

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO – UEMA
CENTRO DE ESTUDOS SUPERIORES DE BALSAS - CESBA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E AMBIENTE - PPGAA**

GUSTAVO COSTA DE OLIVEIRA

**FERRAMENTAS DE DIAGNÓSTICO DO ESTADO DE NITROGÊNIO EM PLANTAS DE
MILHO CULTIVADAS EM SOLOS COESOS DE BAIXA FERTILIDADE**

Balsas-MA
2019

GUSTAVO COSTA DE OLIVEIRA

**FERRAMENTAS DE DIAGNÓSTICO DO ESTADO DE NITROGÊNIO EM PLANTAS DE
MILHO CULTIVADAS EM SOLOS COESOS DE BAIXA FERTILIDADE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente – PPGAA/CESBA/UEMA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agricultura e Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Heder Braun

Balsas-MA
2019

Oliveira, Gustavo Costa de.

Ferramentas de diagnóstico do estado de nitrogênio em plantas de milho cultivadas em solos coesos de baixa fertilidade / Gustavo Costa de Oliveira. – Balsas, MA, 2019.

44 f

Dissertação (Mestrado) – Curso de Agricultura e Ambiente, Centro de Estudos Superiores de Balsas, Universidade Estadual do Maranhão, 2019.

Orientador: Prof. Dr. Heder Braun.

1.Adubação nitrogenada. 2.Manejo do nitrogênio. 3.Clorofilômetro portátil. 4.Rendimento de grãos. 5.Índices nitrogenados. I.Título

CDU: 633.15-184.7

Elaborado por Giselle Frazão Tavares- CRB 13/665

GUSTAVO COSTA DE OLIVEIRA

FERRAMENTAS DE DIAGNÓSTICO DO ESTADO DE NITROGÊNIO EM PLANTAS DE MILHO CULTIVADAS EM SOLOS COESOS DE BAIXA FERTILIDADE

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente – PPGAA/CESBA/UEMA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agricultura e Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Heder Braun

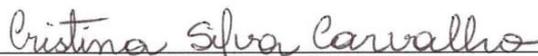
Aprovada em 02 / 09 / 2019

BANCA EXAMINADORA



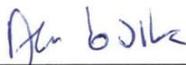
Prof. Dr. Heder Braun (Orientador)

Universidade Estadual do Maranhão - UEMA



Prof.ª Dr.ª. Cristina Silva Carvalho

Universidade Estadual do Maranhão - UEMA



Prof.ª Dr.ª. Alinne Silva

Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão - UEMASUL

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, autor de meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia, ao meu pai Joel Gouvêa de Oliveira, minha mãe Zeli Costa de Oliveira, aos meus irmãos e aos meus avós paternos (In Memoriam) e maternos.

Às pessoas com quem convivi nesses espaços ao longo desses anos. A experiência de uma produção compartilhada na comunhão com amigos nesses espaços foram a melhor experiência da minha formação acadêmica.

*“We have to remember that what we observe is not nature itself,
but nature exposed to our method of questioning”*

Werner Heisenberg

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que foi minha maior força nos momentos de angústia e desespero. Sem ele, nada disso seria possível. Obrigada, senhor, por colocar esperança, amor e fé no meu coração.

Aos meus pais Joel Gouvêa de Oliveira e Zeli Costa de Oliveira, pelo amor, incentivo e apoio incondicional.

Quero agradecer o meu professor orientador Dr. Heder Braun, pelo empenho dedicado ao meu projeto de pesquisa.

À pesquisadora Dra. Cristina Silva Carvalho pelo apoio durante a pesquisa e na construção da dissertação.

À Universidade Estadual do Maranhão, aos docentes, diretores, coordenadores e administração que proporcionaram o melhor dos ambientes para que esse trabalho fosse realizado.

Aos discentes do Programa de Pós-Graduação em Agroecologia que auxiliaram na execução desta pesquisa, em especial, Marcelo, Francisneide, Vanessa, Erivaldo, Danilo, Werlen, Lincon, Karen, Ester e Mauriana, e aos do curso de Eng. Agrônômica (UEMA) Jamires Avelino e Edwilson Bezerra.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior- CAPES pela concessão da bolsa.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão-FAPEMA por dar suporte em eventos acadêmicos, bolsa de Iniciação Científica aos estudantes de graduação, produção científica e aos projetos financiados.

Ao CNPq pela concessão dos recursos do projeto financiado e pela bolsa de Iniciação Científica aos estudantes de graduação.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado.

RESUMO

O nosso objetivo foi desenvolver indicadores de nitrogênio baseados em índices SPAD como ferramenta não destrutiva para prognosticar o estado de N e a produtividade do milho durante o desenvolvimento da cultura. Foram usadas cinco doses de N (0, 30, 60, 120 ou 180 kg ha⁻¹) aplicadas em cobertura, para criar variabilidade nos índices nitrogenados avaliados nas plantas de milho. Foi usado delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições. Foi usado o híbrido de milho AG1051. O valor do SPAD foi obtido em quatro folhas totalmente expandidas a partir do ápice da planta em cinco fases de crescimento vegetativo (V₅, V₇, V₁₁, antese e R₃). Os valores SPAD foram utilizados para calcular o índice SPAD normalizado (ISN), o índice SPAD relativo (ISR), a Diferença do índice SPAD (DIS), a Diferença do índice SPAD relativo (DISR) e a Diferença do índice SPAD normalizado (DISN). Em cada fase de crescimento foram determinados o teor de N na folha (TNF) e na planta (TNP), índice de nutrição nitrogenada (INN) e N acumulado na planta (NA). Os valores de INN variaram de 0,47 a 1,53. Os valores de INN foram superiores a 1,0 para todas as doses de N no estágio V₅, exceto para N₀ (INN = 0,99) e V₇. Isso indica que o crescimento das plantas não foi limitado pelas doses de N. As doses de N influenciaram de forma quadrática crescente a produtividade de grãos. A dose de 114,2 kg ha⁻¹ de N proporcionou a máxima produtividade de grãos de 2955,4 kg ha⁻¹. Na fase V₇, a produtividade de grãos apresentou a maior correlação com o valor SPAD obtido na folha L₁ ($r = 0,72$; $p < 0,01$) e a menor correlação com ISN₂ ($r = 0,52$; $p < 0,05$). Isso indica que 52% da produtividade de grãos foi explicada pelo valor do SPAD. Os resultados das correlações entre os índices SPAD e de N indicam que as folhas L₁ e L₂ são as mais sensíveis para leitura SPAD nas fases iniciais da cultura do milho. As fases iniciais V₅ e V₇, e as folhas L₁ e L₂ foram as que mostraram maior significância e r^2 dos índices SPAD com os 4 indicadores de N, mas com baixa ou nenhuma relação significativa para folha L₁ em V₁₁.

Palavras-chave: Adubação Nitrogenada. Manejo do nitrogênio. Clorofilômetro Portátil. Rendimento de Grãos. Índices Nitrogenados.

ABSTRACT

Our object was developed nitrogen indicators based on SPAD index as a non-destructive tool to predict N state and maize yield during the development of culture. Five N fertilization rate (0, 30, 60, 120 ou 180 kg ha⁻¹) applied as top-dressing to generate contrasting conditions of nitrogen availability in maize plants. A randomized block design with four replications was used. The AG1051 maize hybrid was used. The SPAD value was obtained in four fully expanded leaves from the plant apex in five phases of vegetative growth (V₅, V₇, V₁₁, anthesis and R₃). The SPAD values were used to calculate the normalized SPAD index (NSI), relative SPAD index (RSI), difference SPAD index (DSI), relative difference SPAD index (RDSI) and normalized difference SPAD index (NDSI). At each growth stage leaf N concentration (LNC), plant N concentration (PNC), nitrogen nutrition index (NNI) and plant N accumulation (NA), were determined. The INN values ranged from 0.47 to 1.53. INN values were greater than 1.0 for all rate of N at stage V₅ except for N₀ (INN = 0.99) and V₇. This indicates that plant growth was not limited by N rates. The N rates increased quadratically the grain yield. The 114.2 kg ha⁻¹ N rate provided the maximum grain yield of 2955.4 kg ha⁻¹. In stage V⁷, grain yield showed the highest correlation with the SPAD value obtained on leaf L₁ (r = 0.72; p <0.01) and the lowest correlation with NSI₂ (r = 0.52; p <0, 05). This indicates that 52% of grain yield was explained by the SPAD value. The results of correlations between SPAD and N index indicate that L₁ and L₂ leaves are the most sensitive for SPAD reading in the early stages of maize. The initial stages V₅ and V₇, and leaves L₁ and L₂ were the ones that showed the highest significance and r₂ of SPAD index with the 4 N indicators, but with low or no significant relation for L₁ leaf in V₁₁.

Keyword: Nitrogen fertilization. Nitrogen management. Portable chlorophyll meter. Grain yield. Nitrogen index.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Efeito da adubação nitrogenada sobre o índice SPAD na posição das folhas L₁ (A), L₂ (B), L₃ (C) e L₄ (D) nas fases de desenvolvimento V₅, V₇, V₁₁, antese e R₂.....26
- Figura 2.** Produtividade de grãos de milho (kg ha⁻¹) em função de doses de N (kg ha⁻¹), São Luís, 2018.....26
- Figura 3.** Regressões ajustadas entre L₂ e teor de N na folha (TNF, g kg⁻¹) (3A), teor de N na planta (TNP, g kg⁻¹) (3B) e índice de nutrição nitrogenada (3C) em milho sob doses de N no estágio de V₅ para V₁₁ e N acumulado na planta (kg ha⁻¹) (3D) de V₅ para V₇.....33

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Efeito das doses de N sobre os índices SPAD e índices de nitrogenados em diferentes fases de crescimento e a posição da folha (L1 a L4).....25
- Tabela 2.** Coeficiente de determinação (r^2) entre os índices SPAD e o teor de nitrogênio na planta (TNP, g kg^{-1}) e com o nitrogênio acumulado (NA, kg ha^{-1} de N) nos cinco fases de desenvolvimento da planta de milho.....28
- Tabela 3.** Coeficiente de determinação (r^2) entre os índices SPAD com o teor de nitrogênio na folha (TNF, g kg^{-1}) e índice de nutrição nitrogenada (INN) nas cinco fases de crescimento da planta de milho.....29
- Tabela 4.** Modelos de diagnóstico em diferentes fases de crescimento dos indicadores de N (LNC, PNC, NA e NNI) em função do valor SPAD obtido em L_2 e o ISN_432
- Tabela 5.** Coeficientes de determinação (r^2) entre os índices SPAD e índices de nitrogênio com a produtividade de grãos de milho.....33

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1. NITROGÊNIO NO SISTEMA SOLO-PLANTA.....	13
2.2. ÍNDICES NITROGENADOS.....	14
2.3. PRINCÍPIO E USO DOS MEDIDORES DE CLOROFILA <i>IN SITU</i>	15
3. OBJETIVOS	19
3.1. OBJETIVO GERAL	19
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
4. MATERIAL E MÉTODOS	20
5. RESULTADOS	23
5.1. EFEITO DAS DOSES DE N SOBRE O ÍNDICE SPAD, ÍNDICES DE NITROGENADOS EM DIFERENTES FASES DE CRESCIMENTO E A POSIÇÃO DA FOLHA E PRODUTIVIDADE DE GRÃOS DE MILHO.....	23
5.2. RELAÇÃO DA FERRAMENTA DE DIAGNÓSTICO DE NITROGÊNIO DURANTE AS FASES DE DESENVOLVIMENTO DA CULTURA	26
5.3. MODELO DE DIAGNÓSTICO DE N ENTRE OS ISNS E OS ÍNDICES DE N	29
5.4. CORRELAÇÃO ENTRE OS ÍNDICES E A PRODUTIVIDADE FINAL	31
6. DISCUSSÃO	33
7. CONCLUSÃO	38
8. AGRADECIMENTOS	38
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	39

1. INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um cereal muito utilizado tanto na alimentação humana como também na nutrição animal na forma de silagem e de grãos. É uma das culturas mais plantadas no Brasil, tanto por pequenos como por grandes produtores devido a sua diversidade de uso na propriedade rural e por ser um dos cereais de maior importância na economia nacional. A área cultivada no país é de aproximadamente 17 milhões de hectares, com produtividade média de 5.448 kg ha⁻¹ e produção de 91.652,3 mil toneladas na safra de 2018/2019. O Maranhão possui produtividade abaixo da média nacional, cerca de 3.876,3 kg ha⁻¹, com cultivo de aproximadamente 479,4 mil ha⁻¹ e produção de 1.858,3 mil toneladas (CONAB, 2019).

