

Teores de clorofila em plantas de feijoeiros influenciadas pela adubação com manganês e zinco

Itamar Rosa Teixeira^{1*}, Aluizio Borém², Messias José Bastos de Andrade³, Marcos Paiva Del Giúdice² e Paulo Roberto Cecon²

¹Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, C.P. 533, 79804-970, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil. ²Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. ³Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras, 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil. * Autor para correspondência. e-mail: itamar@ceud.ufms.br

RESUMO. Na agricultura moderna, o uso de métodos que propiciam a rápida diagnose do estado nutricional das plantas é uma necessidade. Objetivou-se com este trabalho estimar, através do aparelho SPAD, os teores de clorofila dos feijoeiros cultivados em solo de cerrado sob adubação de manganês e de zinco. Foram conduzidos 3 experimentos, sendo 2 em casa de vegetação e um em campo. Os experimentos de casa de vegetação foram instalados seguindo o delineamento de blocos ao acaso, em esquema fatorial, com 3 repetições, envolvendo 5 doses de Mn (0, 75, 150, 300 e 600g ha⁻¹) e 5 doses de Zn (0, 50, 100, 200 e 400g ha⁻¹), aplicadas via foliar, aos 25 dias, ou alternativamente parceladas aos 25 e aos 35 dias após emergência (DAE), respectivamente, no 1º e no 2º experimento. No experimento de campo, empregou-se o delineamento em blocos casualizados, com 4 repetições, com os mesmos tratamentos usados em casa de vegetação. Em todos os experimentos, antes da aplicação dos tratamentos e 5 dias após, determinou-se a leitura de pigmentos com o clorofilômetro e, posteriormente, estimaram-se os teores de clorofila. Nas avaliações realizadas aos 25 e aos 35 dias após emergência, o clorofilômetro SPAD mostrou-se eficaz para estimar os teores de clorofila nas folhas do feijoeiro. A deficiência de manganês pôde ser detectada pelo SPAD 502. Os teores de clorofila não foram influenciados pela adição do zinco.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris*, fotossíntese, nutrição mineral, SPAD.

ABSTRACT. Chlorophyll levels in common bean plants as influence by manganese and zinc fertilization. The modern agriculture use methods that propitiate fast diagnosis the state nutritional of plants is need. The objective this study was to estimate the levels of chlorophyll in common bean plants cultivated in “Cerrado” soil submitted to manganese and zinc supplementation. Three experiments were carried out, being two greenhouse and one in the field. The experiments of greenhouse were installed following the randomized complete blocks design, in factorial scheme, with three replications, involving five Mn rates (0, 75, 150, 300 and 600g ha⁻¹) and five Zn rates (0, 50, 100, 200 and 400g ha⁻¹) applied in the leaves, at 25 days or alternatively parceled at 25 and 35 DAE, respectively, in first and second experiment. The field experiment was carried out in blocks randomized, with four replication, with the same treatments used greenhouse. In all the experiments, before the application of treatments and five days after, was determined the pigment reading and later the chlorophyll levels. In evaluations accomplished to 25 and 35 days after emergency SPAD it was shown to be effective to estimate chlorophyll levels in leaves the common bean. The Mn deficiency was identify by SPAD 502. The chlorophyll levels were not influenced by addition the zinc.

Key words: *Phaseolus vulgaris*, photosynthesis, mineral nutrition, SPAD

Introdução

O feijoeiro deixou de ser considerado cultura de subsistência e se tornou uma das culturas mais rentáveis com o uso de alta tecnologia. Nesse caso, a nutrição mineral se destacou como um dos fatores

mais importantes para melhoria da produtividade nas lavouras de feijão do Brasil.

Apesar disso, a nutrição mineral muitas vezes vem sendo negligenciada por técnicos e produtores, principalmente no tocante à importância dos

micronutrientes. É sabido que os solos de cerrado apresentam limitações nutricionais, sendo a calagem uma alternativa para sanar o problema. Entretanto, aplicações inadequadas, como a calagem em superfície, sem incorporação, têm trazido sérios problemas de deficiência em várias culturas, incluindo o feijoeiro, com destaque para o manganês e para o zinco (Kikuti *et al.*, 1998; Marinho *et al.*, 1998).

