

Rio de Janeiro, RJ  
Dezembro, 2009

### Autores

**José Ronaldo de Macedo**  
Pesquisador Embrapa Solos.  
Rua Jardim Botânico, 1024.  
Rio de Janeiro, RJ.  
jrmacedo@cnps.embrapa.br

**Luciana da C. Rios**  
Bolsista Embrapa Solos.  
luciana\_rios@ig.com.br

**Daniel Vidal Pérez**  
Pesquisador Embrapa Solos.  
daniel@cnps.embrapa.br

**Isaac Volschan Júnior**  
Professor da Escola Politécnica UFRJ, Cidade Universitária, Centro de Tecnologia bloco D, sala 204 - Rio de Janeiro, RJ. E-mail: volschan@poli.ufrj.br

## Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de nutrientes na folha de milho

### Introdução

O SPAD (Soil Plant Analysis Development) fornece resultados calculados com base na leitura diferencial da quantidade de luz transmitida pela folha em duas regiões de comprimento de onda (650 nm e 940 nm), sendo que a absorção de luz pela clorofila ocorre no primeiro comprimento de onda (MINOLTA, 1989). Várias pesquisas têm demonstrado que a aplicação de medidas indiretas de clorofila, notadamente o uso do clorofilômetro SPAD-502 da Minolta, correlaciona-se bem com o teor de clorofila (*a*, *b* ou total) em várias culturas (ARGENTA et al., 2001; NETTO et al., 2002; NEVES et al., 2005). Como mais da metade do nitrogênio total (N) na folha está associada a compostos presentes nos cloroplastos (CHAPMAN; BARRETO, 1997), é de se esperar que as medidas obtidas pelo clorofilômetro também se correlacionem com o estado nutricional de N na planta, o que vem sendo observado por vários autores e para várias culturas (FONTES; RONCHI, 2002; GODOY et al., 2003; SILVEIRA et al., 2003; ARGENTA et al., 2004).

No entanto, se a variação de N for pequena, espera-se que outras deficiências nutricionais possam reduzir a concentração de clorofila na folha ou diminuir a eficiência fotoquímica dos cloroplastos, incrementando a reflectância e transmitância da folha e diminuindo sua absorvância (MASONI et al., 1996; HENRIQUES, 2004; LANGE et al., 2005). Dentre os elementos considerados nutrientes, destacam-se os estudos a respeito da deficiência de Fe e Mn, visto que esses metais participam de importantes núcleos proteicos relacionados ao fotossistema I e II, respectivamente (JANOSSY et al., 1977; HOJ; MOLLER, 1986; XU; BRICKER, 2002). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto do estado nutricional de uma cultura de milho, que apresenta pequena variação no conteúdo de nitrogênio total, sobre as leituras espectrais de suas folhas.

### Material e Métodos

O experimento que serviu de base para o presente estudo derivou de um trabalho de pesquisa desenvolvido pelo Centro Experimental de Tratamento de Esgotos (CETE) da Escola Politécnica da UFRJ, dentro do Edital MCT/PROSAB, a fim de avaliar o impacto, em um solo degradado, do uso de 5 diferentes tipos de efluentes de uma estação de tratamento de esgoto na fertirrigação de milho. Para isso, foram testadas as águas residuárias derivadas dos tratamentos discriminados abaixo:

1. Tratamento primário (DPC) que objetiva, principalmente, remover sólidos em suspensão sedimentáveis e sólidos flutuantes. Parte dos sólidos em suspensão sedimentados é de natureza orgânica, o que conseqüentemente resulta na redução da carga orgânica afluyente ao tratamento secundário;
2. Tratamento Primário Quimicamente Assistido (CEPT), que é baseado na remoção de sólidos em suspensão por meio dos processos físico-químicos ou físicos e químicos de coagulação, floculação e sedimentação;
3. Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente (UASB), que é uma tecnologia de tratamento biológico de esgotos baseada na decomposição anaeróbia da matéria orgânica.

