

# Os atributos nas folhas são mais eficientes que o N mineral no solo para avaliar a disponibilidade desse nutriente para o milho

Vitor Paulo Vargas <sup>(1\*)</sup>; Luis Sangoi <sup>(2)</sup>; Paulo Roberto Ernani <sup>(3)</sup>; Eduardo Siega <sup>(4)</sup>; Giovani Carniel <sup>(4)</sup>; Mariana Alves Ferreira <sup>(4)</sup>

<sup>(1)</sup> Instituto Agronômico (IAC), Programa de Pós Graduação em Agricultura Tropical e Subtropical, Av. Barão de Itapura, 1481, 13020-970 Campinas (SP), Brasil.

<sup>(2)</sup> Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Centro de Ciência Agroveterinárias, Departamento de Agronomia, Av. Luiz de Camões, 2090, 88520-000 Lages (SC), Brasil.

<sup>(3)</sup> UDESC, Centro de Ciências Agroveterinárias, Departamento de Solos e Recursos Naturais, 88520-000 Lages (SC), Brasil.

<sup>(4)</sup> UDESC, Centro de Ciências Agroveterinárias, 88520-000 Lages (SC), Brasil.

(\*) Autor correspondente: vitorpvargas@hotmail.com

Recebido: 26/ago./2011; Aceito: 14/maio/2012

## Resumo

Na Região Sul do Brasil, a disponibilidade de N para o milho é inferida a partir do teor de matéria orgânica do solo sem nenhuma consideração para os teores de N mineral existentes no solo ou nas folhas. O objetivo deste trabalho foi estudar a eficiência de parâmetros de solo (teores de  $\text{N-NO}_3^-$  e  $\text{N-NH}_4^+$ ), e de planta (N total no tecido, clorofilas, índice relativo de clorofila), como indicadores da disponibilidade de N durante a ontogenia do milho, submetido a doses de N e épocas de aplicação da cobertura nitrogenada. O experimento foi realizado em Lages, Santa Catarina, na safra 2008/2009. Utilizou-se o delineamento experimental de blocos casualizados em parcelas subdivididas. Na parcela principal foram testadas quatro doses de N: 0, 50, 100 e 200  $\text{kg ha}^{-1}$  e nas subparcelas, avaliadas duas épocas de aplicação do N em cobertura: todo o N quando o milho tinha quatro ou oito folhas expandidas, metade da dose quando o milho tinha quatro e metade quando havia oito folhas expandidas. As avaliações foram efetuadas entre o estágio de seis folhas expandidas e o espigamento. Os teores das formas de N no solo não apresentaram relação com o rendimento de grãos ou com as características de planta avaliadas em nenhum dos estádios de avaliação, sendo, portanto, inadequados para prever a disponibilidade de N para o milho. O rendimento de grãos não esteve relacionado ao índice relativo de clorofila e ao teor de N total nas folhas na fase inicial de desenvolvimento, porém correlacionou-se com eles a partir da avaliação realizada na nona folha expandida. As características de planta foram mais adequadas do que os parâmetros de solo para prever a disponibilidade de N ao milho e o rendimento de grãos da cultura.

**Palavras-chave:** nitrato, índice relativo de clorofila, nitrogênio total foliar, *Zea mays* (L.).

## Leaf attributes are more efficient than soil mineral N to evaluate the availability of this nutrient to maize

### Abstract

In Southern Brazil, N availability to maize is evaluated based on soil organic matter, without considering N content in the soil or in the leaves. This work aimed to evaluate the efficiency of soil ( $\text{NO}_3^-$ -N and  $\text{NH}_4^+$ -N levels) and plant (total N tissue, chlorophyll content and chlorophyll relative index) parameters as indicators of N availability during maize ontogeny. Maize was submitted to different nitrogen rates and side-dress application times. The study was carried out in Lages, Santa Catarina State, Brazil, during the 2008/2009 growing season. The experiment was set in a randomized block split plot design. In the main plot four N rates were evaluated: 0, 50, 100 and 200  $\text{kg ha}^{-1}$ . Two timings of N side-dress application were assessed in the split plots: all N applied when maize had four or eight expanded leaves and half rate applied when maize had four and the other half when it presented eight expanded leaves. Evaluations were performed between the growth stages of six expanded leaves and silking. The soil N content did not correlate with grain yield or any other plant characteristics regardless of growth stage. Therefore, they were not adequate to predict N availability to maize. Grain yield was not related to the chlorophyll relative index or total N level in leaves during early stages of crop development, but it was correlated with them when the evaluations were made from the 9<sup>th</sup> expanded leaf onwards. Plant characteristics were more suitable than soil parameters to predict N availability to maize and the crop grain yield.

**Key words:** nitrate; chlorophyll relative index; leaf total nitrogen, *Zea mays* (L.).

## 1. INTRODUÇÃO

A eficiência de uso do nitrogênio (EUN) pelas plantas cultivadas é normalmente inferior a 40% (RAUN e JOHNSON, 1999). Para melhorar a EUN é necessário considerar vários fatores que interferem no aproveitamento do nitrogênio (N) pelas plantas. No sul do Brasil, a dose de N recomendada para o milho na adubação de cobertura considera a expectativa de rendimento, o teor de matéria orgânica do solo e o efeito das pré-culturas (AMADO et al., 2002; COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO RS-SC, 2004). Contudo, devido à complexa dinâmica do N aplicado ao solo e às diferentes respostas das cultivares de milho ao N, é difícil prever se a dose recomendada será suficiente para a planta manifestar seu potencial produtivo. A inclusão de valores analíticos de N no solo e na planta pode, portanto, melhorar a predição da disponibilidade de N, aumentando, com isso, a precisão na recomendação das doses e possibilitando melhor ajuste do manejo do N (ARGENTA et al., 2001; RAMBO et al., 2004).

A predição da adubação nitrogenada pode ser melhorada pelo acompanhamento dos teores de N mineral no solo, especialmente dos de  $\text{N-NO}_3^-$ , fração predominante nos solos aerados (CERETTA e FRIES, 1997; MA e DWYER, 1999), como tem sido demonstrado para as condições norte-americanas de clima árido e semiárido (MAGDOFF et al., 1984; VANOTTI e BUNDY, 1994). Todavia, a avaliação da disponibilidade de N no solo em regiões de clima tropical ou subtropical, como o Brasil, é mais complicada, pois muitas reações envolvendo o N são influenciadas pelas condições climáticas e pela atividade microbiana. Enquanto GODOY et al. (2003) não verificaram diferenças nos teores de N inorgânico no solo pela aplicação ou não de fertilizante nitrogenado, RAMBO et al. (2007) detectaram mudanças na disponibilidade de N, no solo e correlação positiva entre os teores no solo na fase inicial de desenvolvimento do milho e o rendimento de grãos. Relação entre disponibilidade de N mineral e absorção inicial também foi detectada por CANTARELLA et al. (1994).

O estado nutricional das plantas também é capaz de prever a necessidade de adubação pela quantidade de N consumida. O monitoramento pode ser feito pela análise do teor de N no tecido vegetal. Este é um método eficiente, contudo não é capaz de corrigir deficiências em tempo hábil no mesmo ciclo. Os teores de N no tecido vegetal estão diretamente relacionados à concentração de pigmentos fotossintéticos, especialmente clorofilas, e à sua atividade. Esta relação é atribuída ao fato que de 50 a 70% do N total das folhas é integrante de enzimas que estão associadas aos cloroplastos (CHAPMAN e BARRETO, 1997). A clorofila é essencial para captar a energia solar e garantir o crescimento e desenvolvimento das plantas (TAIZ e ZEIGER, 2006). O teor de clorofila normalmente

é um indicativo do teor de N, que pode auxiliar na predição da disponibilidade de N para as plantas (BLACKMER e SCHEPERS, 1994).