Dentre os macronutrientes, o nitrogênio (N) é o mais absorvido pela cultura do milho e diversas outras culturas, e o manejo desse macronutriente é essencial para a alta produtividade e máxima eficiência de seu uso pelas plantas. No entanto, é complexo e trabalhoso quando interpretado apenas no solo, pois depende da dinâmica que esse nutriente sofre no mesmo, como: mineralização, lixiviação, nitrificação, volatilização, desnitrificação e imobilização, e que por sua vez são dependentes das condições edafoclimáticas de cada região (WANG *et al.*, 2015).

O suprimento subótimo de N resulta em retardamento do desenvolvimento da parte aérea da planta, diminuindo o índice de área foliar, fotossíntese e concentração de clorofilas, o que reflete em uma baixa produtividade da cultura (DIAS, 2016). Aplicações de doses excessivas são comuns no Maranhão, devido a difícil determinação do estado nutricional de N na cultura, em que o diagnóstico se resume na maioria dos casos em análise da matéria orgânica do solo. Essa prática não resulta apenas em poluição ambiental do lençol freático pela lixiviação do N aplicado no solo não absorvido pelas plantas (WANG *et al.*, 2015), mas também aumenta o custo de produção com aplicações desnecessárias.

As recomendações de manejo de N baseadas apenas na matéria orgânica do solo, na perspectiva de rendimento de grão e em índices nitrogenados da planta são limitadas, pois as análises são geralmente demoradas, o que reduz a utilidade dos resultados para o cultivo atual em dado momento de déficit de N. À vista disso, é essencial determinar durante o período da cultura com precisão e de forma rápida o estado de N na planta.

Técnicas que utilizam indicadores de N baseados em plantas foram desenvolvidas para otimizar o rendimento das culturas, e entre as mais comuns estão o teor de N-total na planta ou na folha e o nitrogênio acumulado na planta (GONDIM *et al.*, 2016), as quais utilizam como critério de interpretação o nível crítico de concentração na planta, e ainda, os resultados são obtidos mais rapidamente (GIL, 2001).

Os medidores de clorofila portáteis vêm sendo utilizados para auxiliar na adubação nitrogenada, em especial o SPAD-502 (Minolta Camera Co., Osaka, Japão), utilizado com eficiência no arroz para a determinação de índices nitrogenados (LIN *et al.*, 2010) e na batata para o prognóstico de produtividade (COELHO *et al.*, 2010; FONTES *et al.*, 2016; MILAGRES *et al.*, 2018). É possível monitorar em tempo real a cultura através da intensidade do verde nas folhas medido pelo aparelho, e assim recomendar a tempo a adubação de N em cobertura. No entanto, suas leituras são influenciadas pela localidade, variedade, estação do ano, fase de desenvolvimento e pela posição da folha (ZHAO *et al.*, 2016). Pesquisas que utilizam índices desenvolvidos a partir de leituras SPAD estão sendo desenvolvidas para minimizar esses efeitos.

Portanto, as leituras do clorofilômetro SPAD poderiam ser usadas para estimar de maneira fácil, rápida e confiável o estado de N no milho no Maranhão e ainda serem passíveis de prognosticar a produtividade. No entanto, vários problemas de modelagem geralmente ocorrem na determinação, e para minimizar esses fatores é necessária à corroboração adicional ao longo dos anos através de pesquisas para calibrar e efetivar modelos propostos (LIN *et al.*, 2010; YUAN *et al.*, 2016).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Nitrogênio no sistema solo-planta

O nitrogênio (N) é um nutriente de acentuado dinamismo no solo, um dos exigidos em maiores quantidades pela cultura do milho e o principal limitante de produtividade depois do déficit hídrico, quando não suprido adequadamente pelo solo. Após o carbono, hidrogênio e oxigênio, o N é o mais abundante nas plantas, além de ser constituinte das principais moléculas como ácidos nucléicos, RNA e DNA, que participam de várias reações para o crescimento e desenvolvimento vegetal (TAIZ *et al.*, 2017).

Presente em 78% da atmosfera terrestre, o nitrogênio atmosférico (N₂) que penetra os estômatos não é fixado pelas plantas, pois a quantidade que entra é igual à quantidade que sai. Para ser assimilado, o N deve passar por vários processos bioquímicos para se transformar em formas assimiláveis como o amônio (NH₄⁺) ou o nitrato (NO₃⁻), formas predominantes de N mineral no solo disponível às plantas (RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2007; TAIZ *et al.*, 2017). Pesquisas evidenciam claramente a relação da aplicação da adubação nitrogenada com o aumento de produtividade das culturas, no entanto, aumento excessivo das doses de N pode provocar diminuição de sua eficiência (COELHO *et al.*, 2010; FRANÇA *et al.*, 2011; SZILAGYI-ZECCHIN *et al.*, 2017), com a perda desse nutriente não metabolizado para o ambiente por imobilização, volatilização (N₂O e N-NH₃) e lixiviação (N-NO₃), o que pode levar a poluição ambiental dos lençóis freáticos e a diminuição da rentabilidade do produtor (WANG *et al.*, 2015).

Em função do complexo dinamismo do N no solo, a adubação normalmente é aplicada em grandes quantidades de forma parcelada, de maneira a atender a demanda do nutriente de acordo com a fase fenológico da cultura e minimizar o impacto ambiental pela diminuição das perdas (FERNANDES; LIBARDI, 2007). Contudo, agricultores com pouca tecnologia enfrentam problemas no manejo do N e relacionam estreitamente o aumento de produtividade com o aumento de adubação, sem identificar as possíveis perdas e o que realmente é metabolizado pela planta, o que eleva os gastos de produção e reduz a renda.

A eficiência de uso do nitrogênio (EUN) é buscada para melhorar o uso dos recursos nitrogenados e contribuir para uma agricultura sustentável. A EUN é definida como a relação entre a produtividade e a disponibilidade de N no solo. Essa relação ainda pode ser dividida para se obter outras informações como a eficiência de absorção de N (EAN), a qual expressa a capacidade que a planta tem em absorver o N presente no solo, e a eficiência de utilização do N (EUtN), que expressa a capacidade da planta em utilizar o N para produção de grãos (MOLL; KAMPRATH; JACKSON, 1982).

Normalmente, a EUN (relação entre a produtividade e quantidade de N disponível em kg kg^{-1}) pela cultura do milho situa-se na faixa de 35 kg kg^{-1} a 47 kg kg^{-1} (BARBIERI *et al.*, 2008) e de $48,7 \text{ kg kg}^{-1}$ a $52,6 \text{ kg kg}^{-1}$ na cultura do arroz (JIAN *et al.*, 2014). Beche *et al.* (2014), concluíram que na cultura do trigo sob baixa oferta de N, as variáveis EAN e eficiência de remobilização do N (ERemN) correlacionaram-se direta e indiretamente com a produtividade de grãos, enquanto em alta oferta de N as variáveis EUN e a EUtN, foram as de melhor representatividade.

2.2. Índices nitrogenados

No Brasil, a recomendação de adubação nitrogenada é baseada na análise química no teor da matéria orgânica no solo, fundamentando-se no princípio da mineralização (AMADO *et al.*, 2002), o que estreita uma análise mais detalhada do nutriente disponível as plantas. Como forma adicional do manejo de N, vários métodos foram propostos para estima-lo na planta baseados em índices nitrogenados, em que a planta é o principal indicador de sua utilização.

Yuan *et al.* (2016), afirmam que existem quatro índices nitrogenados importantes para o manejo de N: teor total de N na planta (TNP), teor de N na folha (TNF), índice de nutrição nitrogenada (INN) e N acumulado na planta (NA). No entanto, essas variáveis precisam de valores de referência para serem interpretadas, sendo cada índice de caráter de interpretação único e sua utilização dependerá de cada momento (ROBERTS *et al.*, 2010), além do mais, cada método possui limitações em seus modelos e necessitam de constantes estudos e melhorias.

Lemaire (1997) considera o indicador TNF mais confiável que a TNP, pois esses autores observaram que mesmo com a diminuição da biomassa, o TNF continuava constante, enquanto o TNP diminuiu. Com isso alguns autores passaram a diagnosticar o estado de N da planta com base na TNF. Zhao *et al.* (2017) desenvolveram uma nova curva de diluição de N baseado na TNF e na matéria da folha seca que pode ser utilizada para determinar o estado de N na cultura do milho. A teoria da diluição crítica de N consiste no mínimo de N necessário para a máxima produção de matéria seca, definida pela seguinte equação (JUSTES *et al.*, 1994):

$$\%N_c = a_c DM^{-b}$$

Onde a_c é concentração de N crítico (%) para a **DM**, que é a matéria seca acumulada na parte aérea (t ha^{-1}), e **b** o declínio desse N. Isso significa que com o aumento da matéria seca há um decréscimo da concentração de N crítico.

O Índice de Nutrição Nitrogenada (INN) é uma derivação do %N_c, no qual consiste da relação da concentração de N real pelo N crítico, que pode ser da folha ou da planta. O N na planta é considerado ótimo quando o INN é igual a 1 (um), em excesso quando maior e insuficiente quando menor (ZHAO *et al.*, 2016). O N acumulado na planta (NA) é importante indicador do estado de N, pois mostra o desenvolvimento vegetal da cultura de maneira geral. É determinado pelo produto da concentração de N pela matéria da planta seca.

Yuan *et al.* (2016), descobriram que apesar do INN e do NA serem importantes no diagnóstico do N na cultura do arroz, os mesmos são mais efetivos na determinação direta, pois apresentam problemas na determinação indireta com medidores de clorofila, como por exemplo, o SPAD-502 (Minolta Camera Co., Osaka, Japão), o que leva a diminuição da sua confiabilidade.

2.3. Princípio e uso dos medidores de clorofila *in situ*

A energia solar é uma das principais fontes de sustentação da vida na Terra, aproveitada principalmente pelas plantas através do processo de fotossíntese, que significa, literalmente, “síntese utilizando a luz”. Esse processo transforma a energia luminosa em compostos de alta energia, como ATP e NADPH, que impulsionam processos celulares nas plantas, ou seja, os produtores primários que servem como fonte de energia para todas as formas de vida (TAIZ *et al.*, 2017). Os processos da fotossíntese ocorrem na membrana dos tilacoides dos cloroplastos, que absorvem a luz através de pigmentos fotossintéticos especializados, as clorofilas (TAIZ *et al.*, 2017). Assim, as clorofilas estão ligas à eficiência fotossintética, e, conseqüentemente, no crescimento e adaptação das plantas a diversos ambientes.

O teor de clorofila é altamente relacionado com o N, nutriente mineral absorvido em maior quantidade pelas plantas (WOLFFI; FLOSS, 2008). Em sua estrutura molecular, as clorofilas *a* e *b* possuem um anel do tipo porfirina, com um íon de magnésio no centro ligado a quatro íons de N (TAIZ *et al.*, 2017). Deste modo, qualquer deficiência de N na planta influencia diretamente a eficiência fotossintética, que pode resultar em menor produção de biomassa vegetal, e, em culturas agrícolas de interesse econômico, menor produtividade.

Cada tipo de clorofila tem capacidade de absorver um ponto máximo de fóton a determinado comprimento de onda do espectro visível, que varia entre 428 e 660nm (clorofila *a*) e entre 452 e 641,8nm (clorofila *b*) (LICHTENTHALER, 1987). Essa capacidade de absorver fótons a comprimentos de ondas conhecidas torna possível sua determinação através de uma técnica amplamente utilizada chamada de espectrofotometria. Em síntese, a clorofila é extraída através de um solvente, seguida de leituras em espectrofotômetro, onde é determinada a absorção de luz de

uma amostra, e seus resultados são calculados através de equações propostas, como a de Inskeep e Bloom (1985) para obtenção da clorofila *a*, *b* e total. Várias são as discussões sobre os tipos de solventes, a precisão do espectrofotômetro no comprimento de onda e na leitura, e a equação mais adequada (PARRY *et al.*, 2014), o que demonstra ser um método complexo e demorado.

Do ponto de vista comercial, os resultados obtidos não servem como parâmetro de avaliação da planta durante os cultivos, pois são utilizados como comparativos para cultivos futuros com padrões de referência. Similarmente, os mesmos problemas também são observados na determinação da concentração de N na planta por métodos químicos, como o de Kjeldahl. A vantagem dessas duas determinações é a alta correlação com o crescimento e produtividade das culturas, que serve como ferramenta adicional à análise de solo no manejo nutricional da cultura (LIN *et al.*, 2010).