O manganês faz parte da molécula de clorofila e está diretamente envolvido no mecanismo da fotossíntese, por ser constituinte de uma mangano-proteína envolvida na quebra da molécula da água no fotossistema II (Marschner, 1995). Já o zinco é componente de enzimas, tais como: desidrogenases, proteinases, peptidases e fosfolipidases (Marschner, 1995). Assim, indiretamente, ele também está relacionado com o mecanismo fotossintético das plantas, e, dessa maneira, problemas que limitam sua disponibilização para a planta podem certamente refletir na fotossíntese. Desse modo, a análise de clorofila é uma ferramenta para o diagnóstico nutricional das plantas.

Os métodos de análise de clorofila normalmente empregados pelos laboratórios são considerados lentos e onerosos, o que têm dificultado a solução dos problemas de deficiência ao longo do ciclo da cultura. Recentemente, surgiu no mercado um aparelho denominado clorofilômetro (SPAD 502), que vem sendo usado para avaliar o estado nutricional de plantas quanto ao nitrogênio (Gil *et al.*, 2002), o qual também tem sido empregado para avaliar a deficiência de manganês em culturas de soja (Silva, 2000) e de cevada (Alam *et al.*, 2001), por exemplo.

No caso do feijoeiro, não é relatada na literatura pesquisa sobre o uso do SPAD na detecção de sintomas dos micronutrientes em questão. Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo estimar os teores de clorofila em plantas de feijoeiro submetidos à adubação com manganês e zinco, utilizando-se o clorofilômetro SPAD 502.

Material e métodos

Foram conduzidos 3 experimentos, sendo 2 em casa de vegetação e 1 em campo. Os experimentos de casa de vegetação foram conduzidos em Viçosa, Estado de Minas Gerais, com solo classificado como Latossolo Vermelho Amarelo distrófico fase cerrado, proveniente de área produtora de feijão localizada em Unaí-MG, onde anteriormente havia sido constatada deficiência de manganês e de zinco. O solo foi coletado na camada de 0-20cm e apresentou os seguintes resultados da análise química: pH em

H₂O (1:2,5) = 6,9; P disponível (Mehlich-1) = 3,0mg dm⁻³; K⁺ (Mehlich-1) = 56mg dm⁻³; Ca⁺² (KCl 1N) = 43mmol_c dm⁻³; Mg⁺² (KCl 1N) = 10mmol_c dm⁻³; Al⁺³ (KCl 1N) = 0,0mmol_c dm⁻³; B (água quente) = 0,6mg kg⁻¹; Cu (DTPA) = 0,8mg kg⁻¹; Fe (DTPA) = 10mg kg⁻¹; Mn (DTPA) = 1,0mg kg⁻¹ e Zn (DTPA) = 0,5mg kg⁻¹ de solo. O delineamento foi em blocos ao acaso, em um esquema fatorial 5 x 5, com 3 repetições. Os tratamentos foram constituídos de 5 doses de Mn (0, 75, 150, 300 e 600g ha⁻¹) e 5 doses de Zn (0, 50, 100, 200 e 400g ha⁻¹), em pulverizações foliares, aos 25 dias após emergência (DAE), em dose única, ou, então, alternativamente, parceladas aos 25 e aos 35 DAE, no 1º e 2º experimento, respectivamente. Foram utilizados o sulfato de manganês e o sulfato de zinco como fontes em solução correspondente a 300 litros por hectare.

Cada parcela foi constituída de um vaso plástico, com capacidade de 2,5kg de solo, que recebeu adubação básica em solução, conforme recomendação de Malavolta (1980), modificado. Foram aplicadas as seguintes doses: 300mg dm⁻³ de N (uréia), 200mg dm⁻³ de P₂O₅ (superfosfato simples), 150mg dm⁻³ K₂O (cloreto de potássio), 0,5mg dm⁻³ de B (ácido bórico), 1,5mg dm⁻³ de Cu (sulfato de cobre), 5mg dm⁻³ de Fe (ferro-EDTA) e 0,1mg dm⁻³ de Mo (molibdato de amônio), uniformemente distribuídas e homogeneizadas no solo. As doses de N e K foram parceladas, sendo metade aplicada no plantio e metade aos 20 DAE. Foi utilizada a cultivar Pérola.

A irrigação foi realizada diariamente com água deionizada, procurando manter a umidade próxima à saturação do solo.

O experimento de campo foi realizado no mesmo local onde foi coletado o solo para os experimentos em casa de vegetação; foi conduzido no esquema fatorial 5 x 5, com delineamento em blocos casualizados, com 4 repetições, com os mesmos tratamentos descritos nos experimentos de casa de vegetação. Foram efetuadas 2 aplicações foliares aos 25 e aos 35 DAE. As fontes de nutrientes utilizadas bem como os procedimentos de aplicação foram semelhantes aos dos experimentos de casa de vegetação.

