

## **USO DO SPAD-502 NA AVALIAÇÃO DOS TEORES FOLIARES DE CLOROFILA, EM HÍBRIDOS DE MILHO, (*Zea mays* L.) BT E ISOGENICO**

*Paulo Rogério Beltramin da Fonseca*

Eng. Agrônomo, Doutorando em Agronomia (Produção Vegetal), Faculdade de Ciências Agrárias, UFGD. Rodovia Dourados-Itahum, Km 12, Caixa Postal 533, Bairro Aeroporto, CEP: 79804-970, Dourados-MS, e-mail: [prbeltramin@hotmail.com](mailto:prbeltramin@hotmail.com)

*Marcos Gino Fernandes*

Professor-adjunto. Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), Faculdade Ciências Biológicas e Ambientais (FCBA). Rodovia Dourados-Itahum, Km 12, Caixa Postal 533, Bairro Aeroporto, CEP: 79804-970, Dourados-MS, e-mail: [marcosfernandes@ufgd.edu.br](mailto:marcosfernandes@ufgd.edu.br)

*Fernando Dutra*

Eng. Agrônomo, Mestrando em Agronomia (Produção Vegetal), Faculdade de Ciências Agrárias, UFGD. Rodovia Dourados-Itahum, Km 12, Caixa Postal 533, Bairro Aeroporto, CEP: 79804-970, Dourados-MS, e-mail: [zacca007@hotmail.com](mailto:zacca007@hotmail.com)

*Tomaz Alves de Souza*

Eng. Agrônomo, Doutorando em Agronomia (Produção Vegetal), Faculdade de Ciências Agrárias, UFGD. Rodovia Dourados-Itahum, Km 12, Caixa Postal 533, Bairro Aeroporto, CEP: 79804-970, Dourados-MS, e-mail: [tomaz\\_agro@hotmail.com](mailto:tomaz_agro@hotmail.com)

*Bruno Cezar Álvaro Pontim*

Eng. Agrônomo, Mestrando em Agronomia (Produção Vegetal), Faculdade de Ciências Agrárias, UFGD. Rodovia Dourados-Itahum, Km 12, Caixa Postal 533, Bairro Aeroporto, CEP: 79804-970, Dourados-MS, e-mail: [brunopontim@ufgd.edu.br](mailto:brunopontim@ufgd.edu.br)

**RESUMO** – O objetivo deste trabalho foi avaliar a expressão do teor de clorofila de um híbrido de milho geneticamente modificado comparando esse a seu isogênico. Foi utilizado o clorofilômetro Minolta SPAD-502 para a avaliação de clorofila e as leituras foram feitas em três pontos de cada um dos lados da nervura central das folhas amostradas. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado em um esquema fatorial 2 x 7 com 12 repetições e em 3 níveis. Os dados coletados foram submetidos à análise de variância e quando significativo pelo teste F a 5% de probabilidade, fez-se análise de regressão entre as leituras do clorofilômetro e as datas das avaliações. O teor de clorofila apresentado aos 68 DAE foi significativo no TS e TM para o não Bt. Aos 82 DAE (R4) houve diferença significativa para o Bt, podendo inferir em maior peso de grãos, visto que a parte superior encontra-se mais fotossinteticamente ativa.

**Palavras-chave:** clorofilômetro, leitura SPAD, milho

## **USE OF SPAD-502 IN THE EVALUATION OF THE LEVELS OF LEAF CHLOROPHYLL IN HYBRID MAIZE (*Zea mays* L.) AND BT ISOGEN**

**ABSTRACT** – The objective of this study was to evaluate the expression of chlorophyll a hybrid GM maize compared to its isogenic this. We used the Minolta SPAD-502 chlorophyll meter to assess chlorophyll and readings were taken at three points on each side of the midrib of the leaves sampled. The statistical design was completely randomized in a factorial scheme 2 x 7 with 12 repetitions and 3 levels. The data collected were subjected to analysis of variance and when significant by F test at 5% probability, it was regression analysis between chlorophyll meter readings and the dates of the assessments. The chlorophyll content presented to 68 DAE was significant in the TS and TM for the non-Bt. At 82 DAE (R4) was no significant difference for Bt could infer higher grain weight, whereas the top is more photosynthetically active.