A determinação dos teores de clorofila e de N no tecido foliar é laboriosa. Com o desenvolvimento de equipamentos capazes de medir indiretamente os teores de clorofilas das folhas de milho, o monitoramento dos teores de N, sem destruição das folhas e diretamente em campo, ficou facilitado. Alguns trabalhos têm determinado valores críticos durante a ontogenia da cultura do milho (SUNDERMAN et al., 1997; COSTA et al., 2001, ARGENTA et al., 2004, MA et al., 2007), os quais podem ser utilizados para monitoramento nutricional. Outros utilizam um índice de suficiência com base em leituras de uma área bem fertilizada (HUSSAIN et al., 2000).

Diante da necessidade de aperfeiçoamento de métodos que contribuam para melhorar as atuais recomendações de adubação para a cultura do milho necessita-se testar ferramentas mais práticas que permitam ao agricultor tomar decisões mais rápidas. O objetivo deste trabalho foi estudar a eficiência de parâmetros de solo (teores de  $\text{NO}_3^-$ -N,  $\text{NH}_4^+$ -N,  $\text{NO}_3^- + \text{NH}_4^+$ -N), e de planta (teor de N, clorofilas, índice relativo de clorofila – IRC), como indicadores da disponibilidade de N durante a ontogenia do milho submetido a doses e épocas de aplicação da cobertura nitrogenada e verificar essas relações ao longo do ciclo da cultura.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em campo, durante a safra 2008/2009. A área experimental situa-se a  $27^{\circ}50'35''\text{S}$  e  $50^{\circ}29'45''\text{O}$ , no município de Lages, Planalto Sul de Santa Catarina. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Cfb, mesotérmico, com verões brandos, temperaturas médias do mês mais quente inferiores a  $22^{\circ}\text{C}$  e precipitações pluviais bem distribuídas ao longo do ano.

O solo da área experimental é classificado como Nitossolo Vermelho Distrófico típico (EMBRAPA, 2006). Em setembro de 2008, era composto de 420,0 g  $\text{kg}^{-1}$  de argila; 51,0 g  $\text{kg}^{-1}$  de matéria orgânica; pH  $\text{H}_2\text{O}$  5,5; índice SMP 5,7; 5,0 mg  $\text{dm}^{-3}$  de P (Mehlich-1); 0,5  $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$  de K; 5,9  $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$  de Ca; 2,8  $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$  de Mg; 0,3  $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$  de Al; e 15,3  $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$  de CTC a pH 7,0. A área experimental vem sendo utilizada há 12 anos no sistema de semeadura direta sobre a palha e durante a entressafra é feito o cultivo de espécies de cobertura. Geralmente se faz o cultivo consorciado de aveia preta (*Avena strigosa*) e ervilhaca (*Vicia* sp.). No período de outono-inverno, anterior ao cultivo, procedeu-se a semeadura de aveia preta utilizando-se 170  $\text{kg ha}^{-1}$  de sementes para cobertura verde. A cobertura resultou em 5.600  $\text{kg ha}^{-1}$  de massa seca no fim de setembro de 2008, quando a aveia foi dessecada.

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados dispostos em parcelas subdivididas, com quatro repetições. Foram testadas quatro doses de N (0, 50, 100 e 200 kg ha<sup>-1</sup>) nas parcelas principais. Nas subparcelas foram avaliadas duas épocas de aplicação da fertilização nitrogenada: dose integral quando o milho tinha quatro folhas expandidas; dose integral quando o milho tinha oito folhas expandidas, estádios V4 e V8 da escala de RITCHIE et al. (1993) respectivamente; aplicação de metade da dose em V4 e metade da dose em V8. As subparcelas foram compostas por cinco linhas de seis metros de comprimento, espaçadas entre si por 0,7 m. A área útil da unidade experimental foi composta pelas três linhas centrais, perfazendo 12,6 m<sup>2</sup>.

A implantação do experimento ocorreu em 31 de outubro de 2008 e foi realizada com semeadoras manuais reguladas para distribuírem três sementes por cova do híbrido P30F53. Fez-se um desbaste do excesso de plantas quando elas estavam com três folhas expandidas para atingir a população de 55.000 plantas ha<sup>-1</sup>. Com base na fertilidade do solo e nas recomendações da COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO RS-SC (2004), foram aplicados, nas linhas de semeadura, 30 kg de N, 245 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 110 kg de K<sub>2</sub>O por hectare, objetivando atingir uma produtividade de 12.000 kg ha<sup>-1</sup> de grãos de milho. A aplicação das doses da adubação de cobertura foi realizada manualmente com uréia em filetes sobre a superfície a 20 cm da linha de semeadura nas épocas definidas para cada tratamento.

Os teores de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> e N mineral (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>+N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) no solo, nas linhas da cultura, foram determinados nos estádios V6 (seis folhas expandidas), V9 (nove folhas expandidas), V12 (12 folhas expandidas), V15 (15 folhas expandidas) e VT (pendoamento). Foram coletadas três subamostras ao acaso nas linhas, dentro de cada subparcela, para constituir uma amostra composta. O solo da área experimental é utilizado com plantio direto há vários anos e esse processo garante melhor condição de estabilidade e menor heterogeneidade na análise do N mineral, permitindo reduzir o número de subamostras (PEIGNÉ et al., 2009). As subamostras foram coletadas com trado (tipo holandês) nas profundidades de 0–20 e 20–40 cm.

Após serem coletadas no campo, até a chegada ao laboratório, as amostras foram conservadas em caixas de isopor com gelo. O fracionamento do N mineral do solo foi realizado como descrito por TEDESCO et al. (1995).

O índice relativo de clorofila (IRC) foi determinado com clorofilômetro portátil (Cloroflog CFL1030, FALKER Automação agrícola, Porto Alegre, Brasil), nos estádios V6, V9, V12, V15, VT e R1 (espigamento). O equipamento faz leituras em três comprimentos de onda: 635 (clorofila b), 650 (clorofila a) e 840 nm (correção do grau de hidratação das folhas). Nos cinco primeiros estádios, foram utilizadas a penúltima e a última folha completamente expandida de cada planta no

momento da leitura. Foram feitas duas leituras no terço médio de cada uma das folhas, a dois centímetros dos bordos foliares, totalizando quatro leituras por planta. No espigamento do milho, foi utilizada a folha índice imediatamente abaixo da espiga, sendo também feitas duas leituras por folha. As leituras do IRC foram obtidas em cinco plantas na unidade experimental. Para a determinação do teor de N total no tecido foliar, foram coletadas, nos estádios vegetativos e no pendoamento, as duas últimas folhas expandidas de cada planta em cinco plantas por subparcela. No espigamento, coletou-se a folha índice em cinco plantas de cada subparcela. As folhas foram lavadas, secadas e moídas em laboratório. Os procedimentos de preparo de amostra, digestão, destilação e quantificação do N total no tecido estão descritos em TEDESCO et al. (1995).