4. Filtro Biológico Anaeróbio (FBP), onde a matéria orgânica é estabilizada biologicamente pela ação de organismos aeróbios que apresentam capacidade de aderência a um meio suporte inerte (pedras e plástico);

5. Lagoa de Estabilização Facultativa (LF), em que a disponibilidade de nutrientes e da energia luminosa da radiação solar possibilita a produção fotossintética de algas, e conseqüentemente, a produção do oxigênio necessário aos organismos aeróbios dispersos no meio líquido e decompositores da matéria orgânica solúvel e finamente particulada. A matéria orgânica particulada sedimenta-se ao fundo da unidade e é estabilizada anaerobiamente.

O tratamento testemunha se baseou na irrigação com a água fornecida pela Companhia de Águas e Esgotos do Rio de Janeiro (CEDAE) e pela fertilização mineral conforme o Manual de Adubação do Rio de Janeiro (ALMEIDA et al., 1988). Neste contexto, o delineamento experimental foi de blocos ao acaso com três repetições. Foram construídos, então, 18 canteiros de 1,60 x 2,20 m<sup>2</sup>, os quais foram preenchidos com amostras de terra coletadas de um horizonte B de um Argissolo Vermelho-Amarelo localizado em Itaboraí (RJ). As principais propriedades físicas e químicas desse solo encontram-se na Tabela 1. A acidez foi corrigida pela aplicação de calcário PRNT 100% na dose de 2,8 Mg ha<sup>-1</sup>. O híbrido de milho cultivado foi o BR205 no espaçamento de 5 a 7 sementes por metro linear, sendo adotadas as práticas culturais normais para a cultura.

Após o primeiro ciclo da cultura do milho, no período de novembro de 2004 e fevereiro de 2005, observou-se que os teores de nitrogênio foliar total apresentaram uma pequena variação entre os tratamentos (16,8 a 21,7 g kg<sup>-1</sup>). Desta forma, o uso do clorofilômetro, SPAD-502 da Minolta, foi viabilizado no segundo ciclo da cultura, que ocorreu no período de julho a outubro de 2005, como forma de avaliar o impacto de outros nutrientes no comportamento espectral das folhas do milho.

As folhas foram amostradas para fins de diagnose nutricional de acordo com Malavolta et al. (1989). Contudo, antes de serem colhidas, foram realizadas, aleatoriamente, oito leituras de SPAD-502 por planta. Depois, as folhas em que se usou o SPAD-502 foram lavadas com água deionizada, secas em estufa de circulação de ar a temperaturas entre 65 e 70°C, sendo, por fim, finamente moídas em moinho IKA modelo A11.

Após digestão nitro-perclórica, as folhas de milho foram analisadas quanto à concentração total de Ca, Mg, Al, Mn, Fe, Zn e Cu por espectrometria de plasma (ICP-OES), Na e K por fotometria de chama, e P por espectrofotometria molecular. O nitrogênio total foi obtido após digestão sulfúrica e destilação por Kjeldahl. Todos os métodos seguiram os protocolos apresentados por Carmo et al. (2000).

No final do experimento, amostras de terra foram coletadas nas profundidades de 0-10 e 10-20 cm. Os parâmetros químicos analisados, a saber: pH em água, capacidade de troca catiônica (CTC), carbono orgânico (C.org.), nitrogênio (N), micronutrientes (Fe, Mn, Zn, Cu) extraídos por solução DTPA, foram determinados conforme Embrapa (1997). Os dados obtidos foram analisados, estatisticamente, usando-se o Statistical Analysis System (SAS, 2003). Para resultados estatisticamente significativos obtidos pelo teste F, foram aplicados o teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, a fim de se classificar as médias de tratamentos.

## Resultados e Discussão

Como se pode observar na Tabela 2, não houve alterações significativas na maioria das propriedades do Argissolo Vermelho-Amarelo determinadas nas duas profundidades, sendo os resultados observados corroborados pelos de Ramirez-Fuentes et al. (2002), que sugerem que vários anos são necessários para se obter uma resposta, melhor dizer modificações nos atributos físicos e químicos do solo, frente à fertirrigação. Com isso, tem-se que as condições de crescimento das plantas, no geral, foram uniformes, o que, provavelmente, facilitou a avaliação de possíveis alterações na leitura do SPAD-502.