Para contornar limitações do tempo de obtenção de resultados e destruição das plantas pelos métodos químicos, os clorofilômetros foram desenvolvidos como instrumentos de medição indireta, com fundamento nas propriedades óticas da folha. Existem diversos tipos no mercado, no entanto o mais difundido e utilizado é o SPAD-502 (Minolta Camera Co., Osaka, Japão), no qual é determinado um “valor SPAD” ou “índice SPAD” (de alta correlação com a clorofila) pela medida de absorbância de dois comprimentos de onda. Esse equipamento mede através de um fotodiodo de silício a quantidade de luz transmitida através da folha nos comprimentos de onda de 650nm e 940nm (MILNOLTA, 1989). O primeiro comprimento de onda está numa faixa que é absorvida pelas clorofilas, enquanto a emissão de 940nm (não absorvida pelas clorofilas) serve como ajuste de diferenças causadas por estruturas do tecido foliar (espessura do tecido foliar e teor de água) que absorvem fótons também a 650nm (MONJE; BUBEE, 1992). O sinal luminoso (fótons) que atravessa a folha é recebido pelo fotodiodo e convertido primeiramente em sinais elétricos e depois em sinais digitais. Um microprocessador no equipamento utiliza os sinais digitais para calcular o “valor SPAD” que é mostrado no display do equipamento (MILNOLTA, 1989). O SPAD-502 possui um algoritmo não fornecido para converter esses sinais em valores SPAD, mas que Naus *et al.* (2010) derivou matematicamente a equação de conversão:

$$\text{SPAD} = k \times \log \frac{\% \text{ de transmissão } 940 \text{ nm}}{\% \text{ de transmissão } 650 \text{ nm}} + C$$

Onde *k* é um coeficiente de proporcionalidade confidencial (define as unidades SPAD) e *C* é o valor de compensação ajustável no software do instrumento.

A sigla SPAD significa “*soil plant analysis development*” e infelizmente os valores SPAD não são diretamente proporcionais aos teores de clorofila na folha, são apenas indicadores relativos da concentração de clorofila (PARRY *et al.*, 2014). As primeiras equações que relacionavam os valores SPAD com a concentração de clorofila em mg m^{-2} foram propostas por Monje e Bugbee (1992), e atualmente existem diversas equações propostas para diferentes culturas, variedades e localidades (PARRY *et al.*, 2014). Vários pesquisadores também desenvolveram equações de predição do nitrogênio na planta com utilização dos valores SPAD (LIN *et al.*, 2010; YUAN *et al.*, 2016; ZHAO *et al.*, 2016; ZHAO *et al.*, 2017).

Nesse sentido, o uso do índice SPAD tem sido empregado com sucesso para diversas culturas para diagnosticar o estado de N em plantas, como pepino japonês (PÔRTO *et al.*, 2014), abobrinha (PÔRTO *et al.*, 2011), batata (SILVA *et al.*, 2009; FONTES *et al.*, 2016), arroz (YUAN *et al.*, 2016), milho (ŽYDELIS *et al.*, 2018), cevada (ZHAO *et al.*, 2016), feijão (TEIXEIRA *et al.*, 2004), entre outras.

Hurtado *et al.* (2010) estimaram valores de referências do índice SPAD para o milho para os fases fenológicos V_2 (38,1), V_3 (44,8), V_4 (50,6), V_5 (55,6), V_7 (59,7), V_9 (62,9), V_{11} (65,2), V_{14} (66,7), R_1 (67,2), R_2 (66,9) e R_3 (65,6). Esses autores encontraram valores muito distintos dos encontrados por Argenta *et al.* (2004), o que afirma que os valores SPAD são próprios ao híbrido e fase fenológico, com ressalvas para a interpretação em diferentes condições ambientais e de manejo.

Estudo realizado com a cultura do arroz, Lin *et al.* (2010) afirmaram que embora o índice SPAD tenha se tornado uma ferramenta rápida e precisa para estimar o estado de N na planta, o problema é que há grande variação dos índices SPAD em razão de genótipos, fases de desenvolvimento, local, posição da folha e ponto de amostragem, o que pode tornar os dados inconsistentes para a recomendação da adubação nitrogenada. Os mesmos autores demonstraram quatro modelos baseados no índice SPAD como proposta para estabelecer índices universais para o diagnóstico do N no arroz, baseado no princípio do N translocado das folhas mais velhas para as mais jovens quando as plantas são deficientes em N. Tais índices foram: DIS (diferença do índice SPAD entre a primeira e a terceira folha), ISR (razão do índice SPAD da primeira com a terceira folha), DISR (razão do DIS com a terceira folha) e DISN (Diferença normalizada do índice SPAD; razão do DIS pelo produto da primeira com a terceira folha).

Além desses quatro índices, o índice de suficiência de N (ISN) também foi desenvolvido para compensar as variações do medidor SPAD, o qual é calculado pela razão das leituras do medidor SPAD do tratamento com menores quantidades de N aplicado e do tratamento que recebe maior quantidade de N (área de referência) (BLACKMER; SCHEPERS, 1995). Assim, é

possível trabalhar com valores referências de ISN que indiquem situações de deficiências de N e a necessidade de adubação de cobertura.

Hurtado *et al.* (2011) utilizaram parcelas com valor de referência de ISN $< 0,95$ como necessidade de aplicação de N em cobertura na planta de milho e observaram necessidade de doses de N até 180 kg ha^{-1} em cobertura parceladas (doses de 45 kg ha^{-1}) por indicação da insuficiência de N pelo clorofilômetro. Os autores concluíram não ser eficiente o uso do ISN de 0,95 durante todo o ciclo da cultura e extrapolaram a dose de máxima eficiência técnica (144 kg ha^{-1}) ou econômica (105 kg ha^{-1}) e propuseram o limite de ISN de 0,90 a partir da fase V_8 , pois foi a que mais se aproximou da dose econômica do experimento.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Desenvolver índices nitrogenados baseados em índices SPAD como ferramenta não destrutiva para prognosticar a produtividade do milho ao longo do desenvolvimento da cultura.

3.2. Objetivos específicos

Determinar os índices nitrogenados e os índices SPAD em cinco fases de crescimento da planta de milho,

Correlacionar os índices SPAD com os índices nitrogenados e selecionar as correlações mais significativas,

Identificar a fase de crescimento apropriado para avaliar o estado de N por meio dos índices obtidos,

Selecionar os índices mais apropriados para o prognóstico da produtividade.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em campo, na área experimental da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), em São Luís (2° 30' S e 44° 18' W, altitude de 24 m), no período de fevereiro a maio de 2018 (período chuvoso). O clima da região na classificação de Köppen é do tipo Aw, equatorial quente e úmido, com duas estações bem definidas: uma chuvosa, que se estende de janeiro a junho, e outra seca, com déficit hídrico acentuado de julho a dezembro. As precipitações anuais variam de 1700 mm a 2300 mm e aproximadamente 80% ocorrem de janeiro a maio. O solo da área experimental é classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo Distrófico arênico com textura franco arenosa (EMBRAPA, 2013). As características químicas e físicas do solo determinadas antes da instalação do experimento na camada de 0-20 cm eram: pH CaCl₂ = 4,5; matéria orgânica = 11 g dm⁻³; P = 2 mg dm⁻³; K = 0,5 mmol_c dm⁻³; Ca = 14 mmol_c dm⁻³; Mg = 9 mmol_c dm⁻³; H + Al = 21 mmol_c dm⁻³; soma de bases = 23,5 mmol_c dm⁻³; CTC = 44,5 mmol_c dm⁻³; V = 52,8%; areia grossa = 410 g kg⁻¹; areia fina = 450 g kg⁻¹; silte = 40 g kg⁻¹; argila = 100 g kg⁻¹.

A vegetação predominante da área experimental foi roçada, em seguida os resíduos vegetais foram deixados sobre a superfície do solo, conforme fazem os agricultores da região. A adubação, feita manualmente no sulco de plantio, constou de 20 kg ha⁻¹ de N (ureia, 45% de N), exceto nos tratamentos controle, 120 kg ha⁻¹ P₂O₅ (superfosfato simples, 28% de P₂O₅) e 80 kg ha⁻¹ de K₂O (cloreto de potássio, 60% de K₂O). O controle de plantas daninhas foi realizado com capinas manual, quando necessário e fez-se o controle da lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*) com o produto químico Decis 25 EC na dosagem de 200 mL por litro, aplicado na fase V₁₀.

Foram usadas cinco doses de N (0, 30, 60, 90 ou 180 kg ha⁻¹) aplicadas em cobertura. Como fonte de N foi utilizada a ureia (45% de N). As doses foram parceladas assim: metade da dose foi aplicada na fase fenológica V₄ (presença da quarta folha completamente expandida) e metade na fase fenológica V₆ (presença da sexta folha completamente expandida) da escala de Ritchie (RITCHIE *et al.*, 1992). Foram utilizadas doses de N para criar variabilidade na determinação dos índices SPAD e nitrogenados. A parcela experimental foi constituída de cinco fileiras de 5 m, espaçadas de 0,80 m. Foram utilizadas sementes do híbrido AG1051, semeadas manualmente, com oito sementes por metro de sulco. O desbaste foi realizado aos 12 dias após a emergência (DAE) das plantas de milho para atingir quatro plantas por metro de sulco. A parcela útil constou das três fileiras centrais desconsiderando 50 cm de cada extremidade (12 m²). Foi usado o delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições.

Os índices SPAD e de nitrogênio na planta foram obtidos nestas fases de crescimento: cinco a seis folhas (V_5), sete a oito folhas (V_7) e onze a doze folhas (V_{11}) completamente desenvolvidas, na fase de início do florescimento e na fase do grão leitoso (R_2). Os índices SPAD foram obtidos com o clorofilômetro (Minolta SPAD 502, Osaka, Japão) na primeira (L_1), segunda (L_2), terceira (L_3) e quarta (L_4) folha completamente expandida a partir do ápice da planta. Nas fases de crescimento, as leituras SPAD foram feitas em dez folhas de dez plantas escolhidas aleatoriamente em cada parcela. Em cada folha, três leituras foram feitas em três locais (primeiro terço médio, ponto médio da folha e segundo terço médio). A média das leituras realizadas em dez folhas representou a média da parcela. As leituras foram feitas entre 8:00 e 11:00 horas da manhã. Com as leituras do SPAD foram calculados o índice SPAD normalizado (ISN), a diferença do índice SPAD (DIS), o índice SPAD relativo (ISR), a Diferença do índice SPAD relativo (DISR) e a diferença do índice SPAD normalizado (DISN). O ISN para as diferentes posições de folhas foi calculado da seguinte forma (YUAN *et al.*, 2016):

$$\begin{aligned} (1) \text{ ISN}_1 &= \frac{L_{1(i)}}{L_1 \text{ no tratamento com maior dose de N}} \\ (2) \text{ ISN}_2 &= \frac{L_{2(i)}}{L_2 \text{ no tratamento com maior dose de N}} \\ (3) \text{ ISN}_3 &= \frac{L_{3(i)}}{L_3 \text{ no tratamento com maior dose de N}} \\ (4) \text{ ISN}_4 &= \frac{L_{4(i)}}{L_4 \text{ no tratamento com maior dose de N}} \end{aligned}$$

O DIS, ISR, DISR e DISN foram calculados de acordo os modelos estudados por Lin *et al.*, 2010:

$$\begin{aligned} (5) \text{ DIS} &= L_1 - L_3 \\ (6) \text{ ISR} &= \frac{L_1}{L_3} \\ (7) \text{ DISR} &= \frac{L_1 - L_3}{L_3} \\ (8) \text{ DISN} &= \frac{L_1 - L_3}{L_1 + L_3} \end{aligned}$$

Nas cinco fases de crescimento foram coletadas duas plantas por parcela. Nessas fases, a parte aérea das plantas foram cortadas rente ao solo e separaram-se as folhas do colmo das plantas. Posteriormente, as folhas e os colmos foram acondicionados em sacos de papel e colocados em estufa de ventilação forçada de ar a 70 °C até massa constante. Após a secagem, foi determinada

a massa da parte aérea da planta seca pela soma da massa da folha seca e da massa do colmo seco. Após a pesagem, a parte aérea das plantas foram moídas em moinho tipo Wiley. Amostras de 0,2 g do tecido foliar e de toda a parte aérea da planta foram submetidas à digestão sulfúrica. Em seguida, foi determinado os teores de N na folha e na parte aérea da planta nos extratos por destilação pelo método Kjeldahl (Tedesco et al., 1995). O N acumulado (NA) na parte aérea das plantas foi determinado pela multiplicação entre o teor de N na planta e a massa da parte aérea da planta seca. O índice de nutrição nitrogenada (INN) foi calculado pela razão entre o teor de nitrogênio na folha (TNF, %) e o N crítico (Nc), através das equações (9) e (10) (ZHAO *et al.*, 2017).

$$(9) \text{ INN} = \frac{\text{TNF}\%}{\text{Nc}}$$

$$(10) \text{ Nc} = 3,45 \times \text{MS}^{-0,22}$$

Onde **MS** é a massa da folha seca (t ha^{-1}) e **Nc** é o teor de N na parte aérea (g N kg^{-1} MS). Para as parcelas que apresentaram massa da folha seca $< 1,18 \text{ t ha}^{-1}$ foi utilizado a constante $\text{Nc} = 3,33\%$. O estado de N no milho foi considerado ótimo quando $\text{N} = 1$, deficiente quando $\text{N} < 1$, e em excesso quando $\text{N} > 1$.