No espigamento, foram determinados os teores totais de clorofila, clorofila *a* e clorofila *b*. Foi utilizada a folha índice de cinco plantas, coletadas ao acaso dentro da subparcela. Em cada folha, nos mesmos pontos onde foram feitas as leituras com o medidor portátil, foram removidos seis discos com diâmetro de 1,6 cm, com um furador de rollhas, nos quais foram determinadas a massa fresca (com uma balança analítica, com precisão de 0,0001 g) e a área total (com um integrador de área foliar LI-COR modelo LI-305A). Os discos de cada folha foram imediatamente macerados em acetona a 80%, na presença de CaCO<sub>3</sub>, em ambiente com baixa iluminação. Foi utilizada a proporção de 0,225 g de massa fresca de tecido foliar para 50 mL de acetona 80%. Os extratos obtidos foram filtrados através de papel-filtro rápido e coletados em balões volumétricos de 25 mL, completando-se o volume no fim da filtragem. A densidade ótica dos filtrados foi lida em espectrofotômetro, nos comprimentos de onda de 645 e 663 nm. A partir dessas leituras, determinou-se a concentração (mg cm<sup>-3</sup>) de clorofilas *a*, *b* e *totais* nas soluções de leitura, por meio das seguintes fórmulas, propostas por ARNON (1949):

$$\text{Clorofila } a = (12,7 \times A_{663\text{nm}}) - (2,69 \times A_{645\text{nm}})$$

$$\text{Clorofila } b = (22,9 \times A_{645\text{nm}}) - (4,68 \times A_{663\text{nm}})$$

$$\text{Clorofila total} = (20,2 \times A_{645\text{nm}}) - (8,02 \times A_{663\text{nm}})$$

No espigamento, foram coletadas folhas com diferentes tonalidades de verde para que se obtivesse uma curva entre as leituras do clorofilômetro e os teores de clorofila extraível. As folhas foram coletadas nas parcelas, totalmente ao acaso, mantidas em caixas resfriadas e levadas ao laboratório para que fossem feitas as leituras do IRC, com o clorofilômetro, e a determinação do teor de clorofilas, pelo método de ARNON (1949). Os valores foram transformados para teores de clorofilas *a*, *b* e *totais*

nas folhas, expressos em unidades de área ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ ) e de massa fresca ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ).

A colheita do milho foi realizada quando todas as folhas estavam senescentes e os grãos entre 18% e 22% de umidade. A área útil de cada subparcela foi colhida para a determinação da produtividade de grãos. Os grãos foram secados em estufa, a 65 °C, até atingirem massa constante. A massa seca dos grãos foi convertida para um hectare e expressos na umidade padrão de 130 g  $\text{kg}^{-1}$ .

Foram obtidas correlações lineares simples para avaliar o grau de dependência entre as seguintes variáveis: teores de clorofila pelo método destrutivo e índice relativo de clorofila obtido com o clorofilômetro portátil, no espigamento; leituras com o clorofilômetro e teores de N total no tecido vegetal, nos diferentes estádios de avaliação; leituras de IRC e rendimento de grãos de milho; teores de N mineral no solo e rendimento de grãos. Quando se obteve significância, as correlações foram ajustadas por meio de uma equação de regressão ( $p < 0,05$ ).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A precipitação pluvial total registrada entre outubro de 2008 e abril de 2009 foi de 1770 mm. De acordo com o balanço hídrico na área experimental (Figura 1) houve

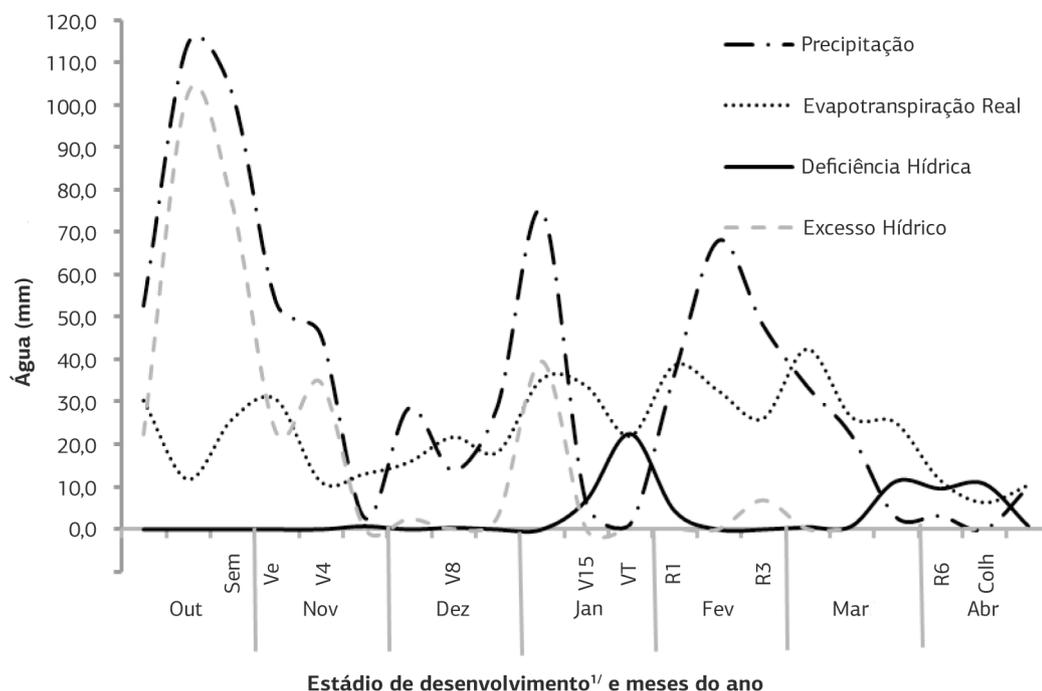
excesso hídrico de 30 mm no início do desenvolvimento do milho que coincidiu com a época da primeira aplicação de N. A aplicação de N em V4 foi realizada antes de uma chuva intensa de 50 mm. Já na fase vegetativa, as precipitações pluviais foram relativamente bem distribuídas. Houve um período de restrição hídrica de 22 mm entre meados de janeiro e início de fevereiro, coincidindo com o florescimento do milho no último decênio de janeiro. A temperatura média mensal do ar durante o desenvolvimento do milho oscilou entre 16,3 °C (outubro) e 21,1 °C (fevereiro).

Os teores de  $\text{N-NO}_3^-$  e  $\text{N-NH}_4^+$ , N mineral ( $\text{N-NO}_3^- + \text{N-NH}_4^+$ ) no solo, medidos nos estádios V6, V9, V12, V15 e VT do milho, nas profundidades de 0–20 e 20–40 cm, não apresentaram relação com os teores de N nas folhas, com o índice relativo de clorofila (IRC) e com o rendimento de grãos. Os teores de N mineral não foram alterados pela dose de N usada e pela época de aplicação da uréia (Tabela 1). Por conta do excedente hídrico de 30 mm em função das precipitações pluviais durante o período inicial, prováveis perdas de N por lixiviação e desnitrificação podem ter ocorrido. O íon  $\text{N-NO}_3^-$ , fração predominante poucos dias após a aplicação da uréia em solos aerados (SILVA e DO VALE, 2000), é repelido pelas cargas negativas dos colóides e permanece na solução do

Tabela 1. Teores de N mineral no solo em cinco estádios de desenvolvimento do milho. Lages (SC), safra 2008/2009