**Keywords:** chlorophyll meter, SPAD reading, corn

## **INTRODUÇÃO**

Os híbridos de milho (*Zea mays* L.) apresentam como vantagens o maior potencial produtivo e a maior uniformidade morfológica e fenológica, as quais facilitam

o manejo da cultura (FANCELLI & DOURADO-NETO, 2000; PEREIRA et al., 2010; ZURE et al., 2011).

Determinações periódicas e precisas do estado nutricional da cultura podem auxiliar no manejo da adubação nitrogenada. Para tal, determinam-se geralmente em condições de laboratório e por métodos analíticos,

estes demorados e de alto custo, as concentrações de nitrogênio (N) na matéria seca de folhas. Tem sido demonstrado que a teor de clorofila nas folhas de milho pode indicar também a concentração de N, sendo uma determinação mais sensível às variações do suprimento quando comparado às determinações do elemento por matéria seca das folhas, detectando mais rapidamente a deficiência do elemento na planta (GUIMARÃES et al., 1999).

O método-padrão para a determinação de clorofilas em laboratório, ainda que fácil, apresenta desvantagens, já que resulta na coleta destrutiva do material vegetal, sendo relativamente demorado (Arnon, 1949). Com o advento dos medidores portáteis, que utilizam princípios ópticos não destrutivos, baseados na absorbância e refletância da luz pelas folhas, a determinação de clorofilas tornou-se fácil e rápida, podendo ser realizada diretamente a campo (RICHARDSON et al., 2002).

As clorofilas são pigmentos responsáveis pela captura da luz usada na fotossíntese, sendo elas essenciais na conversão da radiação luminosa em energia química, na forma de ATP e NADPH. Assim, as clorofilas estão relacionadas com a eficiência fotossintética das plantas e, conseqüentemente com seu crescimento e adaptabilidade aos diferentes ambientes. Na década de 90 foi disponibilizado um equipamento capaz de gerar grandezas relacionadas com os teores de clorofila, o clorofilômetro "Soil Plant Analysis Development" - SPAD-502 (MINOLTA, 1989). Esse instrumento é portátil e fornece leituras que podem se relacionar com o teor de clorofila presente na folha (UDDLING et al., 2007).

O medidor de clorofila minolta SPAD-502 tem sido utilizado na quantificação de clorofilas, caracterizando-se pela rapidez, simplicidade e, principalmente, por possibilitar uma avaliação não-destrutiva de tecido foliar. O modelo atual tem sido utilizado com sucesso para diagnosticar o estado nitrogenado de culturas como milho, batata, trigo, entre outras (ARGENTA et al., 2001).

O teor de clorofilas nas folhas é influenciado por diversos fatores bióticos e abióticos, estando diretamente relacionado com o potencial de atividade fotossintética das plantas (TAIZ; ZEIGER, 2002). Portanto sua quantificação é relevante no estudo de práticas culturais e de manejo, visando a aumentar o potencial fotossintético e o aumento de produção.

Este trabalho objetivou avaliar a expressão do teor de clorofila do híbrido de milho geneticamente modificado com a introdução da tecnologia MON810 (YieldGard®) e seu híbrido isogênico na safrinha em Dourados, MS.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi instalado em condições de campo, na área experimental da Faculdade de Ciências Agrárias, com 22°11'53"S, 54°55'59"W e altitude de 430 m da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), durante a safrinha 2009. O solo da área é Latossolo

Vermelho Distroférico, de textura muito argilosa (65,3% de argila, 17,4% de silte e 17,3% de areia). O clima da região, segundo a classificação de Köppen é Mesotérmico Úmido, do tipo Cwa, com temperaturas e precipitações médias anuais variando de 20°C a 24°C e 1.250 mm a 1.500 mm (FIETZ; FISCH, 2006). Para manejo da cultura do milho, utilizou-se o sistema de plantio direto, tendo a soja convencional (*Glycine max* (L.) Merrill) como cultura antecessora. A área do experimento foi dessecada com a mistura do herbicida glifosato associado a óleo mineral (2 l.ha<sup>-1</sup> + 0,5 l.ha<sup>-1</sup>), respectivamente.