Cada parcela foi constituída por 4 linhas de 5m de comprimento, com espaçamento de 0,50m entre elas, perfazendo 10m² de área total e 5m² de área útil, correspondente às duas linhas centrais.

O solo foi preparado de maneira convencional, com uma aração e duas gradagens, não sendo necessária a calagem. Na adubação básica, empregaram-se 20kg ha⁻¹ de N (uréia), 100kg ha⁻¹ de

P₂O₅ (superfosfato simples) e 60kg ha⁻¹ K₂O (cloreto de potássio). Na semeadura, foi aplicado juntamente com os fertilizantes o inseticida forate, para a prevenção de pragas iniciais do feijoeiro. A aplicação de N em cobertura foi realizada aos 20 DAE, com sulfato de amônio, na base de 200kg ha⁻¹ (40kg ha⁻¹ de N), aplicado manualmente em filete contínuo ao lado das plantas.

A semeadura foi realizada manualmente, e a emergência plena ocorreu após 6 dias, quando cerca de 90% das plântulas haviam emergido. Novamente foi utilizada a cultivar Pérola.

Em todos os experimentos, antes da aplicação dos tratamentos e 5 dias após, determinou-se a leitura de pigmento nas folhas do feijoeiro, empregando-se o aparelho SPAD-502, desenvolvido pela empresa Minolta. A leitura (unidade "SPAD") corresponde ao teor de pigmento na folha, e seu valor é equivalente à quantidade de luz transmitida pela folha em duas regiões de comprimento de onda, nas quais a absorção de clorofila é diferente (Malavolta *et al.*, 1997). Dessa maneira, o valor fornecido é ainda proporcional à quantidade de clorofila existente na folha.

A concentração de clorofila foi estimada relacionando-se leituras do aparelho (x) com o teor de clorofila ($\hat{Y}$) (equação de Barnes *et al.*, 1992), por Silva (2000) para avaliar deficiência de manganês em soja, com resultados satisfatórios: $\hat{Y} = 0,0996x - 0,152$, $r^2 = 0,66$).

Nos experimentos de casa de vegetação, a leitura foi realizada no terço superior do limbo do folíolo central da terceira folha completamente desenvolvida, a partir do ápice da planta, na haste principal em todas as plantas da parcela. Em campo, a avaliação foi feita de modo semelhante ao acima descrito, tomando-se 20 plantas na área útil da parcela.

Todos os dados experimentais foram submetidos à análise de variância e de regressão. Os efeitos das doses de manganês e de zinco foram avaliados por meio de superfícies de resposta, sendo a escolha dos modelos baseada na significância do coeficiente de regressão (considerando-se o teste t a 5% de probabilidade), no coeficiente de determinação e no comportamento biológico. Os cálculos estatísticos foram realizados por meio do Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (SAEG).

Resultados e discussão

No primeiro experimento de casa de vegetação, foi notado que os teores de clorofila obtidos com o aparelho SPAD 502 mostraram-se influenciados

somente pelo manganês. O fato de esse nutriente estar diretamente envolvido na composição da molécula de clorofila explica esses resultados (Marschner, 1995).

Houve efeito quadrático das doses de manganês sobre o teor de clorofila, com o valor máximo de 2,61 (mg dm⁻²) obtido com a dose de 291,40g ha⁻¹ de manganês (Figura 1). A aplicação da referida dose promoveu pequeno acréscimo no valor do teor de clorofila em relação à dose zero de manganês, que apresentou valor de 2,40mg dm⁻² (Figura 1), demonstrando, assim, pouca eficácia da pulverização foliar de manganês em aumentar o teor de pigmentos das folhas, o que foi confirmado por ocasião do florescimento, quando as plantas apresentaram novamente sintomas de deficiência. Além disso, notou-se ainda que a maior dose de manganês provocou decréscimo no valor médio do teor de clorofila (2,37mg dm⁻²) em relação à dose zero de manganês, mostrando certamente que, em decorrência da elevada concentração da solução aplicada em dose única, houve prejuízos ao metabolismo normal da clorofila.