Dose de N ( $\text{kg ha}^{-1}$ )	Época	$\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_3^-$ ( $\text{mg kg}^{-1}$ )				
		V6 <sup>(1)</sup>	V9	V12	V15	VT
<b>0–20 cm</b>						
0		21,2±6,0 <sup>(2)</sup>	13,0±4,4	14,4±5,7	18,9±4,2	10,8±0,1
50	V4	19,7±4,4	14,2±4,4	28,3±1,3	20,9±4,9	13,0±3,9
	V4+V8	15,5±4,7	20,1±6,0	16,4±1,0	20,6±4,4	8,6±2,3
100	V8	14,2±4,7	18,7±7,3	16,1±3,7	13,7±2,6	10,9±1,8
	V4	35,4±9,1	6,9±2,6	19,1±3,3	23,0±3,3	8,1±4,1
	V4+V8	19,0±5,6	16,0±3,5	17,6±5,0	22,3±3,0	14,6±2,7
	V8	15,9±10,5	20,3±7,5	19±7,0	24,4±1,8	15,1±2,9
200	V4	16,5±4,6	16,1±4,7	34,4±9,7	27,8±4,5	13,0±4,1
	V4+V8	19,5±13,8	24,1±12,0	26,3±6,2	24,6±2,8	14,3±4,4
	V8	14,9±1,5	17,1±6,6	27,5±8,1	23,8±3,3	9,3±2,4
<b>20–40 cm</b>						
0		14,8±5,6	17,2±5,5	7,5±2,0	15,6±3,4	13,2±3,7
50	V4	14,1±3,3	16,4±8,5	16,2±4,9	23,9±1,8	9,9±3,4
	V4+V8	21,9±7,3	7,0±4,8	21,4±8,4	21,9±4,0	9,3±3,7
100	V8	13,5±2,4	11,4±5,7	12,4±5,0	17,6±4,2	8,8±2,2
	V4	27,4±3,3	17,9±6,8	14,1±5,5	22,2±2,5	10,8±4,7
	V4+V8	17,4±6,2	12,4±5,4	13,0±3,2	23,7±4,5	6,5±3,2
	V8	17,2±3,9	10,8±4,0	14,2±3,9	22,9±3,4	13,1±2,6
200	V4	16,7±5,6	13,9±3,8	20,1±6,4	22,9±3,2	8,8±2,4
	V4+V8	19,3±2,4	28,2±4,4	14,5±6,2	14,6±4,8	10,9±4,8
	V8	18,2±5,4	17,7±7,0	21,4±10,4	30,6±6,3	14,2±4,8

(<sup>1</sup>) V6: seis folhas expandidas; V9: nove folhas expandidas; V12: 12 folhas expandidas; V15: 15 folhas expandidas; VT: pendoamento; V4: adubação com quatro folhas expandidas; V8: adubação com oito folhas expandidas; V4+V8: metade da dose de N em V4 e metade em V8. (<sup>2</sup>) Média de 4 repetições ± erro-padrão da média. Valores não significativos ( $p < 0,05$ ).



**Figura 1.** Balanço hídrico da safra 2008/09 na área experimental durante o desenvolvimento do milho, segundo metodologia proposta por THORNTWAITE e MATTER (1995), considerando uma capacidade de armazenamento de água no solo de 75 mm. Lages, SC.  
(<sup>1</sup>) Conforme escala de desenvolvimento proposta por RITCHIE et al. (1993).

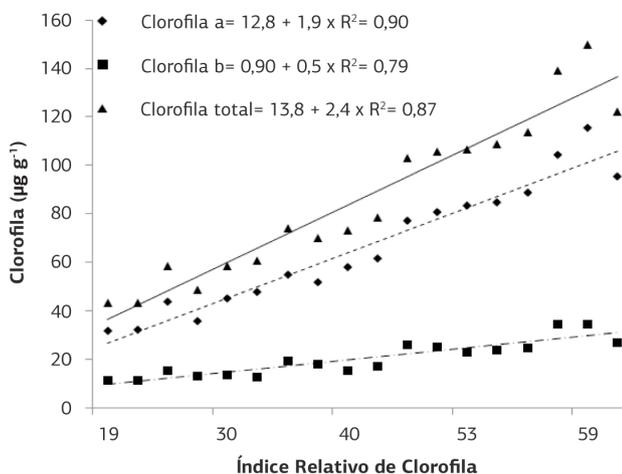
solo (DYNIA e CAMARGO, 1999) podendo ser levado em profundidade. A perda de N durante a desnitrificação ocorre pela redução da concentração de  $O_2$  em relação ao aumento da porosidade total preenchida com água, a qual cria condição para redução no solo. Picos de emissão de espécies reduzidas de N ( $N_2O$ ,  $N_2$ ) são comuns após eventos de chuva, principalmente em solos argilosos. A distribuição lateral do fertilizante após as chuvas também pode ter prejudicado a amostragem que foi feita nas linhas de semeadura. Mesmo assim, os teores de N mineral ( $N-NH_4^+ + N-NO_3^-$ ) até VT foram de  $20 \text{ mg N kg}^{-1}$ , na média dos quatro períodos de avaliação subsequentes. Segundo RAMBO et al. (2007), o valor de  $20 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ kg}^{-1}$  de solo seria o valor crítico de disponibilidade de N para milho em V6. Os teores detectados no presente trabalho, apesar de não se constituírem apenas da fração nítrica, dão ideia de que no solo da área experimental havia adequada disponibilidade de N mineral, mesmo quando o fertilizante não foi aplicado.

Os dados não confirmaram as observações feitas por RAMBO et al. (2007) quando verificaram que o teor de  $N-NO_3^-$  no solo pode ser utilizado como indicador complementar da disponibilidade de N no solo na fase inicial de desenvolvimento do milho (até V6). Estes mesmos autores demonstraram que o uso associado à concentração de  $N-NH_4^+$  propicia melhor acurácia na estimativa da disponibilidade. No entanto, nas condições climáticas do Planalto Catarinense, assim como

nas do trabalho de ROZAS et al. (2000), na Argentina, o uso do  $N-NH_4^+$ , associado ou não ao  $N-NO_3^-$ , não aumentou a eficiência das correlações. A predição da necessidade de N em cobertura para milho por indicadores de solo, como o teor de  $N-NO_3^-$  na camada de 0-20 cm em pré-semeadura (MAGDOFF et al., 1984; VANOTTI e BUNDY, 1994) e o teor de  $N-NO_3^-$  na camada de 0-30 cm em pré-cobertura (BINFORD et al., 1992), utilizados em algumas regiões de clima árido dos EUA, é pouco precisa em condições de clima tropical e subtropical. Nestes ambientes, a dinâmica do N no solo é mais afetada e os valores obtidos em laboratório podem não expressar o teor disponível no solo no momento da amostragem, apesar de CANTARELLA et al. (1994) demonstrarem que o índice utilizado é o que tem maiores chances de sucesso devido à correlação existente entre os teores de  $N-NH_4^+ + NO_3^-$  no solo e a absorção inicial (36 dias) pelo milho cultivado em vasos para 20 solos de São Paulo. Contudo, esse tipo de relação parece não ser suportada para avaliações em estádios mais avançados de desenvolvimento e em condições de campo devido à grande variabilidade natural das condições que influenciam a disponibilidade de N no solo. GODOY et al. (2003) não conseguiram separar áreas que receberam fertilização mineral das que não receberam por meio da determinação dos teores de N do solo. Esse fato indica que, apesar do intensivo trabalho que tem sido feito com N no solo, novas fronteiras

devem ser ainda abertas, especialmente com relação ao desenvolvimento de métodos de amostragem e quantificação das frações de N do solo para a determinação de valores críticos nas condições edafoclimáticas prevalentes no sul do Brasil, a fim de diminuir a variabilidade amplamente observada. Esta abordagem deve ser considerada especificamente envolvendo tipos de solo, clima e sistema de cultivo da região, e isoladamente, dificilmente o uso do teor de nitrato será eficiente para estimar a demanda nitrogenada da cultura do milho.