Os resultados de correlação entre as leituras do SPAD-502 com os teores foliares de N, P, Ca, Mg, Na, K, Al, Mn, Fe, Zn e Cu encontram-se na Tabela 3. Não foi observada correlação significativa com o teor de N, o que, provavelmente, está relacionada à estreita margem de variação do mesmo, entre 18,0 e 21,5 g kg<sup>-1</sup> (Tabela 4), apesar de existirem diferenças significativas entre os tratamentos estudados, consequência direta da diferença da carga orgânica inerente a cada tipo de água residual. Parvizi et al. (2004) e Neves et al. (2005) já tinham observado que, para trigo e algodão herbáceo, respectivamente, o maior efeito na variação das leituras de um clorofilômetro estava diretamente relacionado a maior variação de N, em detrimento de outros elementos, tais como o Fe e Mn. Desta maneira, demonstra-se

que a premissa inicial do trabalho, de estudar o efeito de outros nutrientes nas leituras do SPAD-502, sem a interferência do N, foi conseguida (Tabela 4). Neste contexto, foi observada correlação positiva e significativa para o P, Zn e Mn (Tabela 3). No entanto, o Mn foi o que apresentou o maior coeficiente, o que indica um maior grau de correlação com a variável estudada (Tabela 3, Figura 1). Os teores de Mn estão bem abaixo, quase à metade, daquele considerado adequado por Büll (1993) para a cultura do milho (Tabela 4). Este resultado é corroborado pelos trabalhos de Singh et al. (2001), Henriques (2004) e Shenker et al. (2004) que encontraram correlação significativa entre a deficiência de manganês e a diminuição do conteúdo ou da eficiência fotoquímica da clorofila, estudando, respectivamente, hortelã, pecã e tomate. A deficiência de Mn causa sintomas (clorose) associados a alterações nas moléculas da clorofila, uma vez que este metal está ligado aos sistemas responsáveis pela oxidação da água e evolução, consequente, de oxigênio (BARBER, 2003; YI et al., 2005).

## Conclusões

1. Os efluentes usados não promoveram alterações nas propriedades do Argissolo Vermelho-Amarelo estudadas nas profundidades de 0-10 e 10-20 cm;
2. O SPAD-502 foi eficiente na predição do estado nutricional de Mn para o milho, em condições de baixa variação do teor foliar de nitrogênio.

## Agradecimentos

Ao CNPq e FAPERJ, pela bolsa de pesquisa concedida; e ao MCT/FINEP, pelo suporte financeiro da pesquisa através do Edital 4 do PROSAB.

## Referências

ALMEIDA, D. L. de; SANTOS, G. DE A.; DE-POLLI, H.; CUNHA, L. H.; FREIRE, L. R.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B. do; PEREIRA, N. N. C.; EIRA, P. A. da; BLOISE, R. M.; SALEK, R. C. **Manual de adubação para o Estado do Rio de Janeiro**. Itaguaí: UFRRJ, 1988. 179 p.

ARGENTA, G.; SIOLVA, 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 de nitrogênio na folha de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 2, p. 158-167, 2001.

ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F. da; SANGARE, L. Teor relativo de clorofila na folha como parâmetro indicativo para predição da necessidade de adubação nitrogenada em milho. **Ciência Rural**, v. 34, n. 5, p. 1379-1387, 2004.

BARBER, J. Photosystem II: the engine of life. **Quarterly Reviews of Biophysics**, v. 36, n. 1, p. 71-89, 2003.

BÜLL, L. T. Nutrição mineral do milho. In: BÜLL, L. T.; CANTARELLA, H. (Ed.). **Cultura do milho: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: Potafos, 1993. p.63-145.

CARMO, C. A. F. de S. do; ARAÚJO, W. S. de; BERNARDI, A. C. de C.; Saldanha, M. F. C. **Métodos de análise de tecidos vegetais utilizados na Embrapa Solos**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2000. 41 p. (Embrapa Solos. Circular Técnica, 6).

CHAPMAN, S. C.; BARRETO, H. J. Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. **Agronomy Journal**, v. 89, p. 557-562, 1997.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1997. 212 p.

FONTES, P. C. R.; RONCHI, C. P. Níveis críticos de índices de nitrogênio no tomateiro em solo e solução nutritiva determinados por diferentes procedimentos estatísticos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 10, p. 1421-1429. 2002.

GODOY, L. J. G.; VILLAS BOAS, R. L.; BULL, L. T. Utilização da medida do clorofilômetro no manejo da adubação nitrogenada em plantas de pimentão. **Revista Brasileira de Ciência de Solo**, v. 27, p. 1049-1056, 2003.