As sementes utilizadas foram as cultivares de milho Bt AG 9010 YG e seu isogênico não Bt AG 9010, constituindo os 2 tratamentos. A semeadura foi efetuada no dia 25/03/2009, com uma densidade de 6 a 7 sementes por metro linear, adotando-se uma população de 65.000 plantas.ha<sup>-1</sup>. O espaçamento entre fileiras foi de 0,70 metros.

Para a adubação de base utilizou-se 200 kg.ha<sup>-1</sup> da formulação NPK (12.15.15 + 0,3% Zn) e aos 11 DAE (dias após a emergência das plantas) foram aplicados 200 kg.ha<sup>-1</sup> de Entec® (26% N e 12% S). No dia 30/03/2009, ocorreu emergência das plântulas, com densidade média de 5 plantas por metro linear. Foram pulverizados no dia 10/04/2009, em área total, herbicidas seletivos e pós-emergentes, em mistura, nas seguintes doses: 0,24 l.ha<sup>-1</sup> de Soberan (Tembotrione) + 3 l.ha<sup>-1</sup> de Atrazine (Atrazina) + 0,1% de Aureo (óleo mineral), visando o controle das plantas daninhas.

Para as amostragens utilizou o clorofilômetro (SPAD-502) em três pontos de cada um dos lados da nervura central da folha, onde coletou aleatoriamente em duas plantas por parcela os teores de clorofila nos terços inferior (TI), terço médio (TM) e terço superior (TS). As avaliações foram realizadas aos 40 (V10), 47 (V12), 54 (V15), 61 (V18), 68 (VT), 75 (R1) e 82 (R4) dias após a emergência (DAE).

O experimento ocorreu em delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) em um esquema fatorial 2 x 7 com 12 repetições e em 3 níveis (TI, TM e TS). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e quando significativo pelo "teste F" a 5% de probabilidade, fez-se análise de regressão entre a leitura do clorofilômetro e as datas de avaliações, utilizando o software SISVAR (FERREIRA, 2003).

## **RESULTADO E DISCUSSÃO**

Por meio da interpretação dos dados amostrados, houve diferença estatística entre híbridos, aos 40 DAE em TM e 61 DAE em TS com valores superiores para a cultivar convencional AGR 9010 (Tabela 1). Também, apresentou diferença significativa aos 54 DAE em TI, com valores superiores para AGR 9010 YG. Aos 68 DAE observou-se diferença significativa em TS e em TM com valores superiores para AGR 9010, e teve diferença aos 82 DAE, para AGR 9010YG (Tabela 2).

Para a cultura não Bt AGR 9010, encontraram-se diferenças significativas aos 40 DAE (V10) em TM; aos 61 DAE (V18) em TS; aos 68 DAE (VT) em TS e TM; assim poderá favorecer o tratamento, pois em V10 tem-se proximidade com o estágio V12, no qual se inicia a definição do número de grãos por fileira da espiga, esta definição será concluída em V17 (ou no último estágio antes de VT) (Tabela 1, Tabela 2).

Nota-se que em V18 a diferença significativa, em TS, novamente poderá favorecer esse híbrido visto que as folhas desta parte da planta, além de serem as que mais recebem radiação, também são as responsáveis pelo maior percentual de fotoassimilados produzidos para o desenvolvimento da espiga (podendo ser duas em alguns híbridos). Essa vantagem permaneceu até VT, reforçada pelo fato de haver significância para TM e ainda que,

neste estágio (VT) ocorre início da produção de pólen e desenvolvimento de estilo e estigma, podendo assim favorecer a fecundação de um maior número de óvulos e proporcionar um maior número de grãos potenciais para este híbrido.

No híbrido AGR 9010 YG, observou-se também, em alguns estádios fenológicos, diferenças significativas, aos 54 DAE (V15) em TI e aos 82DAE (R4) em TS e TI. Visto que em V15 a planta encontra-se em pleno desenvolvimento da definição do número de grãos por fileira na espiga, inferindo no tamanho da mesma. Em R4 - estágio em que a plantas encontra-se em pleno desenvolvimento de grãos a diferença ocorreu em TI e TS, havendo grande importância desse fato no enchimento de grãos.

