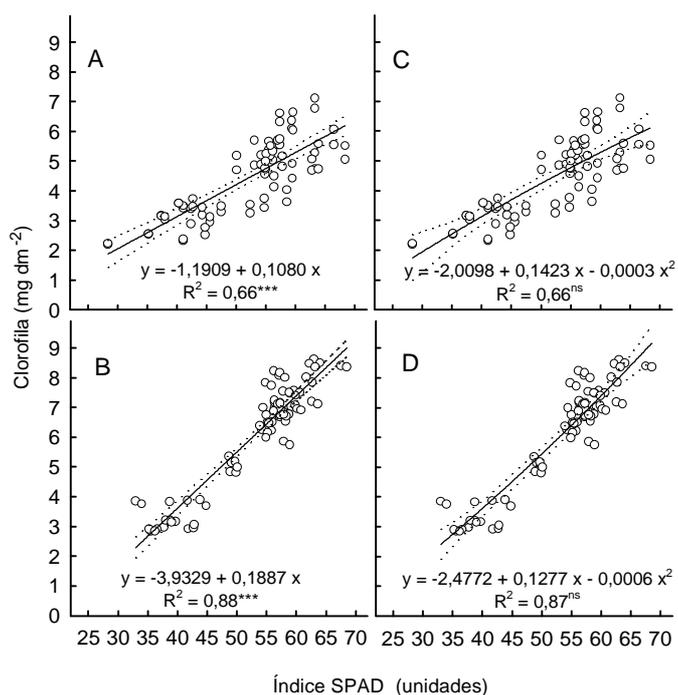
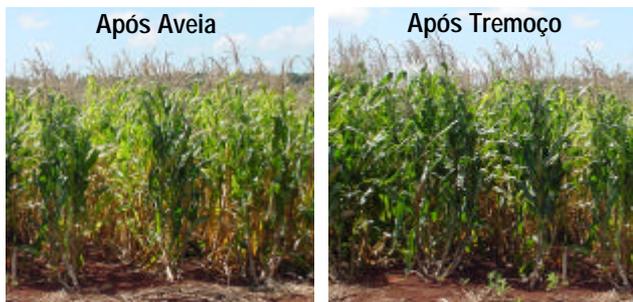


Figura 1. Relação entre os registros do SPAD-502 e clorofila total (mg dm⁻²) nas folhas de milho extraídos com Acetona 80% A e C e com N,N-Dimetilformamida (DMF) B e D, ajustados ao modelo polinomial de primeira ordem (A e B) e ao modelo polinomial de segunda ordem (C e D). As linhas pontilhadas representam o intervalo de confiança a 5% de probabilidade. ns – não significativo e *** significativo a 0,1%.

Durante o período reprodutivo (fase que se caracteriza pela redistribuição de nutrientes e enchimento de grãos) para avaliar o conteúdo de clorofila foliar médio nas plantas de milho, crescidas após tremçoço (*Lupinus albus*) e após aveia preta (*Avena strigosa*), em sistema de plantio direto, utilizou-se o SPAD. As plantas de milho que cresceram após a leguminosa apresentaram maior teor de N nas folhas (Tabela 1), e apresentaram uma produtividade

de 8,5 Mg ha⁻¹, contra uma produtividade de 5,2 Mg ha⁻¹, após aveia.



Plantas de milho sob plantio direto sobre resíduos de aveia e sobre resíduos de tremoço.

As leituras das folhas de milho com o medidor de clorofila SPAD mostraram o mesmo comportamento observado em relação ao teor de N nas folhas, conseqüentemente, o teor de clorofila determinado pela equação “Clorofila (mg dm⁻²) = -3,9329 + 0,1887 SPAD (leitura)”, obtida a partir do extrator DMF, também reproduziu as diferenças entre as plantas de milho, sobre os resíduos dos adubos verdes (Tabela 1).

Tabela 1. Avaliação das leituras do SPAD, N foliar, e quantidade de clorofila do milho⁽¹⁾.

Cultura antecessora	N (%)	Leitura SPAD (unidades)	Clorofila DMF ⁽²⁾ (mg dm ⁻²)
Tremoço	2,54±0,08a	56,03±1,72a	4,95±0,18 ^a
Aveia	2,08±0,04a	48,00±1,03b	4,08±0,11b

(1) Valor médio ± erro padrão da média. Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste t de Student.

(2) Clorofila extraída com N,N-Dimetilformamida.

Conclusões

1. medidor de clorofila Minolta SPAD-502 possibilita uma rápida e eficaz estimativa do conteúdo de clorofila foliar, o que permite a avaliação do “status” de N nas plantas.
2. A solução de DMF foi mais eficiente na extração da clorofila do tecido foliar do milho do que a acetona 80%.
3. A correlação entre as leituras do SPAD-502 e os conteúdos de clorofila nas folhas de milho foi melhor ajustada pelo modelo linear, podendo ser utilizada a equação: Clorofila (mg dm⁻²) = -3,9329 + 0,1887 SPAD (leitura).

Referências Bibliográficas

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

MARKWELL, J., OSTERMAN, J.C.; MITCHELL, J.L. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. **Photosynthesis Research**, Dordrecht, v. 46, p. 467-472, 1995.

RAJCAN, I.; DWYER, L. TOLLENAAR, M. Note on relationship between leaf soluble carbohydrate and chlorophyll concentrations in maize during leaf senescence. **Field Crops Research**, Madison, v. 63, p.13-17, 1999.

SCHRÖDER, J.J., NEETESON, J.J, OENEMA, O., STRUIK, P.C. Does the crop or the soil indicate how to save nitrogen in maize production? Reviewing the state of the art. **Field Crops Research**, Madison, v.66, p.151-164, 2000.

WASKON, R.M. WESTFALL, D.G. SPELLMAN, D.E. SOLTANPOUR, P.N. Monitoring nitrogen status of corn with a portable chlorophyll meter. **Communications of Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 27, p. 545-560, 1996.

WOOD, C.W., REEVES, D.W., DUFFIELD, R.R., EDMISTEN, K.L. Field chlorophyll measurements for evaluation of corn nitrogen status. **Journal of Plant Nutrition**, Athens, v.15, p. 487-500, 1992.

Comunicado Técnico, 55

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO



Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Agrobiologia

BR465 – km 47
Caixa Postal 74505
23851-970 – Seropédica/RJ, Brasil
Telefone: (0xx21) 2682-1500
Fax: (0xx21) 2682-1230
Home page: www.cnpab.embrapa.br
e-mail: sac@cnpab.embrapa.br

1ª impressão (2002): 50 exemplares

Comitê de publicações

José Ivo Baldani (Presidente)
José Antônio Ramos Pereira
Marcelo Grandi Teixeira
Robert Michael Boddey
Segundo Sacramento Urquiaga Caballero
Verônica Massena Reis
Dorimar dos Santos Felix (Bibliotecária)

Expediente

Revisor e/ou ad hoc: José Antônio Espíndola
Normalização Bibliográfica: Dorimar dos Santos Félix
Editoração eletrônica: Marta Maria Gonçalves Bahia