- HENRIQUES, F. S. Reduction in chloroplast number accounts for the decrease in the photosynthetic capacity of Mn-deficient pecan leaves. **Plant Science**, v. 166, p. 1051-1055, 2004.
- HOJ, P. B.; MOLLER, B. L. The 110-kDa reaction center protein of Photosystem I, P700-chlorophyll a-Protein 1, is an iron-sulfur protein. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 261, n. 30, p.14292-14300, 1986.
- JANOSSY, A. G.; MUSTARDY, L. A.; FALUDI-DANIEL, A. X-ray microanalytical study of Mn and Fe compartmentation in maize chloroplasts. **Acta Histochemica**, v. 58, n. 2, p.317-323, 1977.
- LANGE, A.; MARTINES, A. M.; SILVA, M. A. C. da; SORREANO, M. C. M.; CABRAL, C. P.; MALAVOLTA, E. Efeito de deficiência de micronutrientes no estado nutricional da mamoneira cultivar Iris. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 1, p. 61-67, 2005.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. de. **Avaliação do estado nutricional das plantas**. Piracicaba: Potafos, 1989. 201 p.
- MASONI, A.; ERCOLI, L.; MARIOTTI, M. Spectral properties of leaves deficient in iron, sulfur, magnesium and manganese. **Agronomy Journal**, v. 86, n. 6, p.937-94, 1996.
- MINOLTA, C. **Manual for chlorophyll meter SPAD-502**. Osaka (Japão): Minolta Radiometric Instruments Divisions, 1989. 22p.
- NEVES, O.S.C.; CARVALHO, J.G. de; MARTINS, F.A.D.; PÁDUA, T.R. da; PINHO, P.J. Uso do SPAD-502 na avaliação dos teores foliares de clorofila, nitrogênio, enxofre, ferro e manganês do algodoeiro herbáceo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.5, p.517-521, 2005.
- PARVIZI, Y.; RONAGHI, A.; MAFTOUN, M.; KARIMIAN, N.A. Growth, nutrient status, and chlorophyll meter readings in wheat as affected by nitrogen and manganese. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 35, n. 9-10, p.1387-1399, 2004.
- NETTO, A. T.; CAMPOSTRINI, E.; OLIVEIRA, J. G.; YAMANISHI, O. K. Portable chlorophyll meter for the quantification of photosynthetic pigments, nitrogen and the possible use for assessment of the photochemical process in *Carica papaya* L. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 14, n. 3, p.203-210, 2002.
- RAMIREZ-FUENTES, E.; LUCHO-CONSTANTINO, C.; ESCAMILHA-SILVA, E. DENDROVEN, L. Characteristics, and carbon and nitrogen dynamics in soil irrigated with wastewater for different lengths of time. **Bioresource Technology**, v. 85, p.179-187, 2002.
- SAS. **SAS System for Windows, v.9**. Cary: SAS Institute Inc., 2003. CD-ROM.
- SHENKER, M.; PLESSNER, O. E.; TEL-OR, E. Manganese nutrition effects on tomato growth, chlorophyll concentration, and superoxide dismutase activity. **Journal of Plant Physiology**, v. 161, n. 2, p.197-202, 2004.
- SILVEIRA, P. M. da; BRAZ, A. J. B. P.; DIDONET, A. D. Uso do clorofilômetro como indicador da necessidade de adubação nitrogenada em cobertura no feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 9, p.1083-1087, 2003.
- SINGH, P.; MISRA, A.; SRIVASTAVA, N. K. Influence of Mn deficiency on growth, chlorophyll content, physiology and essential monoterpene oil in genotypes of spearmint (*Mentha spicata*, L.). **Photosynthetica**, v. 39, n. 3, p.473-476, 2001.
- XU, Q.; BRICKER, T. M. Structural organization of proteins on the oxidizing side of Photosystem II. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 267, n. 36, p. 25816-25821, 2002.
- YI, X.; MCCHARGUE, M.; LABORDE, S.; FRANKEL, L. K.; BRICKER, T. M. The manganese-stabilizing protein is required for photosystem ii assembly/stability and photoautotrophy in higher plants. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 280, n. 16, p. 16170-16174, 2005.