Na colheita, realizada aos 87 DAE, todas as espigas das plantas da área útil de 12 m^2 foram coletadas manualmente. Posteriormente, os grãos foram debulhados e pesados. A produtividade, em kg ha^{-1} , foi estimada com correção para o teor de 130 g kg^{-1} de água.

Os dados obtidos foram submetidos à análise exploratória com objetivo de identificar *outliers*. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e regressão. Os modelos foram escolhidos com base na resposta biológica, significância dos coeficientes de regressão e valor do coeficiente de determinação (r^2). O r^2 foi obtido pela relação entre soma de quadrado da regressão e a soma de quadrado de tratamento. Foi realizada análise de correlação entre os índices SPAD e os índices nitrogenados e as relações foram estabelecidas por meio de regressão linear simples. Para a execução das análises estatísticas foi utilizado o Software livre R com a interface RStudio (R CORE TEAM, 2018).

5. RESULTADOS

5.1. Efeito das doses de N sobre o índice SPAD, índices nitrogenados em diferentes fases de crescimento e a posição da folha e produtividade de grãos de milho.

Para todas as variáveis avaliadas, as doses de N influenciaram os índices SPAD e os índices de nitrogenados em diferentes fases de crescimento e a posição da folha (L_1 a L_4) de forma linear crescente e quadrática crescente. As equações ajustadas apresentaram coeficiente de determinação (r^2) entre 0,54 e 0,99 (Tabela 1). As doses de N não influenciaram o índice SPAD na fase de crescimento V_5 e nas posições L_2 , L_3 e L_4 da folha. As doses de N não influenciaram o teor de N na planta (TNP) na fase de crescimento V_{11} e o N acumulado (NA) na fase de crescimento V_5 (Tabela 1).

As leituras do índice SPAD variaram de 26,96 a 49,98 (L_1); 30,20 a 52,83 (L_2); 32,76 a 56,48 (L_3) e de 31,38 a 57,19 (L_4) (Figura 1). Na folha mais nova da planta (L_1), os menores valores do SPAD foram obtidos na ausência de N. Os índices SPAD medidos nas quatro folhas aumentaram até a fase V_7 , principalmente nas folhas L_2 , L_3 e L_4 . Os valores mais altos encontrados na fase V_7 foram obtidos nos tratamentos N_{120} e N_{180} . Após essa fase de crescimento, as doses N_0 e N_{30} apresentaram os menores valores do índice SPAD (Figura 1).

Os valores do teor de N na planta (TNP) e na folha (TNF) reduziram conforme o crescimento da planta, de 50,95 g kg⁻¹ na fase V_7 para 7,41 g kg⁻¹ e 15,39 g kg⁻¹ na fase R_2 , respectivamente (dados não mostrados). Os valores de INN variaram de 0,47 a 1,53. Os valores de INN foram superiores a 1,0 para todas as doses de N no estágio V_5 , exceto para N_0 (INN = 0,99) e V_7 , o que indica que o crescimento das plantas não foi limitado pelas doses de N. Com o desenvolvimento da cultura, os valores diminuiriam gradativamente. Diferentemente, os valores de INN foram menores que 1,0 para os estádios da antese e R_2 . Para NA, o maior acúmulo ocorreu na antese (68,88 kg ha⁻¹) e diminuição em R_2 .

As doses de N influenciaram de forma quadrática crescente a produtividade de grãos de milho (Figura 2). Como esperado, houve aumento na produtividade com o aumento das doses de N, até uma dose ótima de N correspondente à máxima produtividade, que a partir dessa dose, a produtividade do milho declinou. A dose de 114,2 kg ha⁻¹ de N proporcionou a máxima produtividade de grãos de 2.955,4 kg ha⁻¹.

Tabela 1. Efeito das doses de N sobre os índices SPAD e índices de nitrogenados em diferentes fases de crescimento e a posição da folha (L1 a L4).

Fases	Índices SPAD	r ²	p-valor		Índices de N	r ²	p-valor
V ₅	Y = 38,5819+0,0301*X	0,96	0,037**		Y = 34,2961+0,0203*X	0,55	0,034**
V ₇	Y = 42,9923+0,1284*X -0,0006*X ²	0,99	0,013**		Y = 38,628+0,1686*X -0,0006*X ²	0,84	<0,001***
V ₁₁	L ₁ Y = 32,8342+0,1968*X -0,0009*X ²	0,88	<0,001***	TNP	Y = 28,83	-	0,295
Antese	Y = 26,6042+0,1545*X -0,0004*X ²	0,99	<0,001***		Y = 11,2709+0,0925*X -0,0004*X ²	0,84	0,068°
R ₂	Y = 31,3505+0,0811*X	0,97	<0,001***		Y = 7,4767+0,0385*X	0,83	<0,001***
V ₅	Y = 42,94	-	0,169		Y = 34,2961+0,0203*X	0,55	0,034**
V ₇	Y = 48,4485+0,0686*X -0,0002*X ²	0,97	0,003**		Y = 38,628+0,1686*X -0,0006*X ²	0,84	<0,001***
V ₁₁	L ₂ Y = 35,9383+0,2173*X -0,001*X ²	0,91	<0,001***	TNF	Y = 24,0599+0,1668*X -0,0007*X ²	0,93	0,027**
Antese	Y = 31,4308+0,0893*X	0,97	<0,001***		Y = 16,7597+0,0627*X	0,84	0,007**
R ₂	Y = 33,5059+0,0782*X	0,97	<0,001***		Y = 16,0629+0,0554*X	0,88	<0,001***
V ₅	Y = 40,6506	-	0,420		Y = 1,0323+0,0006*X	0,54	0,032**
V ₇	Y = 51,0935+0,0820*X -0,0003*X ²	0,99	<0,001***		Y = 1,1597+0,0051*X -0,00002*X ²	0,84	<0,001***
V ₁₁	L ₃ Y = 38,3790+0,2382*X -0,001*X ²	0,88	<0,001***	INN	Y = 0,7308+0,0048*X -0,00002*X ²	0,93	0,030**
Antese	Y = 30,7953+0,2095*X -0,0006*X ²	0,99	<0,001***		Y = 0,5194+0,0022*X	0,83	0,006**
R ₂	Y = 33,3293+0,0928*X	0,97	<0,001***		Y = 0,4805+0,0019*X	0,86	<0,001***
V ₅	Y = 37,94	-	0,562		Y = 3,34	-	0,36
V ₇	Y = 51,1+0,0863*X -0,0003*X ²	0,99	0,520		Y = 9,9697+0,0463*X	0,80	0,009**
V ₁₁	L ₄ Y = 39,9892+0,2979*X -0,0012*X ²	0,95	<0,001***	NA	Y = 35,0658+0,1159*X	0,82	0,090**
Antese	Y = 32,4952+0,1996*X -0,0005*X ²	0,99	<0,001***		Y = 21,0087+0,7543*X -0,0028*X ²	0,97	<0,001***
R ₂	Y = 33,7207+0,0977*X	0,97	<0,001***		Y = 19,8101+0,2171*X	0,96	0,005**

***, **, * e °: significativo a 0,1; 1; 5; e 10%, respectivamente.

Figura 1. Efeito da adubação nitrogenada sobre o índice SPAD na posição das folhas L₁ (A), L₂ (B), L₃ (C) e L₄ (D) nas fases de desenvolvimento V₅, V₇, V₁₁, antese e R₂.

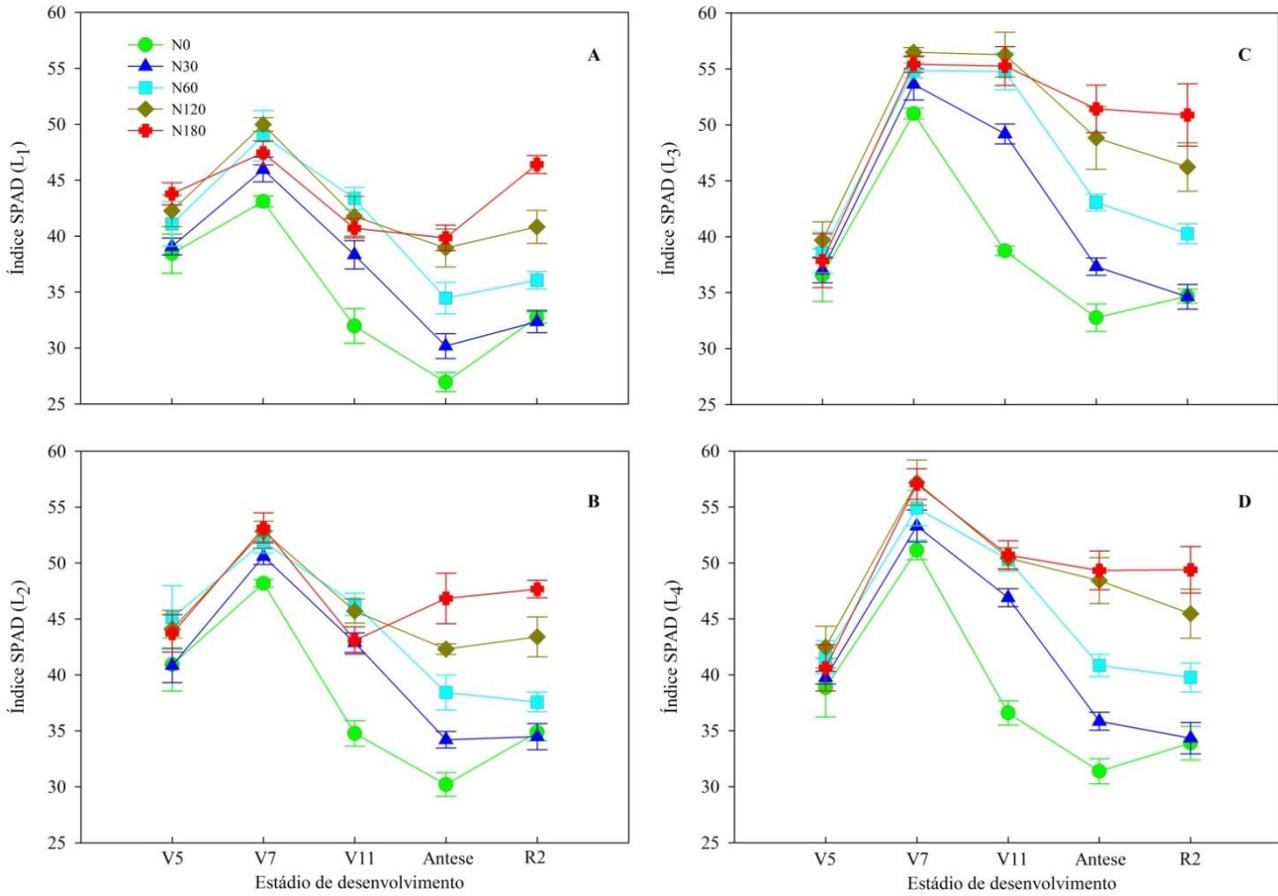
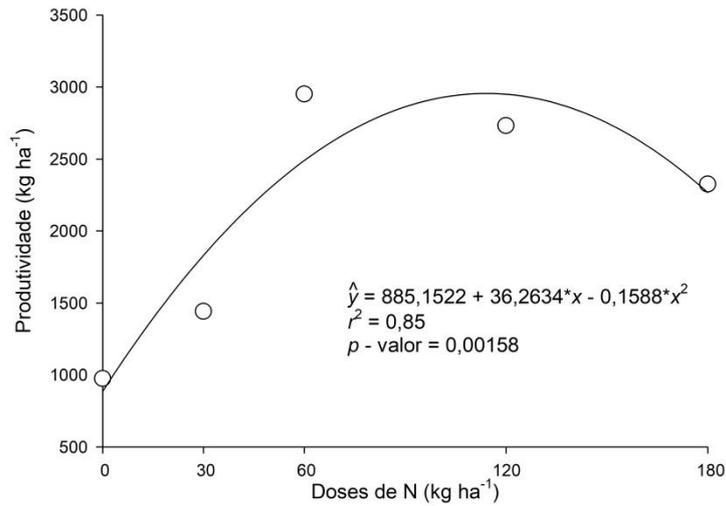


Figura 2. Produtividade de grãos de milho (kg ha⁻¹) em função de doses de N (kg ha⁻¹), São Luís, 2018.