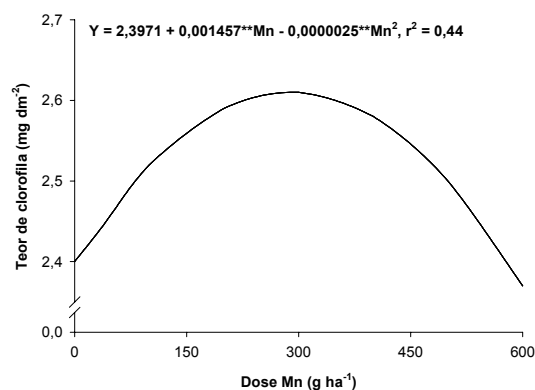


Figura 1. Estimativa do teor de clorofila no feijoeiro, após aplicação foliar de doses de manganês. Primeiro experimento de casa de vegetação.

Dois dias após a aplicação dos tratamentos, foram observados sintomas típicos de toxidez nas folhas, principalmente nas plantas que receberam maior dose de manganês, o que foi confirmado pelo decréscimo no valor médio do teor de clorofila nos tratamentos que receberam pulverização. O limite estreito entre suficiência e deficiência para micronutrientes em plantas é bem conhecido, tornando um desafio a determinação das doses a serem aplicadas.

Houve tendência de aumento da coloração verde em relação à amostragem anterior, revelado pelo teor de clorofila. Esse fato pode indicar possível redução da clorose, conferida pelo fornecimento de

manganês. Comparando-se o teor de clorofila com os valores obtidos por Silva (2000) em plantas de soja com sintomas de deficiência de manganês ($2,40 \text{ mg dm}^{-2}$), nota-se que estes estão próximos, demonstrando, dessa maneira, baixa capacidade do solo no fornecimento desse nutriente às plantas, o que foi confirmado pelo resultado de análise de solo, no qual o teor de $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ é, segundo Raij *et al.* (1996), baixo. Os resultados obtidos mostraram ainda a ineficácia da aplicação foliar de manganês, feita em dose única, em fornecer esse nutriente para a planta.

No segundo experimento de casa de vegetação foi constatado que houve novamente diferenças significativas para os teores de clorofila somente para manganês. Como já foi ressaltado, o fato de o manganês ser constituinte da clorofila explica esse efeito (Marschner, 1995).

O modelo quadrático apresentou-se como melhor opção ao ajuste dos dados referentes aos teores de clorofila (Figura 2), assim como no primeiro experimento. Na segunda avaliação, foi observado que a dose de $347,56 \text{ g ha}^{-1}$ de manganês propiciou valor máximo estimado de $4,01 \text{ (mg dm}^{-2})$ para teor de clorofila, enquanto que na terceira avaliação o valor máximo do teor de clorofila ($4,24 \text{ mg dm}^{-2}$) foi obtido com a dose de $341,46 \text{ g ha}^{-1}$ de manganês (Figura 2). Quando se comparam esses valores aos obtidos por Silva (2000), em plantas de soja ($4,28 \text{ mg dm}^{-2}$) que tinham recebido aplicações foliares de manganês e não estavam mais apresentando sintomas de deficiência, constata-se a semelhança de valores, sugerindo, dessa maneira, que as duas aplicações foliares, realizadas aos 25 e aos 35 dias após emergência, são eficientes na correção da deficiência.

Em média, as duas aplicações foliares de manganês propiciaram acréscimos no valor do teor de clorofila da ordem de 70%, em relação à testemunha, sendo o seu valor manteve-se no mesmo patamar até a terceira avaliação, com tendência de aumento da segunda para a terceira (Figura 2). Considerando esse aspecto e também o fato de a terceira avaliação ter coincidido com o florescimento, pode-se concluir que as duas aplicações foliares propiciaram uma condição ideal para as plantas, já que a manutenção da coloração verde da folhagem é de suma importância para a correção dos problemas de deficiência e indica que o sistema de leitura de pigmentos, por detectar variação nos teores de clorofila, tem potencial para avaliação preliminar do estado nutricional da planta em relação ao manganês. Isso é possível porque, de acordo Marschner (1995), os cloroplastos são as

organelas da célula mais sensíveis à deficiência desse elemento.