**Tabela 1.** Características químicas e físicas do solo utilizado no experimento.

pH	C	N	Ca + Mg	Na	K	Al	CTC	P	Argila	Areia	Silte
Água	g kg <sup>-1</sup>			cmolc kg <sup>-1</sup>			mg kg <sup>-1</sup>	g kg <sup>-1</sup>			
4,6	3,6	0,3	0,4	0,02	0,03	1,4	4,8	1	480	474	46

**Tabela 2.** Algumas características químicas do Argissolo Vermelho-Amarelo submetido a irrigação com 5 tipos diferentes de efluentes, além da água da CEDAE (testemunha), ao término do experimento.

Tratamento	CTC	pH (água)	C.Org.	N	Cu	Fe	Mn	Zn
	cmolc kg <sup>-1</sup>		g kg <sup>-1</sup>			mg kg <sup>-1</sup>		
<b>0-10 cm</b>								
CEDAE	4,4a	7,0a	3,6a	1,7a	0,16a	4,61a	0,19a	0,80a
DPC	3,6a	6,7a	3,5a	0,5a	0,08a	3,41a	0,10a	0,20a
CEPT	4,1a	6,4a	3,6a	0,5a	0,07a	4,18a	0,10a	0,14a
UASB	3,9a	6,3a	4,1a	0,5a	0,09a	5,74a	0,13a	0,14a
FBP	3,6a	6,9a	3,5a	1,7a	0,06a	3,30a	0,11a	0,15a
LF	3,6a	7,1a	3,6a	0,4a	0,06a	3,62a	0,14a	0,05a
<b>10-20 cm</b>								
CEDAE	4,7a	6,2a	3,5a	0,5a	0,10a	5,64a	0,15a	0,31a
DPC	4,5a	6,0a	3,5a	0,5a	0,07a	4,31a	0,08a	0,13a
CEPT	4,8a	6,0a	3,6a	0,4a	0,06a	5,08a	0,10a	0,09a
UASB	4,8a	5,9a	3,8a	0,5a	0,07a	6,31a	0,11a	0,11a
FBP	4,3a	5,9a	3,5a	0,4a	0,06a	5,03a	0,08a	0,11a
LF	4,3a	6,9a	3,3a	0,4a	0,05a	3,45a	0,10a	0,06a

Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna significam que são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

**Tabela 3.** Coeficiente de correlação simples das leituras do SPAD-502 com os teores de N, P, Ca, Mg, Na, K, Al, Mn, Fe, Zn e Cu determinados nas folhas de milho (N = 18).

	N	P	Ca	Mg	K	Na	Al	Mn	Fe	Zn	Cu
SPAD	-0,01	<b>0,61</b>	-0,26	-0,46	0,00	-0,24	-0,30	<b>0,88</b>	-0,21	<b>0,63</b>	0,25

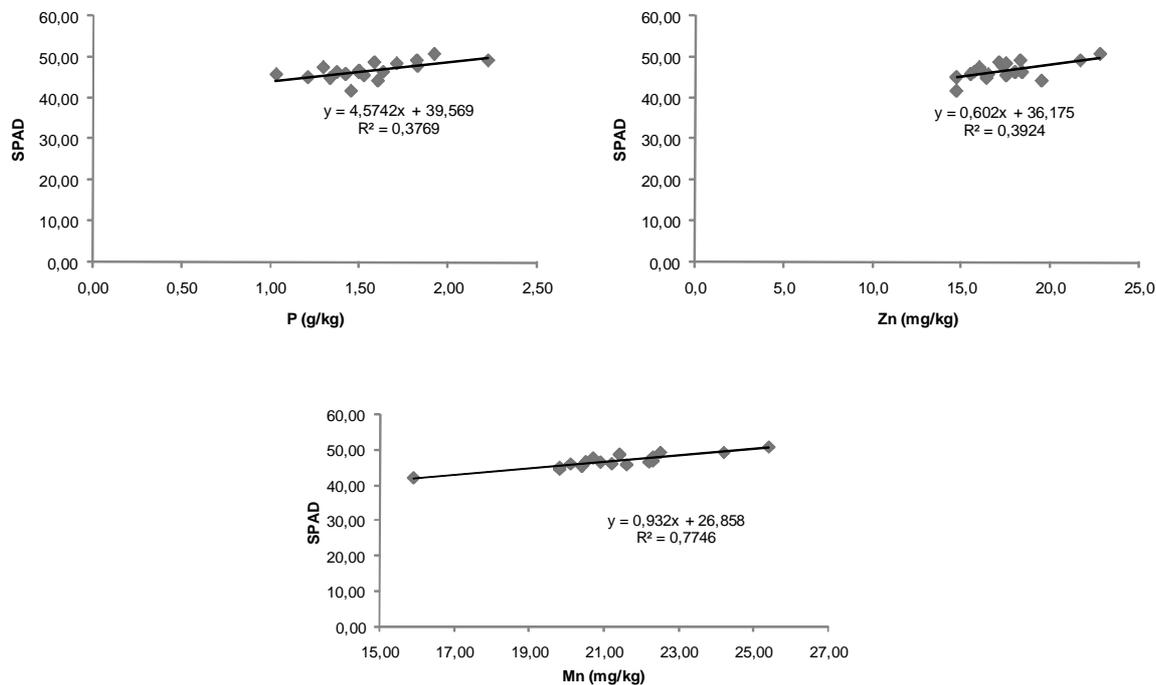
r = 0,59 para P de 1%.