5.2. Relação da ferramenta de diagnóstico de nitrogênio durante as fases de desenvolvimento da cultura

Foi usado o coeficiente de determinação (r^2) para testar a relação entre os índices SPAD e os índices nitrogenados (Tabela 2 e 3) em cinco fases de crescimento das plantas de milho. Os valores SPAD nas quatro posições de folhas (L_1 , L_2 , L_3 e L_4) e os índices SPAD normalizado (ISN_1 , ISN_2 , ISN_3 e ISN_4) foram relacionados positivamente com teor de N na planta e N acumulado na planta (Tabela 2) e com o teor de N na folha e índice de nutrição nitrogenada (Tabela 3). Por outro lado, a relação foi negativa entre o índice SPAD relativo (DIS) o teor de N na planta nas fases de crescimento V_{11} até R_2 (Tabela 2). A relação foi negativa entre a diferença do índice SPAD (DIS), o índice SPAD relativo (ISR), a diferença do índice SPAD relativo (DISR) e a diferença do índice SPAD normalizado (DISN) com o N acumulado na planta na antese (Tabela 2) e com o teor de N na folha (TNF) e índice de nutrição nitrogenada (INN) nas fases de crescimento V_{11} e antese (Tabela 3). Os menores valores de r^2 (0,192-0,408) foram obtidos entre os índices SPAD e os índices nitrogenados na fase inicial de crescimento da planta. Correlações não significativas ($r^2 < 0,20$; $p > 0,05$) foram obtidas entre os índices SPAD e os índices nitrogenados na fase inicial de crescimento (V_5 e V_7) (Tabela 2 e 3).

Tabela 2. Coeficiente de determinação (r^2) entre os índices SPAD e o teor de nitrogênio na planta (TNP, g kg^{-1}) e com o nitrogênio acumulado (NA, kg ha^{-1} de N) nos cinco fases de desenvolvimento da planta de milho.

Índices SPAD	Entre índices SPAD e TNP						Entre índices SPAD e NA					
	Fase de Crescimento						Fase de Crescimento					
	V ₅	V ₇	V ₁₁	Antese	R ₂	Dados totais	V ₅	V ₇	V ₁₁	Antese	R ₂	Dados totais
L ₁	0,353**	0,448**	0,230*	0,280*	0,504**	0,471**	0,227*	0,468**	0,020	0,441**	0,531**	0,024
L ₂	0,280*	0,578**	0,453**	0,257*	0,531**	0,480**	0,333**	0,790**	0,078	0,433**	0,560**	0,007
L ₃	0,192°	0,572**	0,361**	0,270*	0,581**	0,348**	0,298*	0,549**	0,068	0,458**	0,719**	0,020
L ₄	0,284*	0,375**	0,432**	0,360**	0,483**	0,211**	0,408**	0,624**	0,110°	0,569**	0,656**	0,108**
ISN ₁	0,194°	0,468**	0,269*	0,396**	0,238°	0,461**	0,261*	0,365*	0,094	0,650**	0,640**	0,001
ISN ₂	0,240°	0,425**	0,343*	0,326*	0,279*	0,448**	0,285*	0,323*	0,135	0,699**	0,518**	0,004
ISN ₃	0,166	0,350*	0,300*	0,341*	0,154	0,386**	0,203°	0,425**	0,151	0,674**	0,312*	0,013
ISN ₄	0,228°	0,286*	0,469**	0,420**	0,110	0,471**	0,303*	0,324*	0,240°	0,716**	0,408**	0,024
DIS	0,019	0,003	0,249*	0,166°	0,224*	0,004	0,033	0,008	0,106	0,339**	0,436**	0,301**
ISR	0,014	0,032	0,128	0,077	0,110	0,004	0,037	0,041	0,078	0,215*	0,257*	0,301**
DISR	0,015	0,032	0,130	0,076	0,004	0,004	0,036	0,042	0,079	0,214*	0,055	0,270**
DISN	0,014	0,027	0,125	0,078	0,121	0,003	0,035	0,038	0,079	0,210*	0,277*	0,307**

** , * e °: significativo a 1, 5 e 10%, respectivamente. Valores em negrito denotam correlação significativa e negativa.

Tabela 3. Coeficiente de determinação (r^2) entre os índices SPAD com o teor de nitrogênio na folha (TNF, g kg⁻¹) e índice de nutrição nitrogenada (INN) nas cinco fases de crescimento da planta de milho.

Índices SPAD	Entre indicadores SPAD e TNF						Entre indicadores SPAD e INN					
	Fase de Crescimento						Fase de Crescimento					
	V ₅	V ₇	V ₁₁	Antese	R ₂	Dados totais	V ₅	V ₇	V ₁₁	Antese	R ₂	Dados totais
L ₁	0,353**	0,445**	0,134	0,493**	0,572**	0,601**	0,347**	0,445**	0,127	0,469**	0,581**	0,604**
L ₂	0,280*	0,579**	0,360**	0,440**	0,653**	0,635**	0,278°	0,579**	0,343**	0,423**	0,664**	0,645**
L ₃	0,192°	0,566**	0,284*	0,531**	0,643**	0,493**	0,192°	0,566**	0,279*	0,503**	0,696**	0,513**
L ₄	0,284*	0,372**	0,378**	0,560**	0,596**	0,321**	0,284°	0,372**	0,376**	0,548**	0,634**	0,340**
ISN ₁	0,194°	0,465**	0,164	0,594**	0,437**	0,508**	0,184°	0,465**	0,148	0,634**	0,482**	0,520**
ISN ₂	0,240°	0,426**	0,203°	0,426**	0,469**	0,448**	0,228°	0,426**	0,187°	0,524**	0,513**	0,452**
ISN ₃	0,166	0,348°	0,220°	0,572**	0,277*	0,424**	0,154	0,348*	0,203°	0,637**	0,284*	0,433**
ISN ₄	0,228°	0,284*	0,403**	0,555**	0,291*	0,526**	0,215°	0,284*	0,381**	0,630**	0,312*	0,534**
DIS	0,019	0,003	0,296*	0,426**	0,230*	0,0281°	0,017	0,003	0,301*	0,398**	0,304*	0,0368°
ISR	0,014	0,032	0,191°	0,243*	0,129	0,0003	0,013	0,032	0,197*	0,235*	0,177°	0,0004
DISR	0,015	0,033	0,193°	0,242*	0,035	0,0001	0,013	0,033	0,199*	0,234*	0,044	0,0001
DISN	0,014	0,028	0,189°	0,242*	0,140	0,0002	0,013	0,028	0,195*	0,233*	0,192°	0,0009

** , * e °: significativo a 1, 5 e 10%, respectivamente. Valores em negrito denotam correlação significativa e negativa.

5.3. Modelo de diagnóstico de N entre os ISNs e os índices de N

Os modelos para diagnosticar o estado de N no milho foram baseados em dados de L_2 e ISN_4 em três fases de desenvolvimento (V_5 , V_7 e V_{11}) e gerais (V_5 até R_2). Os modelos de diagnósticos de fase única utilizaram os dados apenas de uma fase de desenvolvimento (V_5 , V_7 ou V_{11}), enquanto os modelos de duração incluíram os dados conjuntos das seguintes combinações: V_5 - V_7 , V_7 - V_{11} , V_5 - V_{11} e V_5 - R_2 . As relações foram estabelecidas por meio de regressão linear simples entre L_2 e ISN_4 com os índices de N (TNF, TNP, NA e INN) para cada fase e conjunto de fases mencionadas (Tabela 4).

Dentre os modelos a partir dos ISNs, o ISN_4 apresentou modelos com coeficiente de determinação significativo para maioria dos índices de N (Tabela 4), enquanto ISN_1 , ISN_2 e ISN_3 apresentaram poucos modelos significativos (dados não mostrados). Os índices DIS, ISR, DISR e DISN não foram utilizados para modelagem de modelos de diagnóstico de N, pois apresentaram baixos coeficientes de determinação e uma relação mal definida com os índices de N, ora com correlação positiva, ora com correlação negativa.

Os coeficientes de determinação dos modelos de fase única obtidos em L_2 foram significativos para os índices TNP, TNF, NA e INN, exceto na fase V_{11} para o N acumulado na planta ($r^2 = 0,07$; $p > 0,05$) e o teor de N na planta ($r^2 = 0,07$; $p > 0,05$). Para os modelos de fase única de ISN_4 , foi verificada significância com todos os índices de N. Foram considerados os melhores modelos àqueles que possuíam r^2 mais alto em uma fase de crescimento mais precoce. O TNF, TNP, NA e INN apresentaram os melhores modelos para a fase V_7 em L_2 , enquanto para ISN_4 foram observados os melhores modelos de TNP e NA em V_7 , e TNF e INN em V_{11} . No entanto, para modelos únicos, L_2 apresenta melhor desempenho e aplicabilidade que o ISN_4 para diagnosticar o estado de N na planta, por apresentar maiores r^2 (0,58-0,79; $p < 0,05$) em fases mais precoces (V_7), o que pode facilitar a possível aplicação mecanizada de fertilizantes.

Os modelos de duração foram altamente dependentes dos dados dos modelos de fase única, com isso L_2 mostrou resultados semelhantes ou superiores aos modelos de fase única, enquanto que ISN_4 apresentou resultados inferiores e variáveis. Os coeficientes de determinação para L_2 dos modelos duração curta (V_5 - V_7 ou V_7 - V_{11}) ($r^2 = 0,60$ - $0,85$) são superiores aos modelos de duração longa (V_5 - V_{11}) ($r^2 = 0,49$ - $0,62$), não foi observado r^2 significativo para NA em V_5 - V_{11} ($r^2 = 0,01$; $p > 0,1$). ISN_4 apresentou modelos de duração com r^2 baixos e vários modelos com relação não significativa, por exemplo, nenhum modelo de duração foi significativo para NA, também não apresentou r^2 significativo para TNF (em V_5 - V_7), TNP (em V_5 - V_7 e V_5 - V_{11}) e INN (em V_5 - V_7). No entanto, modelos gerais foram desenvolvidos com dados de V_5 a R_2 , isso fez aumentar

os coeficientes de determinação de ISN₄ em TNF ($r^2 = 0,53$; $p < 0,01$), TNP ($r^2 = 0,47$; $p < 0,01$) e INN ($r^2 = 0,53$; $p < 0,01$). Modelos gerais também foram desenvolvidos para L₂ em TNF ($r^2 = 0,63$; $p < 0,01$), TNP ($r^2 = 0,48$; $p < 0,01$) e INN ($r^2 = 0,64$; $p < 0,01$). Não foi observado resultado significativo dos modelos gerais para NA em L₂ ($r^2 = 0,007$; $p > 0,1$) e ISN₄ ($r^2 = 0,024$; $p > 0,1$).

Tabela 4. Modelos de diagnóstico em diferentes fases de crescimento dos indicadores de N (LNC, PNC, NA e NNI) em função do valor SPAD obtido em L₂ e o ISN₄.