A correlação entre o índice relativo de clorofila (IRC) e o teor de clorofila extraível de folhas com diferentes graus de esverdeamento foi significativa ( $p < 0,01$ ) no espigamento (Figura 2). A análise de correlação linear simples também evidenciou que no espigamento a quantificação dos teores de clorofila *a*, *b* e *total* na folha índice proporcionou alta correlação positiva com o índice relativo de clorofila e com o teor de N (Tabela 2). A relação verificada entre a leitura com o medidor portátil de clorofila e os teores de clorofila extraível evidencia que o IRC medido com o clorofilômetro portátil estimou adequadamente



**Figura 2.** Teor de clorofilas *a*, *b* e *total* em função do índice relativo de clorofila no espigamento do milho. Equações significativas ( $p < 0,05$ ). Linha tracejada representa clorofila *a*; linha tracejada+pontuada representa clorofila *b* e linha cheia representa clorofila *total*.

o grau de esverdeamento das folhas de milho no espigamento. Portanto, as leituras efetuadas pelo equipamento podem substituir, com boa precisão, as determinações por métodos destrutivos do teor de clorofila. ARGENTA et al. (2001) também verificaram correlação significativa entre os teores de clorofila e as leituras com o clorofilômetro nos estádios de seis a sete folhas, 10–11 folhas e no espigamento para dois híbridos de milho, embora no espigamento os coeficientes de correlação observados por estes autores tenham sido menores que os observados no presente estudo.

A correlação positiva entre os teores de clorofilas extraíveis e os teores de N na folha índice do milho no espigamento (Tabela 2) se deve ao fato que 50% a 70% do N total das folhas está ligado a enzimas (CHAPMAN e BARRETO, 1997) associadas aos cloroplastos (STOCKING e ONGUN, 1962). No espigamento, o IRC esteve mais relacionado aos teores de clorofila *a* e *total*, enquanto o teor de N foi melhor estimador do teor de clorofila *b* no tecido.

O clorofilômetro foi sensível em detectar o aumento na concentração dos pigmentos fotossintéticos (Figura 2). A clorofila *a* proporcionou uma taxa de incremento em função da leitura do clorofilômetro maior em relação à clorofila *b*. O tipo *a* é o mais amplamente distribuído nas plantas superiores (TAIZ e ZEIGER, 2006). Para cada 10 unidades de leitura do clorofilômetro, detectou-se um incremento de  $19 \mu\text{g g}^{-1}$  de clorofila *a*. Já para a clorofila *b*, o incremento foi de  $5,1 \mu\text{g g}^{-1}$  para cada 10 unidades de IRC.

As leituras do clorofilômetro foram positivamente correlacionadas aos teores de N no tecido foliar em todos os estádios de avaliação, exceto quando o milho tinha seis folhas expandidas (Tabela 3). Os coeficientes de correlação entre teores de N no tecido, IRC e rendimento de grãos aumentaram dos estádios iniciais para o fim do ciclo do milho, demonstrando que a utilização do clorofilômetro para o acompanhamento do teor de N da planta foi mais precisa nos estádios mais avançados de desenvolvimento do milho.

A ausência de correlação entre o IRC e os teores de N na folha em V6 indica que, provavelmente,

**Tabela 2.** Coeficientes de correlação linear simples entre os teores de clorofilas *a*, *b* e *total* e as leituras do índice relativo de clorofila (IRC) com clorofilômetro portátil e teor de N na folha índice do milho (*Zea mays* L.) no espigamento

	Clorofila <i>a</i>		Clorofila <i>b</i>		Clorofila <i>total</i>	
	( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )	( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )	( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )
IRC <sup>(1)</sup>	0,78	0,81	0,69	0,73	0,77	0,80
<b>Curva</b>						
IRC	0,90	0,90	0,83	0,83	0,90	0,90
N <sup>(2)</sup>	0,87	0,85	0,87	0,85	0,88	0,86

<sup>(1)</sup> Índice relativo de clorofila em folhas coletadas ao acaso no experimento.

<sup>(2)</sup> Teor de N na folha índice.

Coefficientes de correlação linear significativos ( $p < 0,01$ ).

**Tabela 3.** Coeficientes de correlação linear entre as leituras do índice relativo de clorofila (IRC) e os teores de N no tecido e rendimento de grãos determinados em seis estádios de desenvolvimento do milho

	Teor de N na folha	Rendimento de grãos
Seis folhas expandidas		
IRC	ns <sup>(1)</sup>	ns <sup>(1)</sup>
N	-	-
Nove folhas expandidas		
IRC	0,70*	0,78**
N	-	0,64*
12 folhas expandidas		
IRC	0,67*	0,83*
N	-	0,92**
15 folhas expandidas		
IRC	0,82**	0,86**
N	-	0,93**
Pendoamento		
IRC	0,98**	0,94**
N	-	0,92**
Espigamento		
IRC	0,99**	0,94**
N	-	0,97**

(<sup>1</sup>) Correlação não significativa; \*Correlação significativa (p<0,05). \*\*Correlação significativa (p<0,01).

houve consumo de luxo pelo milho. A falta de relação entre estas variáveis já foi observada por ARGENTA et al. (2001) para milho neste estádio. Estas informações confirmam que grande parte do N absorvido até V6 é utilizado para produção de outras estruturas vegetativas ou fica armazenado em estruturas de reserva e não é usado na formação de pigmentos fotossintéticos. Já a falta de correlação entre as leituras do clorofilômetro e o rendimento de grãos quando o milho estava com seis folhas expandidas deve-se provavelmente ao suprimento natural de N da matéria orgânica do solo e ao N mineral disponibilizado na semeadura (30 kg ha<sup>-1</sup>). ERNANI (2004) estimou para solos dessa região de Santa Catarina uma taxa de mineralização de 2,5% ao ano. Assim, esse solo seria capaz de disponibilizar uma quantidade superior a 125 kg N ha<sup>-1</sup> anualmente. Dessa forma, devido à baixa exigência nitrogenada do milho nesse estádio, menos de 20% da absorção total de acordo com SCHEPERS et al. (1996), e a suficiente disponibilidade de N até V6, não se criou variabilidade detectável no grau de esverdeamento das folhas e no teor de N total do tecido. De acordo com DWYER et al. (1991), a estreita faixa de leituras do clorofilômetro medidas quando o milho tem seis folhas expandidas torna difícil separar áreas deficientes de áreas suficientes em N. VARVEL et al. (1997) verificaram que somente grandes deficiências de N podem ser detectadas usando o clorofilômetro portátil no estádio V8. A falta de um valor crítico nesse estádio pode ser limitante para o uso dessa ferramenta, pois o período de recomendação da