**Tabela 4.** Concentração foliar média de N, P, Ca, Mg, Na, K, Al, Mn, Fe, Zn e Cu de plantas de milho cultivadas com 5 tipos diferentes de efluentes, além da água da CEDAE (testemunha).

Tratamento	N	P	Ca	Mg	K	Na	Mn	Fe	Zn	Cu	Al
	g kg <sup>-1</sup>						mg kg <sup>-1</sup>				
CEDAE	20,4ab	1,7a	2,8a	1,3a	17,9a	0,3a	21,3a	365,3a	19,7a	4,2a	181,0a
DPC	19,5bc	1,5a	3,2a	1,6a	16,5abc	0,3ab	21,5a	285,7a	17,8a	4,3a	161,7a
CEPT	18,0c	1,3a	3,0a	1,6a	14,9c	0,2ab	20,9a	298,3a	16,1a	3,1a	170,7a
UASB	21,5a	1,6a	2,8a	1,5a	15,5bc	0,2ab	21,6a	257,7a	16,8a	4,1a	137,0a
FBP	20,6ab	1,6a	2,9a	1,4a	15,8bc	0,2b	21,5a	252,0a	16,6a	3,7a	156,7a
LF	20,3ab	1,6a	3,0a	1,8a	17,3ab	0,2ab	20,8a	456,0a	17,5a	3,5a	341,0a
Adequado <sup>1</sup>	27,5-32,5	1,9-3,5	2,3-4	1,5-4,0	17,5-29,7	-----	42-150	50-250	15-50	6-20	-----

<sup>1</sup>Teores foliares considerados adequados para o milho (BÜLL, 1993).

**Figura 1.** Regressão linear entre as leituras do SPAD-502 e o teor de P, Zn e Mn das folhas de milho coletadas para fim de diagnose nutricional.



### Circular Técnica, 42

**Embrapa Solos**  
**Endereço:** Rua Jardim Botânico, 1024. Rio de Janeiro, RJ. CEP: 22460-000  
**Fone:** (21) 2179 4500  
**Fax:** (21) 2274 5291  
**E-mail:** sac@cnps.embrapa.br  
<http://www.cnps.embrapa.br/solosbr/publicacao.html>

1ª edição (2009): online

### Comitê de publicações

**Presidente:** Daniel Vidal Perez  
**Secretária-Executiva:** Jacqueline S. Rezende Mattos  
**Membros:** Ademar Barros da Silva, Cláudia Regina Delaia, Humberto Gonçalves dos Santos, Elaine Cristina Cardoso Fidalgo, Joyce Maria Guimarães Monteiro, Ana Paula Dias Turetta, Fabiano de Carvalho Baleiro e Pedro de Sá Rodrigues da Silva.

### Expediente

**Supervisão editorial:** Jacqueline S. Rezende Mattos  
**Revisão de texto:** Jacqueline S. Rezende Mattos  
**Revisão bibliográfica:** Ricardo Arcanjo de Lima  
**Editoração eletrônica:** Jacqueline S. Rezende Mattos