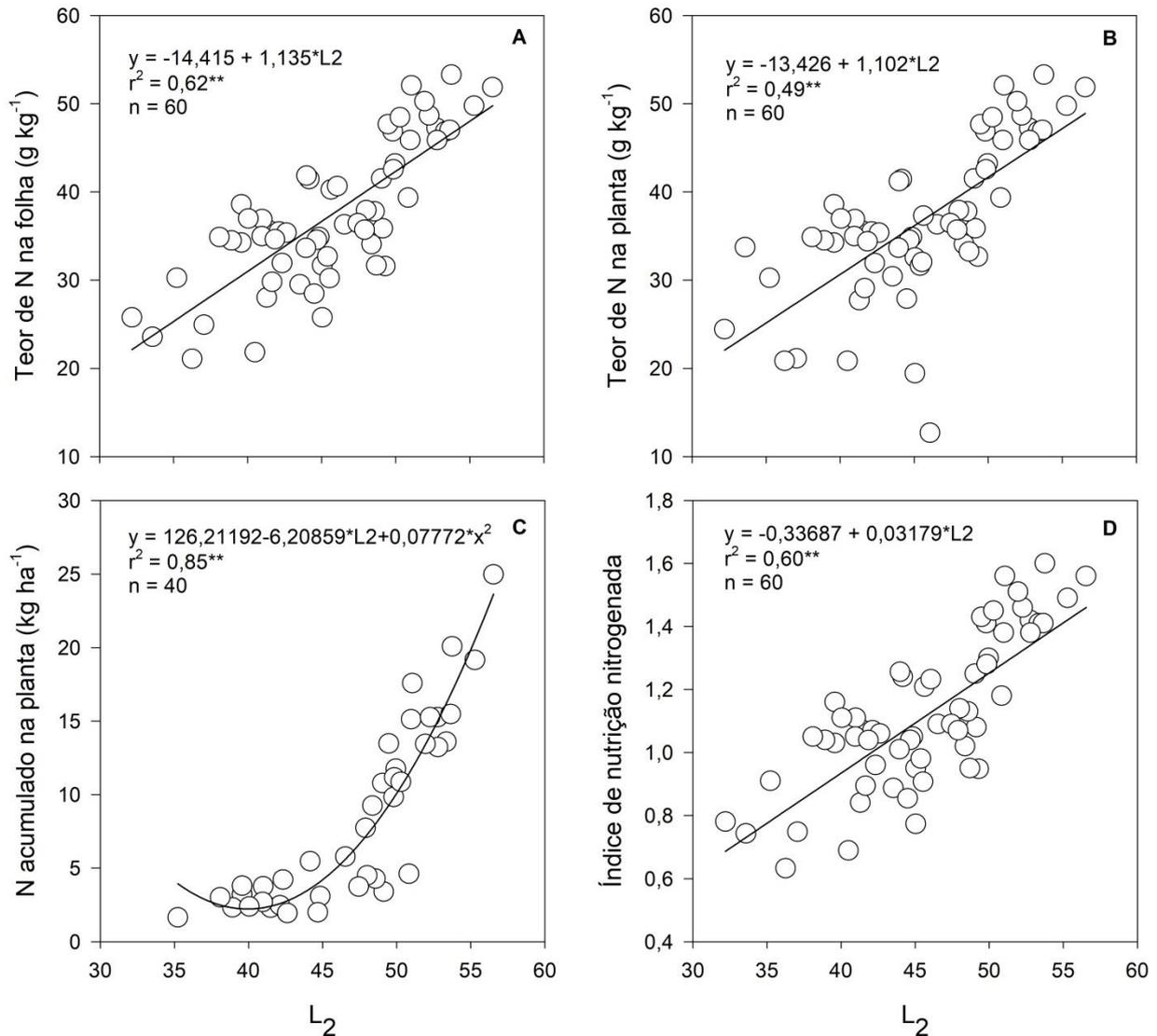
Fases	n	Modelo	r ²	Modelo	r ²
V ₅	20	TNF = 22,1056+0,3207*L2	0,28*	NA = -3,7941+0,1661*L2	0,33**
V ₇	20	TNF = -39,571+1,662*L2	0,58**	NA = -73,329+1,693*L2	0,79**
V ₁₁	20	TNF = -2,1625+0,7644*L2	0,36**	-	0,07
V ₅ - V ₇	40	TNF = -5,6427+0,98855*L2	0,67**	NA = 126,21192-6,20859*L2+0,07772*L2 ²	0,85**
V ₇ - V ₁₁	40	TNF = -29,219+1,433*L2	0,74**	NA = 107,827-1,683*L2	0,28**
V ₅ - V ₁₁	60	TNF = -14,415+1,135*L2	0,62**	-	0,01
V ₅ -R ₂	100	TNF = -11,5521+0,9451*L2	0,63**	-	0,007
V ₅	20	TNP = 22,1056+0,3207*L2	0,28*	INN = 0,67425+0,009413*L2	0,28*
V ₇	20	TNP = -39,571+1,662*L2	0,58**	INN = -1,20115+0,05017*L2	0,58**
V ₁₁	20	-	0,07	INN = -0,02220+0,02205*L2	0,34**
V ₅ - V ₇	40	TNP = -5,6427+0,98855*L2	0,67**	INN = -0,1643+0,0295*L2	0,67**
V ₇ - V ₁₁	40	TNP = -29,292+1,418*L2	0,60**	INN = -0,85073+0,04251*L2	0,74**
V ₅ - V ₁₁	60	TNP = -13,426+1,102*L2	0,49**	INN = -0,33687+0,03179*L2	0,60**
V ₅ -R ₂	100	TNP = -35,852+1,466*L2	0,48**	INN = -0,71502+0,03845*L2	0,64**
V ₅	20	TNF = 26,348+8,934*ISN4	0,23°	NA = -1,714 + 4,946*ISN4	0,30*
V ₇	20	TNF = 7,646+37,703*ISN4	0,28*	NA = -16,66+30,02*ISN4	0,32*
V ₁₁	20	TNF = 7,118+25,134*ISN4	0,40**	NA = 2,841+43,293*ISN4	0,24°
V ₅ - V ₇	40	-	0,02	-	0,003
V ₇ - V ₁₁	40	TNF = -6,075+45,997*ISN4	0,34**	-	0,002
V ₅ - V ₁₁	60	TNF = 9,0+28,6*ISN4	0,21**	-	0,036
V ₅ -R ₂	100	TNF = -15,51+51*ISN4	0,53**	-	0,024
V ₅	20	TNP = 26,348+8,934*ISN4	0,23°	INN = 0,8038+0,2575*ISN4	0,22°
V ₇	20	TNP = 7,646+37,703*ISN4	0,28*	INN = 0,2271+1,1351*ISN4	0,28*
V ₁₁	20	TNP = 12,79+18,74*ISN4	0,18°	INN = 0,2416+0,7265*ISN4	0,38*
V ₅ - V ₇	40	-	0,02	-	0,02
V ₇ - V ₁₁	40	TNP = -2,067+41,679*ISN4	0,27**	INN = -0,1605+1,3593*ISN4	0,33**
V ₅ - V ₁₁	60	-	0,004	INN = 0,2899+0,8304*ISN4	0,22**
V ₅ -R ₂	100	TNP = -29,30+62,94*ISN4	0,47**	INN = -0,4473+1,5219*ISN4	0,53**

Fases de desenvolvimento do milho: 5 a 6 (V5), 7 a 8 (V7) e 11 a 12 (V11) folhas totalmente expandidas.

**, * e °: significativo a 1, 5 e 10%, respectivamente.

Os valores SPAD obtidos na folha L₂ apresentaram correlação linear positiva e significativa com teor de N da folha (Fig 3A), com teor de N na planta (Fig 3B) e índice de nutrição nitrogenada na planta (Fig 3D) nas fases de crescimento V₅-V₁₁. Os valores SPAD obtidos na folha L₂ apresentaram relação quadrática crescente com o N acumulado na planta (Fig 3C) nas fases de crescimento V₅-V₇.

Figura 3. Regressões ajustadas entre L_2 e teor de N na folha (TNF, g kg^{-1}) (3A), teor de N na planta (TNP, g kg^{-1}) (3B) e índice de nutrição nitrogenada (3D) em milho sob doses de N no estágio de V_5 para V_{11} e N acumulado na planta (kg ha^{-1}) (3C) de V_5 para V_7 .



5.4. Correlação entre os índices e a produtividade final

As correlações entre a produtividade de grãos e os índices (SPAD e de N) variaram conforme a fase de crescimento da planta de milho. A produtividade de grãos não correlacionou com nenhum dos índices SPAD, na fase de crescimento V_5 (Tabela 5). Na fase V_7 , a produtividade de grãos apresentou a maior correlação com o valor SPAD obtido na folha L_1 ($r = 0,72$; $p < 0,01$) e a menor correlação com ISN_2 ($r = 0,52$; $p < 0,05$). Isso indica que 72 e 52% da produtividade de grãos foram explicadas L_1 e ISN_2 , respectivamente. Ainda na fase V_7 , o valor SPAD em L_4 , ISN_4 , ISR , DIS , $DISR$ e $DISN$ não apresentaram correlação significativa com a produtividade de grãos ($r^2 = 0,038-0,111$; $p > 0,05$). Na fase V_{11} , a produtividade de grãos apresentou a maior correlação com o valor SPAD obtido na folha L_4 ($r = 0,70$; $p < 0,01$) e a menor correlação com INN ($r = 0,49$; $p <$

0,05). Na antese e na fase de grãos leitoso, a produtividade de grãos apresentou correlação negativa e significativa com ISR, DIS, DISR e DISN. As maiores correlações entre a produtividade de grãos e ISN_4 ($r^2 = 0,605$; $p < 0,01$), e TNP ($r^2 = 0,564$; $p < 0,01$) e NA ($r^2 = 0,638$; $p < 0,01$) foram obtidas na Antese.

Tabela 5. Coeficientes de determinação (r^2) entre os índices SPAD e índices de nitrogênio com a produtividade de grãos de milho.

Índices	Fases de desenvolvimento				
	V ₅	V ₇	V ₁₁	Antese	R ₂
L ₁	0,127	0,517**	0,347**	0,274*	0,225*
L ₂	0,138	0,289*	0,381**	0,247*	0,254*
L ₃	0,099	0,460**	0,267*	0,305*	0,329**
L ₄	0,067	0,111	0,486**	0,391**	0,305*
ISN ₁	0,091	0,490**	0,388**	0,375*	0,432**
ISN ₂	0,134	0,275*	0,421**	0,408**	0,433**
ISN ₃	0,106	0,442**	0,271*	0,449**	0,540**
ISN ₄	0,071	0,089	0,526**	0,605**	0,536**
ISR	0,0001	0,038	0,0174	0,260*	0,238*
DIS	0,0005	0,089	0,0003	0,207*	0,240*
DISR	0,0004	0,089	0,0002	0,206*	0,278*
DISN	0,0002	0,081	0,0008	0,203*	0,240*
TNF	0,181°	0,450**	0,245*	0,424**	0,214*
TNP	0,181°	0,449**	0,074	0,510**	0,052
INN	0,183°	0,444**	0,244*	0,686**	0,291*
NA	0,001	0,325**	0,246*	0,657**	0,156°

** , * e °: significativo a 1, 5 e 10%, respectivamente. Valores em negrito denotam correlação significativa e negativa.

6. DISCUSSÃO

O uso do SPAD-502, que é uma ferramenta confiável para diagnosticar o estado de N na planta, bem como é possível manejar a quantidade de N a ser aplicada (YUAN *et al.*, 2016; WILDA, 2018). No entanto, sua utilização tem algumas limitações de ambiente, cultura e época do ano. O presente estudo buscou superar essas desigualdades e fornecer uma nova metodologia do estudo do estado de N na planta. A nossa hipótese foi que os índices SPAD avaliados em diferentes posições de folhas podem ser úteis para avaliar o estado de N da planta e ainda serem possíveis de prognosticar a produtividade de grãos da cultura do milho. Diante de nossos resultados, essa hipótese foi confirmada.

Na fase de crescimento V_5 , dentre as quatro posições de folhas, a folha L_1 foi a única em que as doses de N influenciaram de forma linear crescente o índice SPAD (Tabela 1). Observou-se nessa posição de folha melhor distinção das médias para cada dose de N em cada fase de desenvolvimento em relação às demais folhas dessa fase (Figura 1). No entanto, no estágio vegetativo, a folha L_1 apresentou respostas incomuns em relação a maior dose (N_{180}), por exemplo, em V_7 e V_{11} os índices de N_{180} foram menores que os de N_{60} e N_{120} , enquanto em V_5 foram os maiores (Figura 1). Lin *et al.* (2010) relataram que a primeira folha do arroz apresentou diferença significativa apenas a baixas doses de N, enquanto a terceira folha apresentou diferença significativa mesmo em doses com elevado teor de N. Isso indica que nos estádios mais precoces do milho, a L_1 seria a folha mais sensível para avaliar a resposta da planta a adubação nitrogenada aplicada. Argenta *et al.* (2004) afirmaram que durante os estádios iniciais de crescimento do milho, as leituras do medidor SPAD foram mais suscetíveis a erros. Hurtado (2008) verificou que doses intermediárias de N (45 a 180 kg ha⁻¹) são menos perceptíveis para as leituras SPAD, o que comprova a necessidade de se estabelecer parcelas de referências com doses elevadas de N para o uso do SPAD.

No estudo de Wilda (2018), foram avaliados 4 híbridos de milho, e o autor relatou leituras SPAD máxima da primeira folha no estágio V_9 iguais a 55,2, 57,5, 58,5 e 60,4 (híbridos AG 8088 PROX, DKB 310 PRO 2, DKB 390 PRO e P30F53). Ainda, esse autor, relatou que os valores mais altos de leituras SPAD podem ser atribuídos às diferentes metodologias, uma vez que não avaliaram um tratamento controle (ausência de N) e também ao fato das avaliações mais altas serem relacionadas a estádios diferentes.

As metodologias de leituras SPAD na fase reprodutiva do milho nesse experimento diferem de diversas pesquisas com milho (WILDA, 2018; ZAVASCHI *et al.*, 2014; ARGENTA *et al.*, 2004), uma vez que esses pesquisadores utilizaram a folha índice (primeira folha abaixo e

oposta à espiga) como padrão de leitura após o florescimento. Verifica-se que valores na folha índice nos estádios reprodutivos do milho encontrados por Wilda (2018), Hurtado *et al.* (2011) e Hurtado (2008) são superiores aos observados no presente estudo. Assim, como aqui observado, folhas mais baixas do dossel tendem a apresentar valores SPAD mais altos e isso pode explicar os menores valores de leituras em relação a outros trabalhos.

Os valores de TNP ficou próximo ao intervalo relatado por Ziadi *et al.* (2009) (43,2 a 17,3 a g kg⁻¹ de julho a agosto). Os resultados do TNF dessa pesquisa foram superiores aos observados por Oliveira *et al.* (2016) (18,48 a 25,91 g kg⁻¹) na antese e por Vasconcelos *et al.* (2016) (31 a 35 g kg⁻¹ em V₈ e 27 a 30 g kg⁻¹ na antese). Esses autores aplicaram o N em cobertura na fase de crescimento V₄ o que pode explicar essa diferença. Essa comparação confirma a necessidade do parcelamento de N em cobertura no milho.