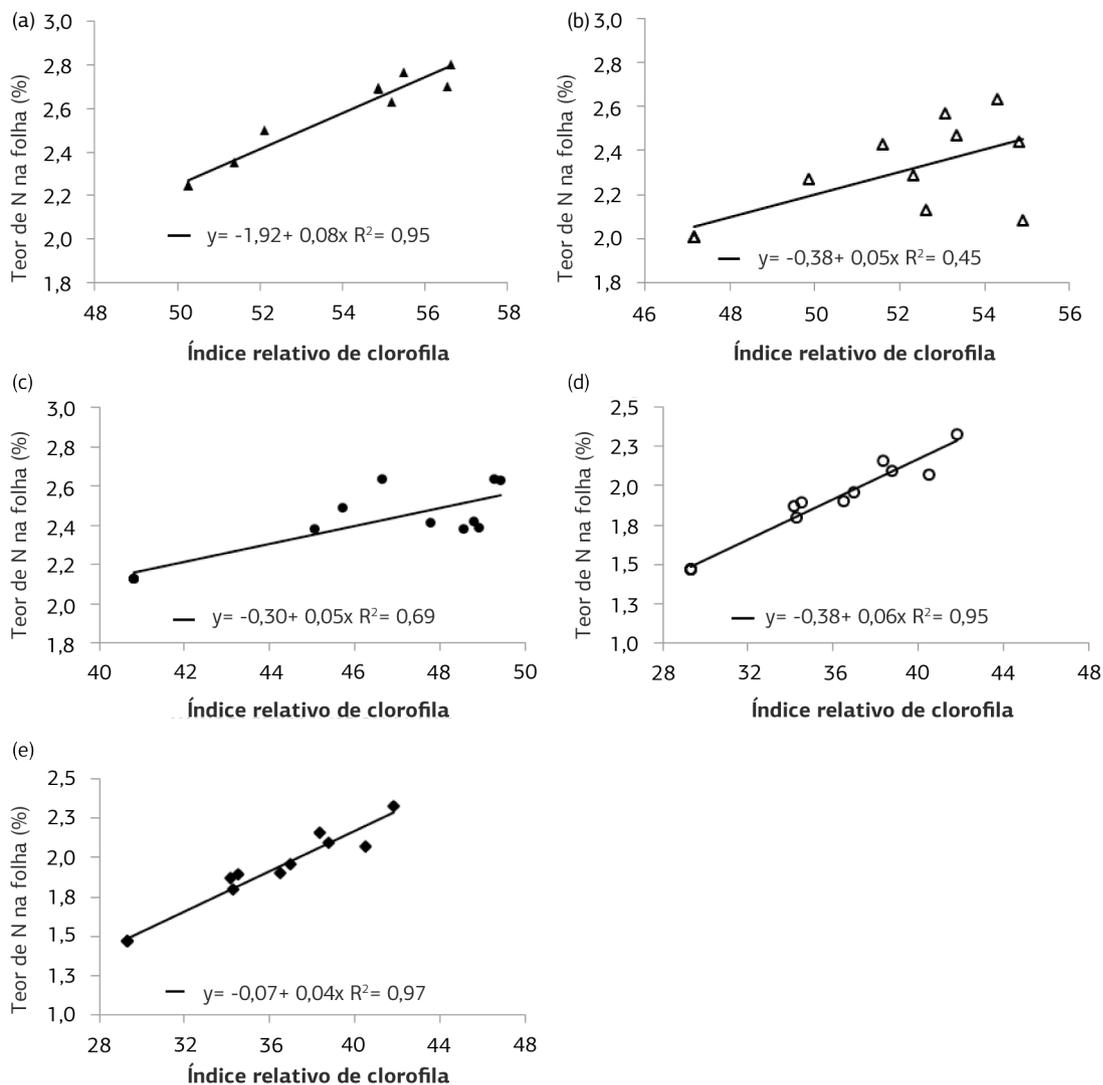
adubação nitrogenada em cobertura geralmente ocorre nessa fase. Atrasos na cobertura nitrogenada podem gerar perdas de rendimento.

Nos estádios de nove, 12 e 15 folhas expandidas o IRC esteve mais relacionado ao rendimento de grãos do que com o teor de N no tecido foliar (Tabela 2). Já no pendoamento e no espigamento, o IRC esteve mais relacionado aos teores de N no tecido, apesar de haver correlação com o rendimento de grãos acima de 90%. O IRC proporcionou maior correlação com o rendimento de grãos que o teor de N na avaliação realizada em V9 e no pendoamento. A leitura do clorofilômetro não é influenciada pelo consumo de luxo de N, o qual resulta em uma concentração de N na planta acima do nível adequado e influencia negativamente a correlação deste parâmetro com o rendimento de grãos (ARGENTA et al., 2002), posto que esse N não necessariamente será utilizado no aparato fotossintético ou pela planta. Por esta razão, BLACKMER e SCHEPERS (1994) consideram a leitura do clorofilômetro melhor indicadora do nível de N na planta do que o próprio teor deste nutriente. Por outro lado, nos estádios V12, V15 e R1, o coeficiente de correlação linear foi maior entre o teor de N e o rendimento de grãos.

As leituras com o clorofilômetro mostraram um coeficiente de correlação médio durante o desenvolvimento do milho com o rendimento de grãos igual a 0,87 (p<0,01). Ele foi similar ao coeficiente de correlação médio entre teor de N no tecido e o rendimento de grãos (0,88). Assim, a utilização do IRC pode ser preferida em relação ao uso do teor de N no tecido, uma vez que a determinação com o clorofilômetro apresenta boa correlação, é de determinação mais fácil e não destrói o tecido foliar.

O clorofilômetro foi sensível para determinar o aumento nas concentrações de N no tecido foliar nos estádios V9, V12, V15, VT e R1 (Figura 3). Nestes estádios, o teor de N aumentou linearmente à medida que a leitura do clorofilômetro foi maior, assim como foi determinado em outros trabalhos (PIEKIELEK e FOX, 1992; PIEKIELEK et al., 1995). É importante destacar que a amplitude de quantificação do IRC aumentou com desenvolvimento do milho, e em VT e R1 observou-se a maior variação no grau de esverdeamento das plantas. O IRC oscilou aproximadamente entre 28 e 44 unidades nesses estádios.

O aumento da cor verde das folhas nos estádios V9, V15, VT e R1 medido por meio do IRC refletiu um incremento no rendimento de grãos de milho (Figura 4). Esta relação foi similar à resposta do rendimento de grãos à quantidade de N aplicada (SANGOI et al., 2011). Independentemente da época de aplicação houve aumento de 130 kg ha<sup>-1</sup> de grãos para cada 10 kg ha<sup>-1</sup> de N dentro da faixa estudada, e a produtividade máxima ultrapassou 11.700 kg ha<sup>-1</sup>.