**Tabela 1.** Índice de Clorofila (IRC) determinado pelo clorofilômetro (SPAD-502 Minolta®) em cultivares de milho [*Zea mays* (L)] Bt e não Bt no terço inferior (TI), terço médio (TM) e terço superior (TS) em função de dias após emergência. Dourados, MS. 2009.

Híbridos	40 DAE (V10)			47 DAE ( V 12 )			54 DAE (V15)			61 DAE (V18)		
	TS <sup>ns</sup>	TM*	TI <sup>ns</sup>	TS <sup>ns</sup>	TM <sup>ns</sup>	TI <sup>ns</sup>	TS <sup>ns</sup>	TM <sup>ns</sup>	TI*	TS*	TM <sup>ns</sup>	TI <sup>ns</sup>
<b>AGR</b>												
<b>9010</b>	43,6	49,02	51,03	43,91	52,79	51,3	45,13	53,86	54,86	48,58	54,98	58,41
<b>AGR</b>												
<b>9010 YG</b>	40,92	45,32	49,31	41,26	46,93	50,16	44,83	52,9	58,25	45,12	53,53	58,41

Utilizou-se separação de médias pelo teste de F a 5% probabilidade. <sup>ns</sup> não significativo \*5% significativo pelo teste F.

**Tabela 2.** Índice de Clorofila (IRC) determinado pelo clorofilômetro (SPAD-502 Minolta®) em cultivares de milho [*Zea mays* (L)] Bt e não Bt no terço inferior (TI), terço médio (TM) e terço superior (TS) em função de dias após emergência. Dourados, MS. 2009.

Híbridos	68 DAE (VT)			75 DAE (R1)			82 DAE (R4)		
	TS*	TM*	TI <sup>ns</sup>	TS <sup>ns</sup>	TM <sup>ns</sup>	TI <sup>ns</sup>	TS*	TM <sup>ns</sup>	TI*
<b>AGR 9010</b>	49,03	57,26	58,41	53,54	57,56	56,63	54,19	56,53	54,01
<b>AGR</b>									
<b>9010 YG</b>	46,12	53,71	59,68	50,2	57,3	59,2	56,6	57,56	57,12

Utilizou-se separação de médias pelo teste de F a 5% probabilidade. <sup>ns</sup> não significativo \*5% significativo pelo teste F.

Observou-se, (Figura 1) resultados superiores para o Bt, o que apresentou metabolismo mais acelerado. Essa tendência somada aos momentos de significância para a clorofila poderá resultar em maiores produtividades para este híbrido. No decorrer dos estádios vegetativos, verificaram-se leituras crescentes, as quais tenderam a estabilizar-se a partir do estágio de pré-florescimento (V10-V18) (ARGENTA et al., 2004; HURTADO et al., 2011).

As curvas de regressão demonstraram para os teores de clorofila no terço inferior, comportamento quadrático nas cultivares Bt e não Bt; o terço médio foi linear para o tratamento AGR 9010 YG e quadrática em AG 9010; no terço superior apresentou linearidade para ambos os tratamentos, corroborando com os dados obtidos por (ZOTARELLI et al., 2003) (Figura 1). Tal comportamento pode ser explicado em função de os máximos teores de clorofila em folha serem atingidos pela cultura do milho nesse estágio de desenvolvimento (COSTA et al., 2001).