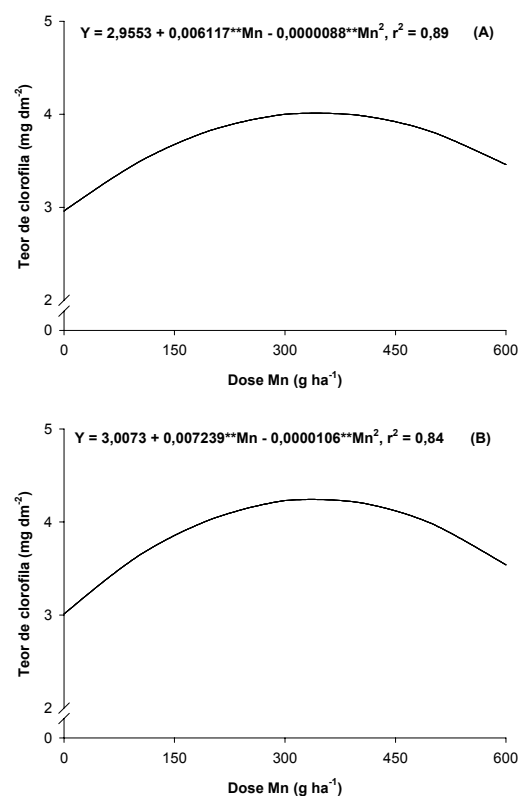


Figura 2. Estimativas dos teores de clorofila no feijoeiro, após a primeira (A) e a segunda (B) aplicações foliares de doses de manganês. Segundo experimento de casa de vegetação.

Assim como aconteceu no primeiro experimento, somente foram constatadas diferenças entre os tratamentos após as aplicações foliares do manganês, o que sugere baixa capacidade do solo em fornecer esse nutriente às plantas, como já foi ressaltado. Observou-se ainda que o valor do teor de clorofila na primeira avaliação, antes das pulverizações, tanto no primeiro ($2,45 \text{ mg dm}^{-2}$) como no segundo experimento de casa de vegetação ($2,49 \text{ mg dm}^{-2}$), foi muito próximo e inferior à média dos valores máximos estimados após as pulverizações ($4,13 \text{ mg dm}^{-2}$).

No experimento de campo, na primeira e na segunda aplicação foliar, os respectivos teores de clorofila foram influenciados pelo manganês. Assim como ocorreu nos experimentos de casa de vegetação, novamente não foi notada influência do zinco e nem da interação Mn x Zn sobre as variáveis analisadas. A primeira leitura (antecedendo às aplicações foliares) e seu teor ($2,59 \text{ mg dm}^{-2}$) correspondente de clorofila não foi alterada.

As diferenças dos teores de clorofila posteriormente às aplicações foliares de manganês, certamente, deveram-se ao efeito do manganês sobre o aumento no teor de clorofila e, conseqüentemente, na intensidade da cor verde das folhas, eliminando, assim, o sintoma de clorose, que é típico da deficiência de manganês.

O efeito do manganês sobre os valores médios das variáveis analisadas após as aplicações foliares, semelhantemente ao ocorrido nos experimentos de casa de vegetação (Figura 1 e 2), foi quadrático. A segunda avaliação propiciou o valor máximo do teor de clorofila da ordem de $3,66 \text{ mg dm}^{-2}$, obtido com a dose de $318,58 \text{ g ha}^{-1}$ de manganês, enquanto na terceira avaliação o máximo valor do teor de clorofila foi de $4,13 \text{ (mg dm}^{-2})$, obtido com o emprego de $342,07 \text{ g ha}^{-1}$ de manganês (Figura 3). Observou-se que houve aumento da manutenção da coloração verde das folhas, como também dos teores de clorofila com as aplicações foliares, notadamente da segunda para a terceira avaliação, esta última coincidente com o início do florescimento, confirmando as observações do segundo experimento de casa de vegetação. Isso é importante, considerando que o florescimento coincide com o período de máximo acúmulo de matéria seca pela planta, bem como com a sua máxima exigência nutricional.

Notou-se ainda que, em média, os valores máximos obtidos para os teores de clorofila, na segunda e na terceira avaliação (posteriormente às aplicações foliares), foram, respectivamente, 47% e 50% superiores aos valores obtidos nos tratamentos testemunhas (Figura 3), o que demonstra a eficiência das aplicações foliares e evidencia a incapacidade do solo utilizado fornecer manganês às plantas, uma vez que o valor médio do teor de clorofila antes dos 25 DAE foi de $2,59 \text{ mg kg}^{-1}$. Esse valor, apesar de ser superior aos obtidos em casa de vegetação, está próximo ao observado por Silva (2000), em plantas de soja deficientes em manganês ($2,40 \text{ mg dm}^{-2}$). Por outro lado, apesar de os valores obtidos para os teores de clorofila após aplicações foliares serem inferiores aos observados no segundo experimento, eles estão próximos aos valores observados por Silva (2000), em plantas de soja submetidas à adubação mangânica, confirmando a vantagem da adubação foliar parcelada em duas aplicações.