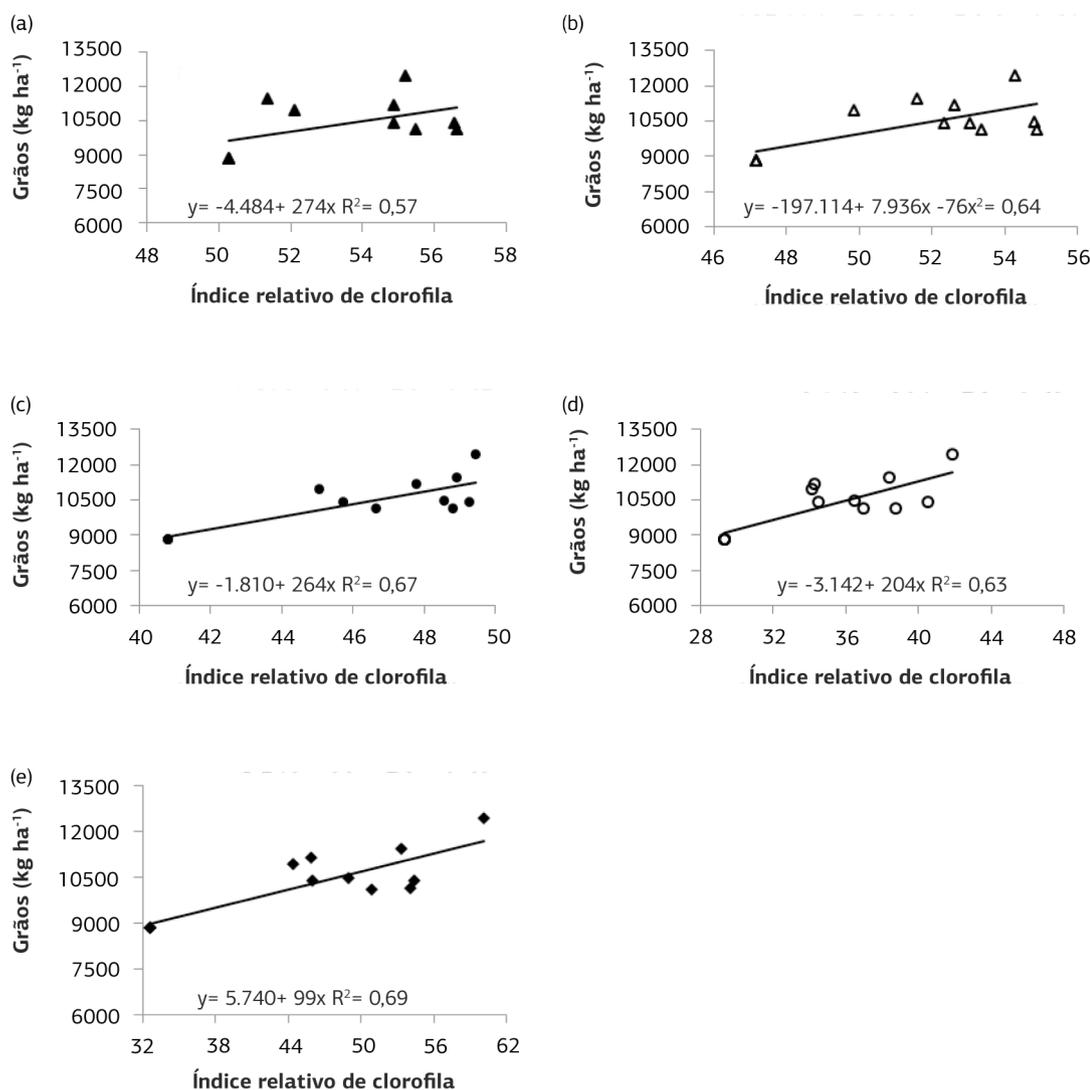


**Figura 3.** Teor de N na folha de milho em quatro estádios de desenvolvimento em função da leitura do índice relativo de clorofila (IRC) com medidor portátil de clorofila. Equações significativas ( $p < 0,01$ ). (a) nove folhas expandidas (triângulos cheios); (b) 12 folhas expandidas (triângulos vazios); (c) 15 folhas expandidas (círculos cheios); (d) pendoamento (círculos vazios); (e) espigamento (losangos cheios).

O melhor ajuste foi obtido quando as leituras foram realizadas na folha índice das plantas no espigamento (Figura 4). Um ponto crítico é que em cada estágio há uma faixa de leituras, o que não inviabiliza o uso do equipamento, mas exige um acompanhamento ao longo de todo o ciclo. Na fase inicial do milho, o contraste das tonalidades do verde nas folhas do milho é menor, devido à menor exigência pelas plantas e ao suprimento adequado nessa fase. Portanto, os erros podem ser maiores nas estimativas de rendimento de grãos. Contudo, verificou-se que leituras acima de um índice 50 estavam relacionadas aos maiores rendimentos. Quando o IRC foi obtido no pendoamento e as leituras obtidas nas últimas folhas, valores do índice acima de 40 unidades são mais adequados. No espigamento, o incremento em uma

unidade a partir de um IRC de 30, medido na folha índice, indicou aumento em quase  $100 \text{ kg ha}^{-1}$  de grãos de milho. Devido à maior amplitude nos valores do IRC nesse estágio, a estimativa do rendimento é mais representativa.

As características de planta, assim como também observado por RAMBO et al. (2008), foram mais consistentes em prever o rendimento de grãos, que as características de solo, devido à dificuldade de se monitorar a dinâmica do N no solo em regiões de clima subtropical como as do Sul do Brasil. Os dados deste estudo contrapõem-se àqueles obtidos em condições de clima temperado por SUNDERMAN et al. (1997) e SCHRÖDER et al. (2000), segundo os quais, as características de solo preveem com maior segurança a dose de N a ser aplicada em comparação com as de planta.



**Figura 4.** Rendimento de grãos de milho em função da leitura do índice relativo de clorofila (IRC) determinado em clorofilômetro em quatro estádios de desenvolvimento. Equações significativas a ( $p < 0,01$ ). (a) nove folhas expandidas (triângulos cheios); (b) 12 folhas expandidas (triângulos vazios); (c) 15 folhas expandidas (círculos cheios); (d) pendoamento (círculos vazios); (e) espigamento (losangos cheios).

#### 4. CONCLUSÃO

O clorofilômetro substitui de forma prática, rápida e precisa, a determinação dos teores de clorofilas pelo método destrutivo, sendo uma ferramenta eficiente para monitorar o estado nitrogenado das plantas de milho a partir da nona folha expandida do milho (V9). Contudo, cada estágio tem uma faixa mais adequada.

Os teores de N mineral e das frações (N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) não auxiliam na predição da disponibilidade de N no solo, em anos e regiões com altas precipitações pluviais no início do ciclo, como as verificadas no ano do ensaio.

O índice relativo de clorofila e o teor de N no tecido são melhores preditores para avaliação da disponibilidade

de N às plantas e do rendimento de grãos que o monitoramento do nutriente no solo.

#### AGRADECIMENTOS

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal Docente de Ensino Superior (CAPES), pela concessão da Bolsa de Mestrado ao primeiro autor. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da Bolsa de Produtividade em Pesquisa aos segundo e terceiro autores e de Iniciação Científica aos demais autores, alunos do curso de Agronomia da UDESC. Aos laboratórios de Fisiologia Pós-colheita e Fertilidade do Solo do CAV/UDESC pelo auxílio dispensado nas análises.