A curva de diluição do nitrogênio, ou, a diminuição do N crítico (N_c) pelo aumento da massa da planta seca, explica a redução do INN com o desenvolvimento da cultura pelo acúmulo de massa seca ao longo do ciclo e sombreamentos das folhas inferiores (LEMAIRE, 1997). Respostas similares nesse padrão foram observadas por Zhao *et al.* (2017) em quatro experimentos distintos (INN de 0,52 a 1,16; 0,7 a 1,12; 0,49 a 1,16; e 0,62 a 1,11).

O maior acúmulo de N na planta (NA) na antese pode estar relacionado à lixiviação do N do solo devido à composição granulométrica do solo do presente trabalho (4% de silte e 10% de argila), uma vez que dificulta a capacidade de retenção de N no solo e favorece a percolação da água e, conseqüentemente, a lixiviação de N para camadas inferiores do solo (SANGOI *et al.*, 2003). Essa falta de suprimento de N próximo ao enchimento dos grãos pode ter causado senescência das folhas mais velhas e sombreadas do dossel nas fases finais da cultura de forma mais precoce observada no experimento. Sangoi *et al.* (2013) descreveram uma sequência de eventos similares ao deste estudo que acelera a senescência foliar em relação ao adensamento de plantas, afetam diretamente a absorção de N na fase reprodutiva e de outros nutrientes, o que levou a redução do rendimento de grãos.

Os resultados observados da curva resposta da produtividade de grãos de milho (Figura 2) estão de acordo com os obtidos por HURTADO *et al.* (2011) (dose ótima = 144 kg ha⁻¹; produtividade máxima = 11,2 t ha⁻¹) e RAMBO *et al.* (2008) (dose ótima = 244 kg ha⁻¹; produtividade máxima = 8,6 t ha⁻¹), porém com valores abaixo dessas pesquisas. A curva resposta da produtividade pela aplicação de N em cobertura demonstra que o milho é uma cultura responsiva à adubação nitrogenada.

As leituras realizadas com o SPAD nas folhas (L₁, L₂, L₃ e L₄) apresentaram baixos coeficientes de determinação (r²) (Tabela 2 e 3) no estágio V₅ para todos os índices de N (r² =

0,192-0,408). Somente com o desenvolvimento da cultura, pelo aumento da demanda de N, os coeficientes (r^2) aumentaram, com exceção da fase V_{11} para NA que apresentaram resultados mais baixos.

No estudo de Hurtado *et al.* (2011), o teor foliar de N da folha abaixo e oposta à espiga na cultura do milho, na fase de florescimento, apresentou correlações altas e significativas com o SPAD ($r = 0,80$; $p < 0,01$). Esse resultado corrobora com o observado no presente estudo para as quatro folhas ($r = 0,66-0,75$; $p < 0,01$), principalmente da folha L_4 ($r = 0,75$; $p < 0,01$). Desse modo, os resultados obtidos indicam que na antese as folhas mais baixas tendem a correlacionar-se melhor com o teor de N na folha, assim como observado para INN, NA e TNP. Diante disso, a folha L_4 pode ser uma folha alternativa em relação à folha índice comumente utilizada. No entanto, para os estádios iniciais V_5 e V_7 , as folhas L_1 e L_2 foram as que mostraram maior significância e r^2 para os 4 indicadores de N, mas com relação baixa ou não significativa para folha L_1 em V_{11} . A possível diferença de tempo de maturação das primeiras folhas totalmente expandidas pode explicar essa variação em L_1 (YUAN *et al.*, 2016; PROST; JEUFFROY, 2007). Diferentemente, Wilda (2018), encontrou correlação significativa entre leituras SPAD na primeira folha e N foliar apenas do estádio V_9 do milho em diante, e nenhuma relação com o N acumulado na planta.

Os ISNs foram derivados das leituras SPAD de diferentes posições da folha, mas na maioria dos resultados apresentaram r^2 inferiores aos índices de N entre L_1 , L_2 , L_3 e L_4 (Tabela 2 e 3), o que pode estar relacionado à falta de um tratamento de referência com diferença extrema de doses de N aplicado no solo para afetar intensamente a planta.

Os índices ISR, DIS e DISN que apresentaram correlações negativas (Tabelas 2 e 3) também foram observadas por Yuan *et al.* (2016) entre os mesmos índices de N para o arroz.

Os indicadores SPAD de DIS, ISR, DISR e DISN apresentam baixos r^2 e poucas respostas significativas, principalmente nas fases de V_5 , V_7 e V_{11} (Tabela 2 e 3). Yuan *et al.* (2016), relataram baixos r^2 e falta de relações significativas nos estádios iniciais do arroz para os 4 valores SPAD desenvolvidos, enquanto Lin *et al.* (2010) desenvolveram esses índices de forma significativa e exponencial com o teor de N na folha do arroz. Assim, o uso dessas 4 transformações de leituras SPAD para estimar o estado de N na cultura do milho ainda necessita de avaliações em estudos futuros.

Os índices SPAD obtidos em L_2 foram escolhidos para modelagem dos modelos, pois apresentam os maiores coeficientes de determinação e com significância na maioria dos índices nitrogenados em relação a L_1 , L_3 e L_4 (Tabela 2 e 3). A posição da folha L_2 foi a mais sensível às variações do N aplicado (Tabela 1 e Figura 1). A posição L_1 apesar de apresentar altos coeficientes

de determinação não foi escolhida, pois pode apresentar ampla variação de seus valores devido à diferença de tempo de maturação (PROST; JEUFFROY, 2007), ou seja, é uma folha muito jovem.

A determinação dos índices de N (NA, INN, TNP e TNF) em determinadas fases durante o período de desenvolvimento da planta é essencial para o manejo do N na cultura e para otimizar sua eficiência. Os resultados dos modelos de estágio único e duração mostraram resultados significativos para determinadas fases de desenvolvimento (Tabela 4). Apesar dos resultados apresentarem vários modelos de baixos coeficientes de determinação ($r^2 < 0,50$), alguns modelos apresentaram resultados satisfatórios ($r^2 = 0,58 - 0,85$), que poderiam ser usados para detectar o estado de N em tempo real na produção em campo. Yuan *et al.* (2016) encontraram as altas relações nos modelos de fase única e duração entre ISN_4 e INN ($r^2 = 0,72 - 0,89$) e NA ($r^2 = 0,73 - 0,85$) e baixas para TNF ($r^2 = 0,14 - 0,46$) e TNP ($r^2 = 0,18 - 0,50$) para a cultura do arroz.

Os modelos de duração devem ser preferíveis em relação ao de estado único devido a alguns fatores. Na produção em campo o agroecossistema é bastante complexo e sempre haverá plantas em diferentes fases de desenvolvimento, o que dificulta usar os modelos desenvolvidos de uma única fase. Cada fase de desenvolvimento tem um estado crítico de N, onde ao se usar um modelo de fase única poderia estar aplicando doses superiores ou inferiores de N na cultura. O uso dos modelos de duração poderia equilibrar a aplicação para diferentes fases de desenvolvimento. Entretanto, os modelos de fase única poderiam ser úteis quando usados para pesquisas para aprimorar os modelos de duração que são altamente dependentes deles (YUAN *et al.*, 2016). Diante disso, foram desenvolvidos e escolhidos quatro modelos de duração que possuem potencial de utilização pelos produtores em campo em tempo real (Figura 3). Esses modelos possuem coeficientes de determinação altos ($r^2 = 0,49 - 0,85$) em relação aos demais (Tabela 4).

Os resultados observados na tabela 5, que variaram conforme a fase de crescimento da planta de milho, indicam que a escolha do índice para diagnosticar a produtividade depende da fase de crescimento a ser avaliada. Com o desenvolvimento da cultura, os coeficientes de determinação da produtividade aumentaram (Tabela 5). Vargas *et al.* (2012) também observaram aumento da correlação entre o valor do SPAD e a produtividades de grãos de milho e teor de N na folha. Hurtado (2008) observou correlação positiva entre o valor SPAD e produtividade de grãos, massa seca da parte aérea, N no grão e N mineral a partir de V_4 , enquanto Wilda (2018) não encontrou correlação consistente da produtividade de grãos com leituras SPAD durante todo o ciclo da cultura. Nota-se que há controvérsias em pesquisas na cultura do milho sobre correlações da produtividade de grãos nas fases iniciais da cultura com indicadores de N da planta, principalmente os medidos indiretamente por clorofilômetros portáteis.

Em cada estágio de desenvolvimento existe um prognóstico do potencial produtivo do milho, e isso deve ser acompanhado ao longo do desenvolvimento da cultura, já que nos estádios iniciais é difícil um prognóstico preciso, principalmente se medido indiretamente. De modo geral, pelos menos um dos indicadores SPAD possui relação com a produção de grãos, similar à verificada entre pelo menos um dos quatro indicadores de N com o rendimento de grãos de milho (Tabela 5). Logo, os indicadores de N estão ligados com a produtividade de grãos e podem ser substituídos pelo clorofilômetro SPAD-502. Blackmer e Schepers (1995) consideraram o SPAD-502 como a forma mais confiável de monitorar o potencial produtivo do milho, pois não foi influenciado pelo fluxo de N, no qual a concentração de N na planta fica acima do necessário para máxima produtividade, e o medidor de clorofila SPAD foi capaz de determinar a redução do rendimento da cultura mesmo com altos índices do teor de N medidos pelo método químico.

7. CONCLUSÃO

As doses de N influenciaram de forma positiva os valores SPAD para cada posição de folha (L_1 , L_2 , L_3 e L_4), os índices de N (INN, NA, TNF e TNP) e a produtividade de grãos.

As folhas L_1 e L_2 são as mais sensíveis para leitura SPAD nas fases iniciais da cultura do milho.

Com o desenvolvimento da cultura, as folhas mais baixas tendem a correlacionar-se melhor com os índices de N.

Modelos de duração desenvolvidos a partir de L_2 e ISN_4 podem oferecer uma alternativa no prognóstico indireto do estado de N na planta.

O prognóstico do potencial produtivo do milho na fase V_5 é de difícil determinação.

A fase da Antese e R_2 são passíveis de prognosticar a produtividade do milho a partir dos índices SPAD (L_1 , L_2 , L_3 , L_4 , ISN_1 , ISN_2 , ISN_3 , ISN_4 , ISR, DIS, DISR e DISN) e dos índices de N (INN, NA, TNF e TNP).

Mais pesquisas são necessárias para melhorar a precisão dos modelos, devido a alguns fatores como variações ambientais, fertilidade do solo, época de plantio e condições climáticas.

8. AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) pelos recursos financeiros disponibilizados para a execução do projeto e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- AMADO, T.J.C.; MIELNICZUK, J.; AITA, C. Recomendações de adubação nitrogenada para o milho no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do solo, sob sistema plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.26, p.241-248, 2002.
- ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F. D.; FORSTHOFER, E. L.; STRIEDER, M. L.; SUHRE, E.; TEICHMANN, L. L. Adubação nitrogenada em milho pelo monitoramento do nível de nitrogênio na planta por meio do clorofilômetro. **Revista brasileira de ciência do solo**. Campinas. Vol. 27, n. 1, p. 109-119, 2003.
- ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F. da; SANGOI, L. Leaf relative chlorophyll content as an indicator parameter to predict nitrogen fertilization in maize. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, p.1379-1387, 2004.
- BARBIERI, P. A.; ECHEVERRÍA, H. E.; SAÍN Z ROZAS, H. R.; ANDRADE, F. H. Nitrogen use efficiency in maize as affected by nitrogen availability and row spacing. **Agronomy Journal**, v. 100, n. 4, p. 1094–1100, 2008.
- BECHE, E.; BENIN, G.; BORNHOFEN, E.; DALLÓ, S. C.; SASSI, L. H. S.; DE OLIVEIRA, R. Eficiência de uso de nitrogênio em cultivares de trigo pioneiras e modernas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 12, p. 948–957, 2014.
- BLACKMER T. M.; SCHEPERS J. S. Use of a chlorophyll meter to monitor nitrogen status and schedule fertigation for corn. **Journal Production Agriculture**, v.8, p. 56-60, 1995.
- BORGES, E. de A.; FERNANDES, M. S.; LOSS, A.; SILVA, E. E.; SOUZA, S. R. Acúmulo e remobilização de nitrogênio em variedades de milho. **Revista Caatinga**, v. 19, n. 3, 2006.
- CHAPMAN, S.C. e BARRETO, H.J. Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. **Agronomy Journal**, 89:557-562, 1997.
- COELHO, F.S.; FONTES, P.C.R.; PUIATTI, M.; NEVES, J.C.L.; SILVA, M.C. de. Dose de nitrogênio associada à produtividade de batata e índices do estado de nitrogênio na folha. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.34, p.1175-1183, 2010.
- CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos**. 5º Levantamento. Brasília, DF: 2019. Acesso em 17 de janeiro de 2019. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/graos/boletim-da-safra-de-graos/item/download/24601_97be607d9d50d3e0021cb6a7b31e4e1e>.
- DIAS, M. A. de R. Desempenho agrônomo do milho com diferentes fontes e doses de nitrogênio. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, 88 p., 2016.
- EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**, Brasília, DF, 2013, 3:353 p.
- FANCELLI, A.L. Ecofisiologia, fenologia e implicações básicas de manejo. In: **Milho do plantio a colheita**, Ed. UFV, Viçosa, p. 51, 2015.