Os resultados obtidos revelaram que tanto o estado de deficiência da planta quanto a correção da clorose promovida pelo fornecimento de manganês foram detectados pelo clorofilômetro. Ao contrário do primeiro experimento e coincidentemente com o segundo experimento em casa de vegetação, foi

possível estabelecer relação entre os teores de clorofila nas diferentes épocas de avaliação, o que indica grande potencial do uso do clorofilômetro como opção de diagnose rápida do estado nutricional das plantas de feijão em relação ao manganês.

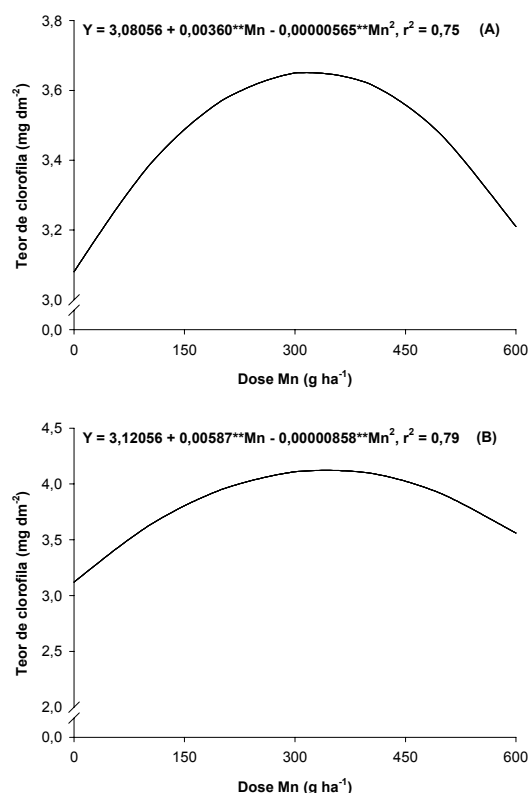


Figura 3. Estimativas dos teores de clorofila no feijoeiro, após a primeira (A) e a segunda (B) aplicações foliares de doses de manganês. Experimento de campo.

Conclusão

O clorofilômetro mostrou-se eficaz para estimar os teores de clorofila no feijoeiro submetido à adubação mangânica, nas avaliações realizadas aos 25 e aos 35 DAE.

A deficiência de manganês pode ser avaliada pelo clorofilômetro.

Os teores de clorofila não foram influenciados pela adição do zinco.

Referências

- ALAM, S. *et al.* Response of iron-deficient barley plants to manganese in nutrient solution. *J. Plant Nutr.*, New York, v.24, n.1, p.147-158, 2001.
- BARNES, J. D. *et al.* A reappraisal on the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophylls a and b

- in lichens and higher plants. *Env. Exp. Bot.*, Oxford, v.32, n.2, p.85-100, 1992.
- GIL, P. T. *et al.* Índice SPAD para diagnóstico do estado de nitrogênio e para o prognóstico da produtividade da batata. *Hortic. Bras.*, Brasília, v.20, n.4, p.611-615, 2002.
- KIKUTI, H. *et al.* Efeito do manganês na produção da matéria seca das cultivares de feijão Pérola e Carioca na época do florescimento. *In: FERTIBIO. 1.*, 1998, Caxambu, *Anais...* Lavras:Ufla, 1998. p.711.
- MALAVOLTA, E. *Elementos de nutrição mineral de plantas.* São Paulo: Agronômica Ceres, 1980.
- MALAVOLTA, E. *et al.* *Avaliação do estado nutricional das plantas; princípios e aplicações.* 2 ed. Piracicaba: Potafos, 1997.
- MARINHO, J. T. S. *et al.* Resposta das cultivares de feijão Pérola e Carioca a doses de manganês. *In: FERTIBIO. 1.*, 1998, Caxambu, *Anais...* Lavras:UFLA, 1998. p.710.
- MARSCHNER, H. *Mineral nutrition of higher plants.* 2. ed. San Diego: Academic Press, 1995.
- RAIJ, B. van *et al.* *Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo.* 2. ed. Campinas: Instituto Agrônomo/Fundação IAC, 1996. (Boletim Técnico 100)
- SILVA, M. M. *Fontes e modos de aplicação de manganês na nutrição, produção e qualidade da soja, cultivada em solo de cerrado.* 2000. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.
- Received on March 31, 2003.*
- Accepted on November 04, 2003.*