## REFERÊNCIAS

- AMADO, T.J.C.; MIELNICZUK, J.; AITA, C. Recomendação de adubação nitrogenada para o milho no RS e SC adaptada ao uso de culturas de cobertura do solo, sob sistema de plantio direto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.26, p.241-248, 2002.
- ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F.; BORTOLINI, C.G. Teor de clorofila na folha como indicador do nível de N em cereais. *Ciência Rural*, v.31, p.715-722, 2001.
- ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F.; MIELNICZUK, J.; BORTOLINI, C.G. Parâmetros de planta como indicadores do nível de nitrogênio na cultura do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.37, p.519-527, 2002.
- ARGENTA, G.; SILVA, P.R.F.; SANGOI, L. Leaf relative chlorophyll content as an indicator parameter to predict nitrogen fertilization in maize. *Ciência Rural*, v.34, p.1379-1387, 2004.
- ARNON, D.I.; Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidases in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, v.24, p.1-15, 1949.
- BINFORD, G.D.; BLACKMER, A.M.; CERRATO, M.E. Nitrogen concentration of young corn plants as an indicator of nitrogen availability. *Agronomy Journal*, v.84, p.219-223, 1992.
- BLACKMER, T.M.; SCHEPERS, J.S. Techniques for monitoring crop nitrogen status in corn. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v.25, p.1791-1800, 1994.
- CANTARELLA, H.; MATTOS JR.; D.; RAIJ, B. van. Lime effect on soil N availability indexes as measured by plant uptake. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, v.25, p.989-1006, 1994.
- CERETTA, C.A.; FRIES, M.R. Adubação nitrogenada no sistema plantio direto. In: NUERNBERG, N.J. (Ed.). *Conceitos e fundamentos do sistema plantio direto*. Lages: SBCS, 1998. p.111-120.
- COSTA, C.; DWYER, L.M.; DUTILLEUL, P.; HAMILTON, R.I.; STEWARDT, D.W.; MA, B.L.; SMITH, D.L. Inter-relationships of applied nitrogen, SPAD, and yield of leafy and non-leafy maize genotypes. *Journal of Plant Nutrition*, v.24, p.1174-1194, 2001.
- CHAPMAN, S.C.; BARRETO, H.G. Using a chlorophyll meter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth. *Agronomy Journal*, v.89, p.557-562, 1997.
- COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. *Recomendações de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina*. 10.ed. Porto Alegre: SBCS – Núcleo Regional Sul, 2004. 400p.
- DYNIA, J.F.; CAMARGO, O.A. Retenção de nitrato num solo de carga variável, influenciada por adubação fosfatada e calagem. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.34, p.141-144, 1999.
- DWYER, L.M.; TOLLENAAR, M.; BAGNULO, C. A non-destructive method to monitor leaf greenness in corn. *Canadian Journal of Plant Science*, v.71, p.505-509, 1991.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. *Centro Nacional de Pesquisa em Solos. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos*. 2.ed. Brasília: Embrapa-CNPq, 2006. 306p.
- ERNANI, P.R. Disponibilidade de nitrogênio e adubação nitrogenada para a macieira. Lages: Graphel, 2003. 76p.
- GODOY, L.I.G.; VILLAS BÔAS, R.L.; GRASSI FILHO, H. Adubação nitrogenada na cultura do milho baseada na medida do cloroflômetro e no índice de suficiência de nitrogênio (ISN). *Acta Scientiarum Agronomy*, v.25, p.373-380, 2003.
- HUSSAIN, F.; BRONSON, K.F.; YADVINDER-SINGH; BIJAY-SING; PENG, S. use of chlorophyll meter sufficiency indices for nitrogen management of irrigated rice in Asia. *Agronomy Journal*, v.92, p.875-879, 2000.
- MA, B.L.; DWYER, L.M. Within plot variability in available soil mineral nitrogen in relation to leaf greenness and yield. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v.30, p.1919-1938, 1999.
- MA, B.L.; SUBEDI, K.D.; ZHANG, T.Q. Pre-sidedress nitrate test and other crop-based indicators for fresh market and processing sweet corn. *Agronomy Journal*, v.99, p.174-183, 2007.
- MAGDOF, F.R.; ROSS, D.; AMADON, J. A soil test for nitrogen availability to corn. *Soil Science Society of America Journal*, v.48, p.1301-1304, 1984.
- PEIGNÉ, J.; VIAN, J.F.; CANNAVACCIUOLO, M.; BOTTOLLIER, B.; CHAUSSOD, R. Soil Sampling based on field spatial variability of soil microbial indicators. *European Journal of soil Variability*, v.45, p.488-495, 2009.
- PIEKIELEK, W.P.; FOX, R.H. Use of a chlorophyll meter to predict sidedress nitrogen requirements for maize. *Agronomy Journal*, v.84, p.49-65, 1992.
- PIEKIELEK, W.P.; FOX, R.T.; TOTH, J.D.; MACNEAL, K.E. Use of a chlorophyll meter at the early dent stage of corn to evaluate nitrogen sufficiency. *Agronomy Journal*, v.87, p.403-408, 1995.
- RAMBO, L.; SILVA, P.R.F.; ARGENTA, G.; BAYER, C. Testes de nitrato no solo como indicadores complementares do manejo da adubação nitrogenada em milho. *Ciência Rural*, v.34, p.1279-1287, 2004.
- RAMBO, L.; SILVA, P.R.F.; STRIEDER, M.L.; SANGOI, L.; BAYER, C.; ARGENTA, G. Monitoramento do nitrogênio na planta e no solo para predição da adubação nitrogenada em milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.42, p.407-417, 2007.
- RAMBO, L.; SILVA, P.R.F.; 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*, v.43, p.401-409, 2008.
- RAUN, W.R.; JOHSON, G.V. Improving nitrogen efficiency use for cereal production. *Agronomy Journal*, v.91, p.357-363, 1999.
- RITCHIE, S.W.; HANWAY, J.J.; BENSON, G.O. *How a corn plant develops*. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1993. 26p.
- ROZAS, H.S.; ECHEVERRIA, H.E.; STUDDERT, G.A.; DOMÍNGUEZ, G. Evaluation of the presidedress soil nitrogen test

- for no-tillage maize fertilized at planting. *Agronomy Journal*, v.92, p.1176-1183, 2000.
- SANGOI, L.; VARGAS, V.P.; SHIMITT, A.; PLETSCH, A.J.; VIEIRA, J.; SALDANHA, A.; SIEGA, E.; CARNIEL, G.; MENGARDA, R.T.; PICOLI JUNIOR, G.J. Disponibilidade de nitrogênio, sobrevivência e contribuição dos perfilhos ao rendimento de grãos do milho. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v.35, p.183-191, 2011.
- SCHEPERS, J.S.; BLACKMER, T.M.; WILHELM, W.W.; RESENDE, M. Transmittance and reflectance measurements of corn leaves from plants with different nitrogen and water supply. *Journal of Plant Physiology*, v.148, p.523-529, 1996.
- SCHRÖDER, J.J.; NEETESON, J.J.; OENEMA, O.; STRUIK, P.C. Does the crop or the soil indicate how to save the nitrogen in maize production? Reviewing the state of art. *Field Crops Research*, v.66, p.151-164, 2000.
- SILVA, C.A.; DO VALE, F.R.; Disponibilidade de nitrato em solos brasileiros sob efeito da calagem e de fontes e doses de nitrogênio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.35, p.2461-2471, 2000.
- STOCKING, C.R.; ONGUN, A. The intracellular distribution of some metallic elements in leaves. *American Journal of Botany*, v.49, p.2804-289, 1962.
- SUNDERMAN, H.D.; PONTIS, J.S.; LAWLESS, J.R. Variability in leaf chlorophyll concentration among fully fertilized corn hybrids. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, v.28, p.1793-1803, 1997.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Plant Physiology*. 4.ed. Sunderland: Sinauer, 2006. 764p.
- TEDESCO, M.J.; VOLKSVEISS, S.J.; BOHEN, H. *Análise de solo, plantas e outros materiais*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 188p.
- VANOTTY, M.B.; BUNDY, L.G. An alternative rationale for corn nitrogen fertilizer recommendations. *Journal of Production Agriculture*, v.7, p.243-249, 1994.
- VARVEL, G.E.; SCHEPERS, J.S.; FRANCIS, D.D. Ability for inseason correction of nitrogen deficiency in corn using chlorophyll meters. *Soil Science Society of American Journal*, v.61, p.1233-1239, 1997.