FERNANDES, F. C. S.; LIBARDI, P. L. Percentagem de recuperação de nitrogênio pelo milho, para diferentes doses e parcelamentos do fertilizante nitrogenado. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.6, n. 3, p. 285-296, 2007.

FONTES, P. C. R.; BRAUN, H.; SILVA, M. C. de C.; COELHO, F. S.; CECON, P. R.; PARTELLI, F. L. Tuber yield prognosis model and agronomic nitrogen use efficiency of potato cultivars. **Australian Journal of Crop Science**, v. 10, n. 7, p. 933–939, 2016.

FRANÇA, S.; MIELNICZUK, J.; ROSA, L. M. G.; BERGAMASCHI, H.; BERGONCI, J. I. Nitrogênio disponível ao milho: crescimento, absorção e rendimento de grãos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 11, p. 1143–1151, 2011.

GIL, P.T. Índices e eficiência de utilização de nitrogênio pela batata influenciados por doses de nitrogênio em pré-plantio e em cobertura. **Dissertação** (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 81p., 2001.

GOMES, R. F.; DA SILVA, A. G.; DE ASSIS, R. L.; PIRES, F. R. Efeito de doses e da época de aplicação de nitrogênio nos caracteres agrônômicos da cultura do milho sob plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, n. 5, 2007.

GONDIM, A. R. O.; PRADO, R.M.; FONSECA, I. M.; ALVES, A. U. Crescimento inicial do milho cultivar Brs 1030 sob omissão de nutrientes em solução nutritiva. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 63, n.5, p. 706-714, 2016.

HURTADO, S. M. C. Uso do clorofilômetro e de agricultura de precisão no manejo da adubação nitrogenada do milho. **Tese** (Doutorado em Ciência do Solo) – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 92p., 2008.

HURTADO, S. M. C.; RESENDE, Á. V. D.; 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**, v. 41(6), 2011.

HURTADO, S. M. C.; SILVA, C. A.; DE RESENDE, A. V.; CORAZZA, E. J.; SHIRATSUCHI, L. S.; HIGASHIKAWA, F. S. Sensibilidade do clorofilômetro para diagnóstico nutricional de nitrogênio no milho. **Embrapa Cerrados-Artigo em periódico indexado** (ALICE), 2010.

INSKEEP, W.P.; BLOOM, P.R. Extinction coefficients chlorophyll a e b in N,N-Dimethylformamide and 80% acetone. **Plant Physiology**, v.77, p.483-485, 1985.

JIAN, Z.; WANG, F.; LI, Z.; CHEN, Y.; MA, X.; NIE, L.; CUI K.; PENG, S.; LIN, Y.; SONG, H.; LI, Y.; HUANG, J. Grain yield and nitrogen use efficiency responses to N application in Bt (Cry1Ab/Ac) transgenic two-line hybrid rice. **Field Crops Research**, v. 155, p. 184-191, 2014.

JUSTES, E.; MARY, B.; MACHET, J.M. Determination of a critical nitrogen dilution curve for winter wheat crops. **Ann. Bot.** v. 74, p. 397–407, 1994.

LEMAIRE, G. **Diagnosis on the nitrogen status in crops**. Springer-Verlag, Berlin, 1997.

- LICHTENTHALER, Hartmut K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: **Methods in enzymology**. Academic Press, p. 350-382. 1987.
- LIN, F. F.; QIU, L. F.; DENG, J. S.; SHI, Y. Y.; WANG, K. Investigation of SPAD meter-based indices for estimating rice nitrogen status. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 71, n. 01, p. 60-65, 2010.
- MARKWELL, J.; OSTERMAN, J.C.; MITCHELL, J.L. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. **Photosynthesis Research**, v. 46, p. 467-472, 1995.
- MILAGRES, C. do C.; FONTES, P. C. R.; SILVEIRA, M. V.; MOREIRA, M. A.; LOPRES, I. P. DE C. Índices de nitrogênio e modelo para prognosticar a produção de tubérculos de batata. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 65, n. 3, 2018.
- Minolta. Chlorophyll meter SPAD-502. **Instruction manual**. Minolta Co., Osaka, Japan. 22 p. 1989.
- MOLL, R. H.; KAMPRATH, E. J.; JACKSON, W. A. Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. **Agronomy Journal**, v. 74, n. 3, p. 562, 1982.
- MONJE, O.A.; BUGBEE, B. Inherent limitations nondestructive chlorophyll meters: a comparison of two types of meters. **Hortscience**. v. 27, p. 69–71, 1992.
- NAUŠ, Jan et al. SPAD chlorophyll meter reading can be pronouncedly affected by chloroplast movement. **Photosynthesis research**, v. 105, n. 3, p. 265-271, 2010.
- OLIVEIRA, F. C.; SOUSA NETTO, M. D.; ARAUJO, L. D. S.; ALMEIDA, A. C. D. S.; SILVEIRA, P.; CUNHA, P. C. R. D. CORN DEVELOPMENT AND PRODUCTION IN FUNCTION OF SOURCES OF NITROGEN FERTILIZERS AND DOSES. **Revista Caatinga**, v. 29(4), p. 812-821, 2016.
- PARRY, Christopher; BLONQUIST JR, J. Mark; BUGBEE, Bruce. In situ measurement of leaf chlorophyll concentration: analysis of the optical/absolute relationship. **Plant, cell & environment**, v. 37, n. 11, p. 2508-2520, 2014.
- PÔRTO, M. L. A.; PUIATTI, M.; FONTES, P. C. R.; CECON, P. R.; ALVES, J. C. Índice SPAD para o diagnóstico do estado de nitrogênio na cultura do pepino japonês em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, v. 32(3), p. 292-296, 2014.
- PÔRTO, M. L.; PUIATTI, M.; FONTES, P. C. R.; CECON, P. R.; ALVES, J. C.; ARRUDA, J. A. Índice SPAD para o diagnóstico do estado de nitrogênio na cultura da abobrinha. **Horticultura Brasileira**, v. 29(3), p. 311-315, 2011.
- PROST, L.; JEUFFROY, M.H. Replacing the nitrogen nutrition index by the chlorophyll meter to assess wheat N status. **Agron. Sustain. Dev.**, v. 27, n. 4, p. 321–330, 2007.
- R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria, 2018, Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>.
- RAMBO, L.; SILVA, P. R. F. D.; STRIEDER, M. L.; DELATORRE, C. A.; BAYER, C.; ARGENTA, G. Adequação de doses de nitrogênio em milho com base em indicadores de solo e de

planta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**: 1977. Brasília. Vol. 43, n. 3 (mar. 2008), p. 401-409, 2008.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**, 7 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2007.

RITCHIE, S.W., HANWAY, J.J. How a corn plant develops. Ames: Iowa State University Extension Department, **Special Report**, 48. 26p. 1992.

ROBERTS, D. F.; KITCHEN, N. R.; SCHARF, P. C.; SUDDUTH, K. A. Will variable-rate nitrogen fertilization using corn canopy reflectance sensing deliver environmental benefits?. **Agronomy Journal**, v. 102, n. 1, p. 85–95, 2010.

SANGOI, L.; ERNANI, P. R.; LECH, V. A.; RAMPAZZO, C. Lixiviação de nitrogênio afetada pela forma de aplicação da uréia e manejo dos restos culturais de aveia em dois solos com texturas contrastantes. **Ciência Rural**, v. 33(1), p. 65-70, 2003.

SILVA, M. C.; FONTES, P. C.; MIRANDA, G. V. Índice SPAD e produção de batata, em duas épocas de plantio, em função de doses de nitrogênio. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 17-22, 2009.

SOUZA, C. F. Desempenho agrônômico e eficiência de utilização de nitrogênio por cultivares de milho. **Tese** (Doutorado em Agronomia: Fitotecnia) – Universidade Federal do Semi-Árido, Mossoró-RN, 51p., 2017.

SZILAGYI-ZECCHIN, V. J.; MARRIEL, I. E.; SILVA, P. R. F. da. Produtividade de milho inoculado com *Azospirillum brasilense* em diferentes doses de nitrogênio cultivado em campo no Brasil. **Revista de Ciências Agrárias**, Lisboa, v. 40, n. 4, p. 110-119, 2017. Disponível em <http://www.scielo.mec.pt/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0871-018X2017000400012&lng=pt&nrm=iso>. Acessos em 27 setembro 2018.

TAIZ, L.; ZEIGER E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. Análise de solos, plantas e outros 588 materiais. UFRGS, Porto Alegre. 1995.

TEIXEIRA, I. R.; BORÉM, A.; DE ANDRADE, M. J. B.; DEL GIÚDICE, M. P.; CECON, P. R. Teores de clorofila em plantas de feijoeiros influenciadas pela adubação com manganês e zinco. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 26(2), p. 147-152, 2004.

VARGAS, V. P.; SANGOI, L.; ERNANI, P. R.; SIEGA, E.; CARNIEL, G.; FERREIRA, M. A. VARGAS, Vitor Paulo et al. Os atributos nas folhas são mais eficientes que o N mineral no solo para avaliar a disponibilidade desse nutriente para o milho. **Bragantia**, v. 71, n. 2, p. 245-255, 2012.

VASCONCELOS, A. C. P. D.; SIQUEIRA, T. P.; LANA, R. M. Q.; FARIA, M. V. D.; NUNES, A. A.; LANA, Â. M. Q. Seed inoculation with *Azospirillum brasilense* and N fertilization of corn in the Cerrado biome. **Revista Ceres**, v. 63(5), p. 732-740, 2016.

WANG, H.; GAO, J.-E.; LI, X.-H.; ZHANG, S. L.; WANG, H. J. Nitrate accumulation and leaching in surface and ground water based on simulated rainfall experiments. **PLoS One**, v. 10, n. 8, p. e0136274, 2015.

WILDA, L. R. M. Plant sensors for nitrogen monitoring and fertilization impacts on the nutrient dynamic on maize crop. **Tese (Doutorado em Ciência do Solo)** – Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 93p., 2018.

WOLFF, W. M.; FLOSS, E. L. Correlação entre teores de nitrogênio e de clorofila na folha com o rendimento de grãos de aveia branca. **Ciência rural**, v. 38, n. 6, p. 1510-1515, 2008.

YANG, H.; YANG, J.; LV, Y.; HE, J. SPAD values and nitrogen nutrition index for the evaluation of rice nitrogen status. **Plant Prod. Sci.** V. 17, p. 81–92, 2014.

YUAN, Z.; ARA-UI-KARIM, S. T.; CAO, Q.; LU, Z.; CAO, W.; ZHU, Y.; LIU, X. Indicators for diagnosing nitrogen status of rice based on chlorophyll meter readings. **Field Crops Research**, v. 185, p. 12-20, 2016.

ZAVASCHI, E.; FARIA, L. de A.; VITTI, G. C.; NASCIMENTO, C. A. da C.; MOURA, T. A. de; VALE, D. W. do; MENDES, F. L.; KAMOGAWA, M. Y. Ammonia volatilization and yield components after application of polymer-coated urea to maize. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.38(4), p. 1200-1206, 2014.

ZHAO, B.; ATA-UL-KARIM, S. T.; LIU, Z.; NING, D.; XIAO, J.; LIU, Z.; QIN, A.; NAN, J.; DUAN, A. Development of a critical nitrogen dilution curve based on leaf dry matter for summer maize. **Field crops research**, v. 208, p. 60-68, 2017.

ZHAO, B.; LIU, Z.; ATA-UL-KARIM, S. T.; XIAO, J.; LIU, Z.; QI, A.; NING, D.; NAN, J.; DUAN, A. Rapid and nondestructive estimation of the nitrogen nutrition index in winter barley using chlorophyll measurements. **Field crops research**, v. 185, p. 59-68, 2016.

ZIADI, N.; BÉLANGER, G.; CLAESSENS, A.; LEFEBVRE, L.; TREMBLAY, N.; CAMBOURIS, A. N.; NOLIN, M. C.; PARENT, L. É. Plant-based diagnostic tools for evaluating wheat nitrogen status. **Crop science**, v. 50, n. 6, p. 2580-2590, 2010.

ZIADI, N.; BÉLANGER, G.; GASTAL, F.; CLAESSENS, A.; LEMAIRE, G.; TREMBLAY, N. Leaf Nitrogen Concentration as an Indicator of Corn Nitrogen Status. **Agronomy Journal**, v. 101, p. 947-957. 2009.

ŽYDELIS, R.; LAZAUSKAS, S.; POVILAITIS, V. Biomass accumulation and N status in grain maize as affected by mineral and organic fertilizers in cool climate. **Journal of Plant Nutrition**, v. 41(20), p. 2626-2636, 2018.