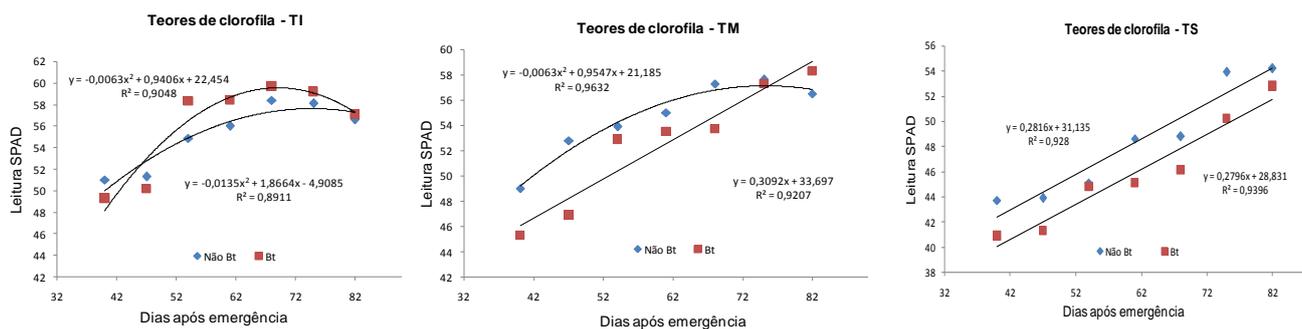


Figura 1. Retas de regressão ajustada para os valores de leitura SPAD em cultivares de milho [*Zea mays* (L)] Bt e não Bt no terço inferior (TI), terço médio (TM) e terço superior (TS) em função de dias após emergência. Dourados, MS. 2009.

## CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos, pode-se concluir que a cultivar não Bt aos 68 DAE (VT) para o terço superior e terço médio das folhas teve maior índice de clorofila. Aos 82 DAE (R4) houve diferença significativa para o Bt, podendo inferir em maior peso de grãos, visto que a parte superior encontra-se mais fotossinteticamente ativa.

## REFERÊNCIAS

- ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F. da; BORTOLINI, C. G. Clorofila na folha como indicador do nível de nitrogênio em cereais. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.31, n. 4, p.715-722, 2001.
- ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F. da; 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, p.158-167, 2001.
- ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, v.24, n.1, p.1-15, 1949.
- COSTA, C.; DWYER, L. M.; DUTILLEUL, P.; STEWART, D. W.; MA, B. L.; SMITH, D. L. Interrelationships of applied nitrogen, SPAD, and yield of leafy and non-leafy maize genotypes. *Journal of Plant Nutrition*, v.24, n.8, p.1173-1194, 2001.
- FANCELLI, A. L.; DOURADO-NETO, D. *Produção de Milho*. Guaíba: Agropecuária, p. 360, 2000.
- FERREIRA, D. F. *Programa Sisvar – Versão 5.0*. Lavras: UFLA. 2003.
- FIETZ C. R.; FISCH G. F. *O clima da região de Dourados, MS*. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2006, p.32. (Documentos, 85).
- 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 cultivados em dois tipos de solo. *Bragantia*, Campinas, v.58, n.1, p. 209-216, 1999.
- HURTADO, S. M. C.; RESENDE, A. V. de; SILVA, C. A.; CORAZZA, E. J.; SHIRATSUCHI, L. S. Clorofilômetro no ajuste da adubação nitrogenada em cobertura para o milho de alta produtividade. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 41, p. 1011-1017, 2011.
- MINOLTA CAMERA Co. Ltda. *Manual for chlorophyll meter SPAD 502*. Osaka, Minolta, Radiometric Instruments divisions. p. 22, 1989.
- PEREIRA, R. G.; ALBUQUERQUE, A. W.; NUNES, G. H. S.; SOUZA, R. O.; SILVA, A. D. Comportamento de cultivares de milho nos tabuleiros costeiros do Estado de Alagoas. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável*, Mossoró, v.5, n.2, p.54-63, 2011.
- RICHARDSON, A. D.; DUIGAN, S. P.; BERLYN, G. P. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New Phytologist*, Lancaster, v.153, n.1, p.185-194, 2002.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Plant physiology*. 3. ed. Sunderland: Sinauer Associates, p. 690, 2002.
- UDDLING, J.; GELANG-ALFREDSSON, J.; PIIKKI, K.; PLEIJEL, H. Evaluating the relationship between leaf

chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. **Photosynth. Research**, v. 91, p. 37-46, 2007.

ZOTARELLI, L.; CARDOSO, E. G.; PICCININ, J. L.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M.; TORRES, E.; ALVES, B. J. R. Calibração do medidor de clorofila Minolta SPAD-502 para avaliação do conteúdo de nitrogênio do milho. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 38, n. 9, p. 1117-1122, 2003.

ZURE, G. E. O.; OLIVEIRA, V. M.; GOTARDO, M.; SANTOS, F. M. Produtividade de milho verde híbrido BM3061 sob diferentes tipos de adubação no plantio. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.6, n.2, p. 184-188, 2011.

Recebido em 21 01 2012

Aceito em 26 01 2012